T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

DENTAL İMPLANTLARIN GELİŞTİRİLMİŞ TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN VE KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ İLE KOMBİNE UYGULAMASININ PERİ-İMPLANT OLUK SIVISINDAKİ TNF-α, RANKL VE OPG DÜZEYLERİNE OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Muhammet ATILGAN

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Osman Fatih ARPAĞ

HATAY – 2021

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

DENTAL İMPLANTLARIN GELİŞTİRİLMİŞ TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN VE KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ İLE KOMBİNE UYGULAMASININ PERİ-İMPLANT OLUK SIVISINDAKİ TNF-α, RANKL VE OPG DÜZEYLERİNE OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ
Muhammet ATILGAN

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Osman Fatih ARPAĞ

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 20.U.002 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY – 2021

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

Dental İmplantların Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin ve Konsantre Büyüme Faktörü ile Kombine Uygulamasının Peri-implant Oluk Sıvısındaki TNF-α, RANKL ve OPG Düzeylerine Olan Etkilerinin İncelenmesi

Uzmanlık Tezi
Muhammet ATILGAN

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 18/05/2021 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı : Dr. Öğr. Üy. Bozan Serhat İZOL
Üye : Dr. Öğr. Üy. Burak DOĞAN
Üye : Dr. Öğr. Osman Fatih ARPAĞ (Danışman)

Bu tez, Dekanlığımız Periodontoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

…../…./2021

Prof. Dr. Nizami DURAN
Diş Hekimliği Fakültesi Dekan V.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi sürecinde öncelikle bana katlandığı, sonrasında bana zaman zaman hoca, zaman zaman yoldaş olduğu için tez danışmanım ve çok sevdiğim değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Osman Fatih ARPAĞ ve eşi Azize ARPAĞ'a,

Aynı zamanda, fikirlerime her daim kulak veren ve eğitim sürecim boyunca hiçbir ricamı kırmayan, eğitimimi kolaylaştıran bölümümüzün çok değerli hocaları Dr. Öğr. Üyesi Burak DOĞAN, Dr. Öğr. Üyesi Esra Sinem KEMER DOĞAN ve Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARI'ya,

Mesleğimin temellerini atan, fikirsel aydınlanma sürecimi sürekli teşvik eden, öğrenciliğimden mesleki hayatıma kadar her zaman arkamda duran ve manevi desteklerini sürekli hissettiğim hocalarım Prof. Dr. İnci OKTAY, Prof. Dr. Nurhan GÜLER, Prof. Dr. Meriç KARAPINAR KAZANDAĞ, Doç. Dr. Ebru Özkan KARACA ve Doç. Dr. Hare GÜRSOY'a,

Bu projenin gerçekleştirilmesinde maddi desteğini esirgemeyen Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

Tezimin istatistik çalışmalarında şans eseri tanıdığım, keşke daha önce tanısaydım dediğim sevgili hocam Emre DİRİCAN ve eşi Ayşegül DİRİCAN'a,

Üniversitemizin Biyokimya Anabilim Dalının çok değerli öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Oğuzhan ÖZCAN'a, ayrıca biyokimyasal analiz sürecini birlikte yürüttüğümüz ve çok nazımı çeken, işinde çok titiz olan değerli çalışma arkadaşlarım Filiz KAÇMAZ ve Meryem CEMİLOĞLU'na,

Hayat boyu birliktelik konseptini ve mottosunu ilke edindiğimiz yol arkadaşlarım Demet ÜNAL, Ece YALÇINOĞLU, Merve BAHÇECİ, Eda ÖZDEMİR, Zehra ŞİVGAN, Uğur Can ÜNLÜGENÇ, Suphi ÇAĞLAR, Baturalp ÇARPRAZ, İlkay GÜL'e,

Bir başıma yürümeye başladığım bu yolda aramıza sonradan katılan ve birlikte çok fazla şey paylaşma şerefine eriştiğim değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Bölümümüzün bir diğer asli unsuru ve olmazsa olmazı hemşiremiz Dürdane SONGUR'a,

Ben bu satırları yazarken henüz diş hekimliği eğitimini yeni bitirmiş olan biricik kardeşim Yusuf Furkan ATILGAN'a,

Hayatım boyunca kendime rol model olarak aldığım, eğitimin ve aydınlanmanın ne denli önemli olduğunu henüz çocukken bana aşılamaktan geri durmayan ve ebediyete intikal eden Halil UYDURAN ve Yusuf ATILGAN'a

Eğitim-öğretim hayatım boyunca desteklerini benden hiç esirgemeyen ve her zaman arkamda duran, bana güven veren anneme ve babama; sonsuz minnet duygusuyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay II
TEŞEKKÜR III
İÇİNDEKİLER V
ŞEKİLLER DİZİNİ VII
ÇİZELGELER DİZİNİ VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ IX
ÖZET XII
ABSTRACT XIV
1.GİRİŞ 1
2.GENEL BİLGİLER 3
2.1. Tarihçe 3
2.2. Dental İmplantların Sınıflandırılması 4
2.2.1. İmplant Materyaline Göre Sınıflandırılması 6
2.2.2. İmplant Yüzey Özelliklerine Göre Sınıflandırılması 8
2.3. Osseointegrasyon 12
2.3.1. Osseointegrasyon Mekanizması 13
2.3.2. Osseointegrasyonun Klinik Olarak Değerlendirilmesi 14
2.3.3. Osseointegrasyonu Etkileyen Faktörler 15
2.4. Biyoaktif Ajanların Kemik Rejenerasyonunda Kullanılması 17
2.5. Kemik Remodelasyonunda TNF-α, RANKL, OPG'nin Rolü 20
2.6. Dişeti Oluğu Sıvısı ve Peri-implant Oluk Sıvısı 23
2.6.1. Peri-implant Oluk Sıvısı Elde Etme Yöntemleri 24
3. GEREÇ VE YÖNTEM 28
3.1. Çalışma Protokolü 28
3.2. Hasta Seçimi 28
3.3. Randomizasyon ve Körleme 29
3.4. Cerrahi Prosedür 29
3.5.CGF ve A-PRF Hazırlama Prosedürü 32
3.6.Fibrin Sıvının İmplant Yüzey ve Kavitesine Uygulanması ve İmplantın Yerleştirilmesi 35
3.7.Klinik ve Radyografik Ölçümler 37
3.7.1. Peri-implant Klinik Parametreleri 37
3.7.2. Rezonans Frekans Analizi 37
3.7.3. Peri-implant Oluk Sıvısı Elde Etme 38
3.7.4. Marjinal Kemik Kaybı Seviyesi Ölçümü 39
3.8. Biyokimyasal Analizler 40
3.9. İstatistiksel Analizler 43
4. BULGULAR 45
5. TARTIŞMA 63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 75

7. KAYNAKLAR 78
EKLER 92
EK-1 92
EK-2 94
EK-3 97
ÖZGEÇMİŞ 98

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1. (A) Kübital venden kan alma, (B) antikoagülansız tüplerin santrifüj cihazına yerleştirilmesi……..30
Şekil 3.2. (A) Krestal horizontal insizyon, (B) tam kalınlık flep ile kemiğin açığa çıkartılması……..……..30
Şekil 3.3. İmplant cerrahi kiti…….……...31
Şekil 3.4. Bir implantın doğal diş ve komşu implanta göre konumu……..……...32
Şekil 3.5. CGF santrifüj cihazı…….…….32
Şekil 3.6. A-PRF santrifüj cihazı…….….33
Şekil 3.7. Santrifüj ile elde edilen ürünün tüp içerisindeki katmanları…….…33
Şekil 3.8. (A) Trombosit ve büyüme faktörü açısından zengin fibrin matriksin tüpten alınması, (B) fibrin matriksin özel delikli kutuya yerleştirilmesi…….....34
Şekil 3.9. (A) Fibrin matriksten süzülen sıvının kaba aktarılması, (B) sıvının implant yüzeyine uygulanmak üzere 5 cc'lik enjektöre alınması……...…….…34
Şekil 3.10. Fibrin matriksten membran elde edilmesi……...35
Şekil 3.11. (A) Fibrin sıvının implant yüzeyine uygulanması, (B) kavitenin fibrin sıvısı ile doldurulması…….……..35
Şekil 3.12. (A) İmplantın subkrestal yerleşimi, (B) fibrin membranın krestal kemik üzerine konumlandırılması……...……...……..36
Şekil 3.13. (A) İyileşme başlığının yerleştirilmesi ve bölgenin 5/0 ipek sütur ile kapatılması, (B) çalışma gruplarına ilişkin implantların simetrik görünümü..……36
Şekil 3.14. Rezonans frekans analizi……37
Şekil 3.15. Absorban kâğıt ile peri-implant oluk sıvısının elde edilmesi…….38
Şekil 3.16. Peri-implant oluk sıvısı emdirilmiş kâğıt şeridin kalibre edilmiş Periotron cihazına yerleştirilmesi…….…….....39
Şekil 3.17. Eppendorf tüp içerisine fosfat tamponlu solüsyon eklenmesi……40
Şekil 3.18. Biyokimyasal mediyatörlerin kâğıt şeritlerden fosfat tampon solüsyonuna geçmesi için örneklerin ünitede çalkalanması……...40
Şekil 3.19. Standart kuyucuklara aktarılmak üzere eppendorf tüplerden sıvı pipetlenmesi……41
Şekil 3.20. (A ve B) Örneklerin ELISA cihazında okunmasından önce stop solüsyonu ile reaksiyonun durdurulması……...42
Şekil 3.21. ELISA Reader cihazı……..43
Şekil 4.22. Çalışmanın akış diyagramı……45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 4.1. Çalışmaya dâhil edilen bireylerin demografik özellikleri……46
Çizelge 4.2. Yerleştirilen dental implantların lokalizasyon ve karakteristiklerinin gruplara göre dağılımı……..…47
Çizelge 4.3. İmplantların mandibulada yerleştirildiği bölgeye göre dağılımı……..48
Çizelge 4.4. Yerleştirilen implantların çap ve uzunluklarının gruplar düzeyinde karşılaştırılması……..……..48
Çizelge 4.5. Marjinal kemik seviyesi ölçümlerinin asıl kontrolör ve başka bir değerlendirici arasındaki uyumunun değerlendirilmesi……49
Çizelge 4.6. CGF ve A-PRF gruplarına ilişkin klinik parametreler ile rezonans frekans değerlerinin zamana göre kıyaslanması……50
Çizelge 4.7. Rezonans frekans değerlerinin zaman düzeyinde grup içi ve gruplar arası karşılaştırması……..51
Çizelge 4.8. Rezonans frekans analizi ile üç farklı zamanda elde edilen stabilite değerlerinin karşılaştırmasına ilişkin istatistiksel p değerleri çizelgesi……52
Çizelge 4.9. Marjinal kemik seviyesinin gruplar düzeyinde karşılaştırılması…….52
Çizelge 4.10. CGF ve A-PRF çalışma gruplarına ilişkin biyokimyasal belirteçlerin gruplar arası karşılaştırmasının zaman düzeyinde değerlendirilmesi……54
Çizelge 4.11. CGF ve A-PRF çalışma gruplarına ilişkin biyokimyasal belirteçlerin grup içi ve gruplar arası karşılaştırmasının zaman düzeyinde değerlendirilmesi……..56
Çizelge 4.12. CGF ve A-PRF çalışma gruplarına ilişkin biyokimyasal belirteç düzeylerinin zaman içerisindeki değişimlerinin karşılaştırılması……..57
Çizelge 4.13. CGF ve A-PRF test gruplarındaki klinik, radyografik ve biyokimyasal parametrelerin 2. hafta seviyelerinin korelasyonu……...58
Çizelge 4.14. CGF ve A-PRF test gruplarındaki klinik, radyografik ve biyokimyasal parametrelerin 4. hafta seviyelerinin korelasyonu……...60
Çizelge 4.15. CGF ve A-PRF test gruplarındaki klinik, radyografik ve biyokimyasal parametrelerin 3. ay seviyelerinin korelasyonu……...62

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A-PRF	Advanced-platelet rich fibrin, Geliştirilmiş trombositten zengin fibrin
ADA	American Dental Association, Amerikan Diş Hekimleri Derneği
ALARA	As low as reasonably achievable, Mümkün olduğunca az ve gerektiği kadar radyasyon prensibi
BMP	Bone morphogenetic protein, Kemik morfogenetik proteini
CD	Cep derinliği
CGF	Concentrated growth factor, Konsantre büyüme faktörü
DCSTAMP	Dendritic cell spesific transmembrane protein, Dendritik hücreye özgü spesifik transmembran proteini
DOS	Dişeti oluğu sıvısı
ECGF	Endothelial cell growth factor, Endotelyal Hücre büyüme faktörü
EGF	Epidermal growth factor, Epidermal büyüme faktörü
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FDI	Federation Dentaire Internationale, Dünya Diş Hekimleri Birliği
FGF	Fibroblast growth factor, Fibroblast büyüme faktörü
Gİ	Gingival indeks
GKİ	Gingival kanama indeksi
HA	Hydroxyapetité, Hidroksiapatit
Ig	Immunoglobulin, İmmünglobulin
IGF	Insulin-like growth factor, İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL	Interleukin, İnterlökin
IL-1β	Interleukin-1 beta, İnterlökin-1 beta
ISQ	Implant stability quotient, İmplant stabilite değeri
ITI	International Team for Implantology, Uluslararası İmplantoloji Birliği
i-PRF	Injectible platelet rich fibrin, Enjekte edilebilir trombositten zengin fibrin
JDA	Japanese Dental Association, Japon Diş Hekimleri Derneği
L-PRF	Leukocyte and platelet rich fibrin – Lökositten zengin, trombositten zengin fibrin

L-PRP	Leukocyte and platelet rich plasma – Lökositten zengin trombositten zengiN plazma
M-CSF	Macrophage colony stimulating factor, Makrofaj koloni stimüle edici faktör
MHC	Major histocompatibility complex, Major doku uygunluk kompleksi
MKK	Marjinal kemik kaybı
mm	milimetre
MMP	Matrix metalloproteinase, Matriks metalloproteinaz
MSC	Mesenchymal stem cell, Mezenşimal kök hücre
OPG	Osteoprotegerin
OSCAR	Osteoclast associated receptor, Osteoklast ilişkili reseptör
P-PRF	Pure platelet rich fibrin – Saf trombositten zengin fibrin
P-PRP	Pure platelet rich plasma, Saf trombositten zengin plazma
PBS	Phosphate buffered saline, Fosfat tamponlu solüsyon
PDGF	Platelet derivated growth factor, Trombosit kökenli büyüme faktörü
pg/ml	Pikogram/mililitre
Pİ	Plak indeksi
PİOS	Peri-implant oluk sıvısı
PRF	Platelet rich fibrin, Trombositten zengin fibrin
PRGF	Platelet rich growth factor, Trombositten zengin büyüme faktörü
PRP	Platelet rich plasma, Trombositten zengin plazma
RANK	Receptor activator of nuclear factor kappa-B, Nükleer kappa-B reseptör aktivatörü
RANKL	Receptor activator of nuclear factor Kappa-B ligand, Nükleer kappa-B ligandı reseptör aktivatörü
RFA	Rezonans frekans analizi
SLA	Sand-blasted, Large grit, Acid-etched- Kumlanmış, makro-aşındırılmış asitle muamele edilmiş
sRANKL	Soluble receptor activator of nuclear factor kappa-B, Çözünebilir reseptör aktivatör nükleer kappa-B ligandı
T-PRF	Titanium prepared platelet rich fibrin – Titanyum ile hazırlanmış trombositten zengin fibrin
TGF	Transforming growth factor, Dönüştürücü büyüme faktörü

TGF-β	Transforming growth factor beta, Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TGF-β1	Transforming growth factor beta 1, Dönüştürücü büyüme faktörü beta 1
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha, Tümör nekroze edici faktör alfa
TNFRSF	Tumor necrosis factor receptor super family, Tümör nekroze edici faktör reseptör süper ailesi
TNTZ	Titanium niobium tantalum zirconium, Titanyum niobyum tantalum zirkonyum
TRAP	Tartrate-resistant acid phospatase, Tartrate dirençli asit fosfataz
VAS	Visual analog scale, Görsel analog ölçeği
VEGF	Vascular endothelial growth factor, Vasküler endotelyal büyüme faktörü
WHO	World Health Organisation, Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

Dental İmplantların Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin ve Konsantre Büyüme Faktörü ile Kombine Uygulamasının Peri-implant Oluk Sıvısındaki TNF-α, RANKL ve OPG Düzeylerine Olan Etkilerinin İncelenmesi

Giriş ve Amaç: Dental implantlar, başarılı bir osseointegrasyon sürecini takiben protetik yükleme için ortalama 8-12 haftalık bir süreye gereksinim duyar. Bu süreyi kısaltmak için implant osseointegrasyonunu hızlandıracak çeşitli rejeneratif materyaller kullanılabilmektedir. Kanın santrifüjü ile elde edilen trombosit türevlerinin kemik formasyonunu hızlandırdığı bilinmektedir. Çalışmadaki amacımız, konsantre büyüme faktörü (CGF) ve geliştirilmiş trombositten zengin fibrin (A-PRF) ürünlerinin dental implantların osseointegrasyonuna etkilerini klinik, radyolojik ve biyokimyasal yönden değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya, sistemik olarak sağlıklı 20 hasta CGF çalışma grubuna, 20 hasta A-PRF çalışma grubuna olmak üzere 40 hasta dâhil edildi. Bölünmüş ağız dizaynı ile gerçekleştirilen çalışmada test tarafındaki implant bölgesine CGF veya A-PRF'ten biri uygulanırken kontrol tarafına herhangi bir materyal uygulanmadı. Toplamda 80 implant 0,5 mm subkrestal olarak yerleştirildi. İmplantasyondan sonra ikinci hafta, 4. hafta ve 3. ayda plak indeksi, gingival indeks, cep derinliği ve gingival kanama indeksi ölçümleri ile birlikte peri-implant oluk sıvısında TNF-α, RANKL ve OPG düzeylerinin belirlenmesi için absorban kâğıtlar ile oluk sıvısı elde edildi. Rezonans frekans analizi ise intraoperatif, 4. hafta ve 3. ayda yapıldı. Üçüncü ay panoramik radyografisi üzerinden implantın mezial ve distal yüzeyinden marjinal kemik kaybı ölçümü yapılarak ortalama değerler elde edildi. Verilerin analizi için Mann-Whitney U ve Student t ile birlikte Wilcoxon işaretli sıralar testi ve Friedman testi kullanıldı.

Bulgular Plak indeksi, gingival indeks, cep derinliği ve gingival kanama indeksi açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p<0,05$). CGF-test grubunda, implantların başlangıç rezonans frekans değeri 74,90 ± 5,23 iken, A-PRF-test grubunda ise bu değer 77,65 ± 2,81 idi. CGF-test grubunda 3. ayda 79,80 ± 1,76, A-PRF-test grubunda ise 78,40 ± 2,91 rezonans frekans değeri elde edildi. İki grup arasında tüm zamanlardaki rezonans frekans değeri istatistiksel olarak farklı değildi ($p>0,05$). CGF-test grubunda 3. aydaki rezonans frekans değerinin istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p=0,001$). CGF-test grubunda marjinal kemik kaybı 0,12 ± 0,04 mm, kontrol grubunda ise 0,17 ± 0,06 mm idi. A-PRF-test grubunda marjinal kemik kaybı 0,19 ± 0,08 mm, kontrol grubunda ise 0,23 ± 0,09 mm düzeyinde ölçüldü. Gruplar arasındaki marjinal kemik kaybı düzeyi istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0,998$). CGF ve A-PRF test grupları için; 2.

haftadaki ortalama TNF-α düzeyleri sırasıyla 1,69 ± 1,80 ve 1,69 ± 2,09 pg/mL'den, 3. ayda 0,64 ± 0,71 ve 0,45 ± 0,38 pg/mL'ye azaldı. TNF-α ve RANKL/OPG seviyesindeki azalma, hem CGF hem de A-PRF test grupları için istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). CGF-test grubunda, RANKL'ın 2.hafta, 4. hafta ve 3. ay düzeyleri sırasıyla 4,56 ± 4,26 pg/mL, 6,13 ± 6,89 pg/mL ve 2,17 ± 2,64 pg/mL, A-PRF-test grubunda ise 3,06 ± 2,38 pg/mL, 4,97 ± 4,31 pg/mL ve 2,49 ± 2,30 pg/mL idi. RANKL düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel olarak benzer olduğu gözlendi ($p>0,05$). Zaman içerisindeki değişim her iki grup için anlamlıydı ($p<0,05$). OPG'nin 2. hafta ve 3. ay düzeylerinin A-PRF-test grubu ile kıyaslandığında CGF-test grubunda daha yüksek olduğu belirlendi. ($p<0,05$). RANKL/OPG oranının A-PRF-test grubu lehine, 4. hafta ve 3. ayda daha yüksek olduğu gözlendi ($p<0,05$).
Sonuç: Dental implantasyonda CGF uygulaması, implant osseointegrasyonuna katkı sağlamaktadır. Bununla birlikte CGF, implant çevresindeki biyokimyasal belirteçlerin kontrollü salınımını indükleyerek kemik remodelasyonunu hızlandırmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Dental İmplant Osseointegrasyonu, Konsantre Büyüme Faktörü, Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin, İnflamatuvar Sitokin, Peri-implant Oluk Sıvısı.

ABSTRACT

Analysing the Effects of Concentrated Growth Factor and Advanced Platelet Rich Fibrin on Implant Osseointegration with Respect to the Levels of TNF-α, RANKL, and OPG in Peri-implant Crevicular Fluid

Introduction and Aim: Dental implants need an average of 8-12 weeks for prosthetic loading following successful osseointegration process. In order to shorten this period, various regenerative materials can be used to accelerate implant osseointegration. It is known that thrombocyte derivatives obtained by centrifugation of blood to improve bone formation. Our aim in this study is to evaluate the effects of concentrated growth factor (CGF) and Advanced-platelet-rich fibrin (A-PRF) blood materials on osseointegration of dental implants in clinical, radiological and biochemical aspects.

Material and Method: Forty patients, 20 patients in the CGF group and 20 patients in the A-PRF group, who were systemically healthy and suitable for the inclusion criteria, were included in the study. Study performed with the split-mouth design, CGF or A-PRF fluid was applied to the implant surface and the implant socket in the test group. In contrast that, no additional intervention was made to the control group. Eighty dental implants were placed at 0.5 mm subcrestal level, CGF or A-PRF membrane according to the test group was applied on the operation site. The implant for the control group was placed on the contralateral site of the mouth without applying any material. Following the implant placement, plaque index, gingival index, probing depth, gingival bleeding index and TNF-α, RANKL, OPG biomarkers isolated with paper strips. Also, resonance frequency analysis was calculated intraoperatively, 4^{th} week and 3^{th} month. In the third month, marginal bone loss was calculated on the panoramic radiography and the mean values were analysed from the mesial and distal sections. For data analysis, Wilcoxon and Friedman tests were used together with Mann-whitney u test and Student's t test.

Results: There was no significant difference between the groups in terms of plaque index, gingival index, pocket depth and gingival bleeding index ($p<0.05$). In the CGF-test group, the initial resonance frequency value of the implants was 74.90 ± 5.23 while it was 77.65 ± 2.81 in the A-PRF-test group. Resonance frequency value was 79.80 ± 1.76 in the third month in the CGF-test group and 78.40 ± 2.91 in the A-PRF-test group. Resonance frequency value at all times was not statistically different between the two groups ($p>0.05$). In the CGF-test group, the resonance frequency value at the 3rd month was found to be statistically significantly higher ($p=0.001$). The marginal bone loss was 0.12 ± 0.04 mm in the CGF-test group and 0.17 ± 0.06 mm in the control group. The marginal bone loss was 0.19 ± 0.08 mm in the A-PRF-test group and 0.23 ± 0.09 mm in the control group. The marginal bone loss level between the groups was not statistically significant ($p=0.998$). For CGF and A-PRF test groups; mean TNF-α levels at 2 weeks were 1.69 ± 1.80 and 1.69 ±

2.09 pg/mL, respectively, and at 3 months 0.64 ± 0.71 and 0.45 ± 0.38 pg/mL. The decrease in TNF-α and RANKL/OPG levels was statistically significant for both CGF and A-PRF-test groups ($p < 0.05$). In the CGF-test group, the levels of RANKL at 2nd week, 4th week and 3rd month were 4.56 ± 4.26 pg/mL, 6.13 ± 6.89 pg/mL and 2.17 ± 2.64 pg/mL, respectively. Whereas, RANKL levels were 3.06 ± 2.38 pg/mL, 4.97 ± 4.31 pg/mL and 2.49 ± 2.30 pg/mL in the A-PRF-test group, respectively. RANKL levels were found to be statistically similar between the groups ($p > 0.05$). The change over time was significant for both groups ($p < 0.05$). It was determined that OPG levels at 2nd week and 3rd month were higher in the CGF-test group compared to the A-PRF test group ($p < 0.05$). It was observed that RANKL/OPG ratio was higher in favor of the A-PRF-test group at the 4th week and at the 3rd month ($p < 0.05$).
Conclusion: The use of CGF in dental implantation contributes to implant osseointegration. However, CGF accelerates bone remodeling by inducing the controlled release of biochemical markers around dental implant.

Keywords: Dental Implant Osseointegration, Concentrated Growth Factor, Advanced-Platelet Rich Fibrin, Inflammatory Cytokine, Peri-implant Crevicular Fluid

1. GİRİŞ

İntraoral bölge kendi içerisinde mekanik ve fonksiyonel olarak birbirine bağımlı bir dizi sistemsel denge unsurlarını içermektedir. Mevcut dişler çiğneme fonksiyonunu yapabilmek için esas olan ünitelerdir ve eksikliklerinde, çiğneme fonksiyonu aksamakta ve gastrointestinal sistem etkilenmektedir. Koruyucu tedaviler neticesinde başarı sağlanamamış ve farklı varyatif durumlara özel patoloji geliştirmiş dişler tedavi edilmelidir. Fakat diş-destek yapısının zayıflaması veya yetersiz olması, çeşitli dental patolojiler, anatomik varyasyonlar ve sistemik durumu etkileyebilecek durumlarda dişlerin ağız ortamından uzaklaştırılması gerekebilmektedir.

Diş hekimliği, teknolojinin imkân verdiği ölçüde, dönemler içerisinde diş eksikliklerine çözüm aramış ve alternatifler üretmeye çalışmıştır. Günümüzde, diş eksikliklerinde sistemik sağlık ve intraoral durumlar ayrı ayrı göz önünde bulundurulduğunda modern diş hekimliğinin tedavi protokolleri içerisinde implant uygulamaları altın standart olmuştur. İmplant uygulamaları, diş eksikliğinin giderilmesi açısından komşu dental ve periodontal dokulara en az zarar vermesi, kemiğe fonksiyonel kuvvet iletebilmesi ve çiğneme eylemini diğer tedavi alternatiflerine göre optimal olarak taklit edebilmesi açısından tedavi protokollerinde öncelikli olarak tercih edilmektedir.[1]

Son 70 yılda implant diş hekimliği, dişsiz boşlukların rekonstrüksiyonunda deneysel tedavilerden, öngörülebilirliği yüksek implant destekli protezlerin hastalarda uygulanmasına kadar gelişmiş ve dişsizliğin çözümünde farklı bir alternatif sunmuştur. İmplant uygulaması hastalara yalnızca fonksiyonel ve biyolojik rahatlık sağlamaz, aynı zamanda konvansiyonel sabit ve hareketli protezlere göre ağızda kalma süreleri açısından 10 yıl boyunca % 95 oranında başarı sağladığı çok sayıda çalışmada gösterilmiştir.[1-4]

Dental implantlar genellikle uygulandıkları andan itibaren osseointegrasyon için belirli bir süreye ihtiyaç duyarlar ve bu süre içerisinde hastalar dişsiz kalmaktadır. Hem fonksiyon hem de estetikten yoksun bu zaman aralığını kısaltmak, günümüzde bilimsel çalışmaların odaklandığı ana konulardan birini oluşturmaktadır.

Çalışmamızda osseointegrasyon sürecinde üç farklı zaman dilimindeki klinik, radyografik ve biyokimyasal veriler değerlendirilerek kan trombosit türevlerinin implant osseointegrasyonuna etkileri incelenmiştir. Bölünmüş ağız dizaynı ile gerçekleştirilen bu çalışma, kan trombosit türevlerinin kendi içinde kontrol grupları ile karşılaştırılmasına ve yaş, cinsiyet, sistemik hastalık ve benzeri başka faktörlerden bağımsız bir şekilde materyallerin implant osseointegrasyonuna etkisini doğrudan değerlendirmeye imkân tanımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Modern implant uygulamalarının öncüsü olan Per Ingvar Branemark, ilk klinik çalışmaları 1960'lı yıllarda yapmış, implant yüzeyi ve alveol kemiği arasında doğrudan bir bağlantı olduğunu saptamıştır.[5] 1960'lı yılların sonlarına doğru, implant uygulamaları üzerine yoğunlaşan ikinci bir otorite ortaya çıkmıştır. İsviçre'de, Schroeder ve arkadaşları yumuşak doku üzerinde implant materyallerinin etkilerini inceleyen ilk çalışmalarını yapmışlardır.[6] İsveç'te implant çalışmaları ile bilinen Branemark Grubu, Tomas Albrektsson, Ragnar Adell, Ulf Lekholm ve Torsten Jemt gibi güçlü isimleri bünyesinde barındırmıştır. Schroeder öncülüğündeki İsviçre grubu ise 'International Team for Implantology' (ITI) adını almış ve 35 yıllık gelişim süresi içerisinde 100'den fazla ülkede 15.000'den fazla üyeye sahip bilimsel araştırma örgütünü kurmuşlardır. Güncel makalelerde, başlangıçta bu iki grubun birbirlerinin çalışmalarından haberlerinin olmadığı belirtilmiştir.[7] O tarihten bu yana her iki grup implant tasarımları ve prosedürleri ile ilgili bilime çok çeşitli faydalar sunmuşlardır.

Branemark ve ekibi, başlangıçta klinik uygulamalarda total dişsiz hastaların çiğneme konforunu ve hayat kalitesini artırmak için tüm ağız protetik restorasyonlarla çalışmışlar ve 15 yıllık başarılı sonuçlar elde etmişlerdir.[8, 9] Schroeder ve ekibi ise tedavi-endikasyon skalasını genişleterek yalnızca tam dişsiz hastaları değil, parsiyel dişsiz boşluğa sahip hastaları da tedavi etmişlerdir.[10-12] Aynı dönem içerisinde alüminyum oksitten üretilmiş seramik implantlar, yivsiz ve yüzeyi plazma sprey uygulanmış implant sistemleri ve titanyum ile alüminyum-vanadyum alaşımlı implant sistemleri geliştirilmiştir. Schroeder ve ekibi 1970'li yıllarda daha geniş protetik alternatifleri yaratmak amacı ile iki parçalı implant sistemlerini kullanmışlardır.[13] Bu uygulama ile implant üreticileri 1980'li yıllardan itibaren iki bölümlü implant sistemlerini geliştirmiş, nihayetinde bu sistemler sektörde yoğun bir şekilde talep edilerek baskın hale gelmişlerdir.

Bu gelişmelerden sonra özellikle 1985-2000 yılları arasında modern diş hekimliğinde implant uygulamaları ve araştırmaları altın dönemini yaşamıştır. Başlangıçta yalnızca total

dişsiz hastalara fonksiyonel çözüm sunan implant sistemleri, zamanla parsiyel dişsiz hastaların protetik tedavisinde uzun dönem çalışmalarda başarılı sonuçların elde edilmesi ile birlikte[14-17], parsiyel dişsiz hastalar total dişsiz hastalardan daha fazla hasta rezervi oluşturmuş ve bazı bölgelerde bu oran % 90'lara kadar ulaşmıştır.[18,19] Parsiyel dişsiz hastaların tedavisi, yalnızca tedavi alternatifi olarak yol haritasının radikalize ve hızlı evrimine neden olmamış, aynı zamanda implant destekli protetik restorasyonların hastalar tarafından estetik amaçla tercih edilmeye başlanması da implant cerrahisinin diş hekimliğinde, özellikle dişsiz boşlukların tedavisinde diğer çözüm alternatiflerini domine ettiğini göstermektedir. Estetik gereksinimler, bilimsel çalışmaları yalnızca sert doku cerrahisinden, yumuşak ve sert doku cerrahisini araştırmaya ve çalışmaları bu yönde yapmaya teşvik etmiştir. Aynı zamanda implant uygulanacak bölgede, estetik ve öngörülebilir sonuçların oluşması için yeterli kemik desteğinin sağlanma zorunluluğu, sert doku augmentasyon yöntemleri, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu, membran kullanımı ve sinüs tabanı yükseltme prosedürleri gibi cerrahi girişimleri gerekli kılmıştır.[20] Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu çalışmaları 1990'lı yıllarda literatürde yer edinmeye başlamıştır.[21-24]

2.2. Dental İmplantların Sınıflandırılması

Diş hekimliğinde ve modern tıpta, teknolojik gelişmelerin ilerlemesi ile birlikte seramik, biyoseramik, polimer ve doku uyumlu biyomateryallerin kullanılması, tıbbi tüm implant uygulamalarında farklı ekoller tarafından literatüre kazandırılmakta ve kullanılan her medikal ürünün insan doğasına ve vücuduna etkisi yıllar geçtikçe daha da iyi anlaşılmaktadır.[25] Dental implantlar, kendi içerisinde ihtiva ettiği implant materyaline, hacimsel ve yüzeysel topografiye, kemik seviyesindeki pozisyonuna ve yapılan çeşitli modifikasyonlarla değişikliğe uğrayan yüzey özelliklerine göre farklı şekilde sınıflandırılmaktadır. Çok çeşitli sınıflamalar olmakla birlikte bu bölümde, nitelikli ve kapsayıcı bir sınıflama için implantların üretildikleri materyale ve yüzey özelliklerine göre sınıflandırmaları yapılacaktır.

İmplantların Sınıflandırılması

1) İmplant Materyaline Göre Sınıflandırma

A) Titanyum

B) Titanyum Alaşımları

C) Zirkonyum

2) İmplant Yüzey Özelliklerine Göre

A) Fiziksel Yüzey Modifikasyonu

a) Makine ile işlenmiş, tornalanmış ve frezelenmiş yüzeyler

b) Kumlanmış yüzey (Sand-blasting)

c) Bilya veya lazer ile pürüzlendirme (Shot-peening, Laser-peening)

d) Nano partiküler pürüzlendirme

e) Poröz trabeküler pürüzlendirme

f) Titanyum alaşımlı plazma sprey ile pürüzlendirme

B) Kimyasal Ajanlar ile Yüzey Modifikasyonu

a) Asit ile aşındırma (Acid-etching)

b) Alkalin uygulama

c) Anodizasyon

d) Peroksidasyon

e) Floridli modifikasyon

f) Vakum uygulaması

g) Plazma yüzey aktivasyonu ve kaplama

C) Biyomimetik Ajanlar ile Yüzey Modifikasyonu

a) Biyoaktif kaplama

b) Peptit ataşmanları ile uygulama

c) Antibiyotik ile yüzey kaplaması

d) Büyüme faktörlerinin implant yüzeyine uygulandığı modeller

e) Kemik şekillendirici ajanların uygulanması

f) Hidroksiapatit ile yüzey kaplama

D) Kombine Yöntemler ile Yüzey Modifikasyonu

a) Kumlanmış ve asit uygulanmış yüzey (SLA)

2.2.1. İmplant Materyaline Göre Sınıflandırılması

Titanyum ve zirkonyum alaşıma sahip dental implantlar, genel diş hekimliğinde en sık kullanılan dominant materyal gruplarıdır.[26] Bu implant türlerinin dışında insan vücudunda farklı bir malzeme ile ilgili uygulama yapılacaksa, muhakkak bilimsel verilerle desteklenebilir tutarlı materyallerden oluşmalıdır.

A) Titanyum: Titanyum yüzeyi, kendi doğal karakteristiği nedeniyle korozyona doğal olarak dirençlidir. Bunun nedeni, dış yüzeyindeki ince oksit tabakadır. Bu oksit tabakası, metali dış ortamdan uzaklaştırır ve korozyona daha dirençli bir hale getirir. Oksit tabakanın kalınlığı 3-10 nanometre arasında değişkenlik göstermektedir.[27] Saf alaşıma sahip titanyum (CpTi) 4 farklı türe sahiptir. İmplant materyalinin farklı alaşımdan muhtelif yapıya sahip olması, dayanıklılığı ve biyouyumluluğu aşamalandırılmış olup literatürde "Grade" yani "Derece" olarak ifade edilmektedir. Grade 1, en yüksek korozyon direncine ve saflığa, aynı zamanda en güçsüz sınıfa karşılık gelirken, Grade 4 mekanik kuvvetlere en dayanıklı ve biyouyumluluk açısından orta seviyede olan implantları ifade etmektedir. Diş hekimliğinde kullanılan implant materyalleri genellikle Grade 4 materyallerdir. Bu noktada en sert biyomateryalin en dayanıklı olması yanılgısına düşmemek gerekir. İntraoral bölgede kullanılan dental ürünler ne kadar sert olursa, kuvvete de o denli maruz kalırlar. Dental ünitelerle kuvvet absorpsiyonu açısından benzer yapılar, ağız ortamında daha uzun süre direnç gösterirler. Böylelikle Grade 4 implantların kırılma dirençlerinin diğer gruplara nazaran periodontal kemik ve diş dokusuna daha çok benzerlik gösterdiği söylenebilir.[28]

B) Titanyum Alaşımları: Saf titanyum materyallerin diş hekimliğinde uzun dönem kullanımı bir yana, kuvvetlere karşı kemik dokusu ile benzer elastikiyeti nedeni ile implant alaşımlarında kullanılması gündeme gelmiştir. Bunlardan bazıları paslanmaz çelik, altın alaşımları, kobalt-krom alaşımları, tantalum gibi bileşenlerdir. Önceleri, biyomedikal endüstriyel sanayide kullanılan 316L tipi paslanmaz çelik, fiksasyon plağı ve vidası ve implant materyali olarak düşünülmüş, fakat korozyon niteliği ve biyouyumluluğu titanyuma göre çok daha alt seviyede kalmıştır.[28] Paslanmaz çelik, krom-kobalt alaşımlarının elastik modül değeri 206-240 GPa arasında değişmektedir. Bu, insan çene kemiğine göre oldukça yüksek sertlikte bir değerdir. Öte yandan, bazı durumlarda paslanmaz çelik ve altın alaşımlarının implant üst yapılarında daha başarılı sonuçlar verdiği bilinmektedir. Tantalum, titanyum implant yüzeyinin osseointegrasyonunu artırmak için bir alaşım olarak kullanılmış

ve osseointegrasyon kapasitesi yönüyle herhangi bir fark oluşturamamıştır.[29] Saf titanyum yüzeyler ile krom-kobalt alaşımların osseointegrasyon kapasitesi incelenmiş, fakat krom-kobalt alaşımların osseointegrasyon kapasitesinin, saf titanyum yüzeyler ile kıyaslandığında yeterli seviyede olmadığı gösterilmiştir.[30, 31]

Günümüzde; Ti-6Al-4V, %90 titanyum, %6 alüminyum, %4 vanadyum elementleri içeren Grade 5 implant alaşımlarıdır. Mekanik özellikler, korozyon direnci, biyouyumluluk gibi faktörler göz önünde bulundurulduğunda, Ti6Al4V titanyum dental implant alaşımlarının krom-kobalt, tantalum kaplı yüzeyler ve medikal endüstriyel kullanım alanına sahip 316L tipi paslanmaz çelik implant alternatiflerine göre daha tercih edilebilir olduğu belirlenmiştir.[32] Çünkü bu tip biyomateryaller, kırılma direnci açısından değerlendirildiğinde üstün nitelikler içermektedir.[33]

Yapılan en güncel çalışmalarda, Ti13Nb13Zr (TNTZ) alaşımının soğuk uygulama ve su ile çeşitli kimyasal muamelelerden sonra 44 GPa değerine kadar düştüğü görülmüştür. TNTZ, Ti-6Al-4V, SUS316L paslanmaz çelik çubuklar tibia kırıklarına fikse edilmiş ve fonksiyonel kuvvet gören kemik ve implantların X-ray transmisyon kamerası ile birlikte 2 haftadan 22 haftaya kadar kemik remodelasyonu incelenmiştir. Kallus formasyonunun 4. haftadan itibaren TNTZ ile birlikte stabil bir şekilde oluştuğu, Ti-6Al-4V ve SUS316L'de bu sürecin daha yavaş olduğu gözlenmiştir.[26]

Grade 5 olarak isimlendirilen Ti6Al4V alaşımlar, kırılma direnci ve yük aktarımı açısından saf titanyum ürünlere göre daha başarılı sonuçlar ortaya koysa da alaşım içerisindeki vanadyum elementlerin toksik etkisi halen tartışmalı bir konudur.[33]

C) Zirkonyum: Zirkonyum, osseointegrasyon kapasitesi olan ve metallerin birçok özelliğini içerisinde barındıran seramik bir üründür.[26] Saf zirkonyumun diş hekimliğinde kullanılabilmesi için birçok işlemden geçmesi gerekmektedir. Kemik ile bağlanma sonucunda oluşan bu son ürün, öncülüne göre farklılık göstermektedir. Zirkonyum hammaddesi ile üretilen implantlarla ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca zirkonyum doğada radyum ve toryum radyoaktif materyallerinin arasından çıkarılmaktadır. Zirkonyum alaşımlı implant firmaları, zirkonyumun radyoaktif bir materyal olduğunu, fakat yıllık radyasyon salınım dozunun uluslararası standartlarda normalden çok daha düşük olduğunu belirtmişlerdir.[26]

2.2.2. İmplant Yüzey Özelliklerine Göre Sınıflandırma

A) Fiziksel Yüzey Modifikasyonu

İmplant materyalinin yüzey özellikleri, osteoblastik farklılaşmayı ve adezyonu etkilemektedir.[34, 35] İmplantların yüzey özellikleri kimyasal kompozisyon, yüzey enerjisi, pürüzlülük ve topografiden etkilenmektedir. Dental implantlarda yüzey pürüzlendirme, kemik apozisyonu için gereklidir.[36, 37] Yüzey pürüzlülüğü makro, mikro ve nanometrik olarak sağlanabilir. Makro ve mikro pürüzlendirme implantın osseointegrasyonu için önemli iken, nano-yüzey pürüzlendirme proteinlerin adsorbsiyonu ve osteoblastik farklılaşma için büyük önem arz etmektedir.[38]

a) Makine ile işlenmiş, tornalanmış ve frezelenmiş yüzeyler: Makine ile işlenmiş yüzeye sahip implantlar, oldukça düşük yüzey pürüzlülüğüne sahiptir. Bu implantlar, titanyum materyalin endüstriyel manipülasyon araçları ile şekillendirilmesi sonucu oluşur. Sırasıyla tornalama, freze tezgahında işleme ve cilalama işlemlerinden sonra implant, karakteristik olarak pürüzlendirilmiş yekpare bir yüzeye sahip olmaktadır.[39]

b) Kumlanmış yüzey (Sand-blasting): 25 μm (mikrometre) boyutundaki titanyum oksit ve alümina partikülleri implant yüzeyine yüksek hızda uygulanarak yüzey pürüzlendirme işlemi gerçekleştirilir. Yüzey pürüzlendirmesi yapılırken ortaya çıkan implant biyomateryalinin hidrofilik ya da hidrofobik olma karakteristiği kontakt açısına bağlı olarak 0 ve 140 derece arasında değişkenlik göstermektedir. Buser ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, modifiye edilmiş hidrofilik yüzeyin, modifiye edilmemiş normal hidrofobik yüzeyli dental implantlara göre daha fazla osseointegrasyon kapasitesine sahip olduğunu belirtmişlerdir.[21]

c) Bilya veya lazer ile pürüzlendirme (Shot-peening ve Laser-peening): Shot-peening, kumlama işlemi ile benzerlik göstermekle birlikte, küçük küre partiküllerin çok daha kontrollü bir şekilde implant yüzeyinde oluşturdukları fiziksel deformitedir. Bu uygulamada küresel partiküllerin birbirleri ile uniform ebatta olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Laser-peening, metal yüzeye yüksek puls atımlı lazer ışınlarının uygulanması ile birlikte derin bal peteği görüntüsünde altıgen oluklar açılmasıdır.[40] Bal peteği tasarımı özellikle uygulanır çünkü bu hekzagonal yapı, kırılma ve eğilme direnci açısından geometrik diğer şekillere nazaran daha dirençlidir.[40]

d) Nano-partiküler pürüzlendirme: İmplant topografisinde yapılan makro-pürüzlendirme varyasyonları, implantın primer stabilitesine ve mekanik desteğine yardımcı olmakta, nano-pürüzlendirmeler ise protein absorbsiyonu, osteoblastik hücre adezyonu ve peri-implant bölgede kemik iyileşme kapasitesini artırmaktadır.[39]

e) Poröz trabeküler pürüzlendirme: Bu uygulamada titanyum implant yüzeyine herhangi bir aşındırıcı veya pürüzlendirici uygulama yapılmaz. Titanyum biyomateryal iskeletsel taslak olarak düzenlenir ve trabeküler poröz yapı, implant üzerine ayrı bir şekilde tabakalı olarak yerleştirilir. Burada yekpare bir yapı olmadığı için yerleştirme sonrası uzun dönemde implant yüzeyinde dağılmalar görülebilir.[39]

f) Titanyum alaşımlı plazma sprey ile pürüzlendirme: Uniform bir yapı oluşturmak amacı ile titanyum partikülleri, titanyum yüzeye yüksek basınç altında püskürtülür. Pürüzlendirilmiş yüzeyler, osseointegrasyonun geliştirilmesi için avantaj olsa da, yüzeyin 10 µm'den fazla pürüzlendirilmesi halinde, mikroorganizma retansiyonunu artıracağı ve peri-implantitis gelişme olasılığını artırması nedeni ile dezavantajlı olduğu bildirilmektedir. 1-2 µm çapında orta seviye makro-pürüzlendirme işlemi, yüzey topografisinin osseointegrasyon kapasitesi için optimal sonuçlar vermektedir.[36]

B) Kimyasal Ajanlar ile Yüzey Modifikasyonu

a) Asit ile aşındırma (Acid-etching): Asit uygulaması, HCL/H_2SO_4 karışımı, % 2 HF asit, % 10 HNO_3, nitrik oksit gibi kimyasalların kullanımı ile yapılır. Yüzey morfolojisi, implant materyalinin türüne, yüzey mikro yapısına, asidin uygulanma süresine göre değişkenlik göstermektedir.[41]

b) Alkalin uygulaması: Yüksek pH seviyesine sahip alkalin solüsyonlarda ısıl işlemle birlikte implant yüzeyine alkalin oksidasyonu yapılmaktadır. Örneğin 600 ^{0}C'de 24 saat boyunca ya da 1400 ^{0}C'de 5 saat boyunca sodyum hidroksite maruz bırakma işlemi sonucunda implant yüzeyinde pürüzlendirme işlemi gerçekleşmektedir.[41]

c) Anodizasyon: Güçlü asitlerle birlikte uygulanan anodizasyon ile titanyum implantların oksitlenmiş yüzeylerinin kalınlığı ve mikro-pürüzlülüğü artırılabilmektedir. Bu teknikle, titanyum oksit yüzeyin kalınlığı 1000 nm'ye kadar artabilmektedir. Anodize edilmiş yüzeyler, normal makinelenmiş, tornalanmış ve mekanik işlemden geçirilmiş yüzeylere nazaran kemik dokusuna daha fazla destek sağlamaktadır.[41]

d) Peroksidasyon: İmplant yüzeyinin hidrojen peroksitle muamelesi sonucunda titanyum yüzeyde çözülme ve oksidasyon gerçekleşir. Apatit kristallerinin depozisyonu için bu işlem üreticiler tarafından uygulanabilmektedir.[41]

e) Floridli modifikasyon: İmplant yüzeyine nano düzeyde florid modifikasyonu uygulanmasıdır. Titanyum oksit partikülleri ile muamele edilen yüzeye dilüe hidroflorik asit uygulanır.[41]

f) Vakum uygulaması: Düşük basınç altında elektriksel deşarj yöntemi ile çalışan bu sistem iyon bombardımanı ile makro-moleküler düzeyde yüzey modifikasyonu oluşturulur.[41]

g) Plazma yüzey aktivasyonu ve kaplama: Kullanımına ilk olarak 1974'ten itibaren başlanılan ve Schroeder tarafından uygulanan bir implant yüzey işleme prosedürüdür. Yüksek sıcaklık seviyelerinde implant yüzeyine toz partiküller halinde titanyum püskürtülerek metallerin bağlanması sağlanır.[42] Plazma sprey işlemine tabi tutulmuş ve kalsiyum fosfat türevi olan hidroksiapetit kaplanmış yüzey yüksek biyoaktiviteye sahiptir. Bu uygulama sonucunda pürüzlendirme ile birlikte yüzey alanının artırılması amaçlanmaktadır. Titanyum yüzeye plazma yüzey aktivasyonu uygulamanın en büyük dezavantajı, plazma-sprey ürünün implant yüzeyinden ayrılmasıdır.[43]

C) Biyomimetik Yüzey Modifikasyonu

a) Biyoaktif kaplama: Bu yöntemde yüzeye kalsiyum-fosfat-apatit kristalleri titanyum yüzeye uygulanmaktadır. Kalsiyum fosfatın titanyum yüzeye uygulanması titanyum katot ve platinyum anot yüzeylerin birbirleri ile hidrotermal alanda etkileşmesiyle oluşur.[44,45] Kalsiyum apatit partiküllerinin yüksek dereceli asidik ve alkalik sıvılarla muamele edilmesinden sonra yüksek ısı ile yüzeye uygulaması sağlanır.[41]

b) Peptit ataşmanları: İmplant yüzeylerinin sentetik arjinil-glisil-aspartik asit peptit türevleri ile kaplanması integrin reseptörlerinin bağlanması için öncül oluşturabilmektedir.[46]

c) Antibiyotik ile yüzey kaplaması: Sefalotin, karbenisilin, amoksisilin, sefamandol, tobramisin, gentamisin, vankomisin gibi antibiyotikler kalsiyum fosfat türevleri ile kaplanmış yüzeylere uygulanabilmektedir.[47]

d) Büyüme faktörlerinin yüzeye uygulanması: İmplant yüzeyleri osseointegrasyonun artırılması ve anjiyogenezisin daha hızlı sağlanması için büyüme

faktörlerine maruz bırakılabilmektedir. Bu büyüme faktörleri başlıca, kemik morfogenetik proteini (Bone Morphogenetic Protein, BMP), dönüştürücü büyüme faktörü-beta 1 (Transforming Growth Factor-β1, TGF-β1), vasküler endotelyal büyüme faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF), trombosit türevli büyüme faktörü (Platelet Derived Growth Factor, PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü (Insuline Growth Factor, IGF)'nden oluşmaktadır.[48]

e) Kemik şekillendirici ajanlarının uygulanması: İmplant yüzeylerine kemik remodelasyon ajanlarının uygulanması ile ilgili son yıllarda yapılan çalışmalar mevcuttur. Bifosfonatların osteoklastik aktiviteyi azaltması, kalsiyum fosfat moleküllerine yüksek bağlanma kapasitesi ve peptidlerle sinerjistik osteoblastik etki gösterirler.[37]

f) Hidroksiapatit yüzey kaplaması: Hidroksiapatit, kemikte ve dişlerde bulunan doğal minerallerden birisidir. İmplant yüzeyine uygulanarak kemik yüzey ile implantın adezyon yapması amaçlanmaktadır. Titanyum implant yüzeyleri, kemik ile sıkı adeziv bağ oluşturmasına rağmen kimyasal olarak bağlantı sağlamamaktadır. Hidroksiapatit kaplı titanyum yüzey ise daha hızlı bir biçimde osseointegrasyona katkıda bulunmaktadır. Hidroksiapatit yüzey kaplaması, osteokondüktif özelliği sayesinde plazma sprey ile birlikte tüm implant yüzeyinde 20-80 μm derinliğindeki pürüzlü yüzeylere 1-2 μm kalınlığında hidroksiapatit kristallerinin uygulanmasını içerir. Bir yandan hidroksiapatit kaplanmış titanyum yüzeyler normale göre daha erken protetik yükleme imkânı sunarken, diğer yandan normal titanyum yüzeyli implantlara göre 10 yıllık ağızda sağkalım oranı çok daha düşüktür.[49] Çalışmaya göre, titanyum yüzeyli implantlarda sağkalım oranı % 87 iken, hidroksiapatit kaplı yüzeyli implantlar için bu oran % 67 şeklinde gerçekleşmiştir. Bunun sebebi uzun dönemde hidroksiapatit kaplama yüzeyin titanyum implant yüzeyinden bölgesel olarak ayrılmasına bağlanmaktadır. Plazma spreyle pürüzlendirilmiş ve hidroksiapatit ile kaplanmış titanyum biomateryaller daha çok ortopedi alanında kullanılmaktadır.[49]

D) Kombine Yöntemler ile Yüzey Modifikasyonu (Sand-blasted, Large-grit, and Acid-etched-SLA)

İmplant yüzeyleri kumlandıktan sonra, HCl, H_2SO_4, HNO_3 ve HF gibi güçlü asidik karakter gösteren kimyasallar ile daha küçük ölçekte pürüzlendirilebilmektedir. Yani makro-pürüzlü yüzeyler, asit ile mikro-pürüzlendirme işlemine tabi tutulmakta ve materyalin yüzey

alanı artırılmaktadır. Deneysel çalışmalar SLA uygulanmış yüzeylerin hızlı kemik formasyonu ve hücre farklılaşmasında yüksek biyouyumluluğa sahip olduğunu ortaya koymuştur.[50-52] SLA implant yüzeylerinin % 95 civarında klinik başarı oranına ulaştığı bildirilmektedir. SLA uygulamasından sonra titanyum implant yüzey topografisi trombosit kümelenmesi ve hücre migrasyonuna pozitif katkılar sağlamaktadır.[53, 54] Başka bir çalışmada SLA yüzeyli doku seviyeli dental implantların minimum tork ile ve primer stabilite olmadan kemik içerisine yerleştirildiğinde, 4 ila 6 ay sonra osseointegrasyonun sorunsuz bir şekilde gerçekleştiği gözlenmiştir.[55] Öte yandan, SLA ve titanyum plazma sprey yüzeyli implantların fonksiyonel yüklemeyi takiben 3. yıldaki krestal kemik kaybının radyografik değerlendirmesinde her iki yüzey arasında herhangi bir farkın olmadığı bildirilmektedir.[56] Yüzeylerin birbirleri ile kıyaslandığı başka bir çalışmada osseointegrasyon kapasitesi yüksekten düşüğe doğru; kumlanmış yüzey (% 68,5), hidroksiapatit yüzey (% 57,9), titanyum plazma sprey (% 48,9) ve makine ile tornalanmış ve işlenmiş yüzey (% 41,7) şeklinde sıralanmıştır.[57]

2.3. Osseointegrasyon

İnsan iskelet sistemi, 200'den fazla ünitesi ile birlikte mobilizasyon, hayati organları koruma, estetik, kan hücreleri için rezervuar alanı ve mineral depozisyonu gibi fonksiyonları vardır. Farklı mekanik kuvvetler ve dış uyaranlarla birlikte, insan iskeletinde sürekli olarak remodelasyon gözlenmektedir. Belirli bir fonksiyonel kuvvet altında olmayan kemik dokusunda zamanla rezorpsiyon meydana gelmektedir. Örneğin; uzay yolculuğuna çıkan astronotların, uzun süreli yerçekimsiz ortamda iskelet-kas sisteminin azalmış fonksiyonuna bağlı olarak toplam kemik kitlesinde her yıl için % 1-4 arasında kayıp gözlenmiştir.[40] İmplant çevresindeki kemik ve yumuşak dokuda kayıp yaşanmaması için fonksiyonel kuvvet esastır.

Dental implantların kemik ile bütünleşmesi, osseointegrasyon denilen fizyolojik bir süreç ile şekillenmektedir. Osseointegrasyon, Yunanca "osteon" (kemik) ve Latince "integrare" (bütün haline getirmek) kelimelerinin birleşmesi ile oluşmuş bir terimdir. İlk olarak 1969 yılında canlı kemik dokusu ile kemik içi implantın ışık mikroskopu altında görülebilir seviyede bütünleşmesi olarak tanımlamıştır. Osseointegrasyon kavramı ilk kez Branemark tarafından tanımlanmıştır. Branemark, 1978 yılında yaptığı bu tanımı yine

kendisi modernize etmiştir. 1986 yılında, Amerikan İmplant Diş Hekimliği Akademisi osseointegrasyon tanımını, "dental implant ile normal kemik dokusu arasında kemik yenilenmesine bağlı olarak kurulan sürekli bir kuvvet aktarımı ile devamlılık sağlayan boşluksuz interpozisyonel bütünleşik yapı" olarak revize etmiştir. En nihayetinde kavram, evrensel protetik kavramlar sözlüğüne "kemik dokusunun, bağ dokusu olmaksızın kalsifiye olarak, alloplastik bir materyale doğrudan doğruya bağlanması" şeklinde geçmiştir. Güncel olarak osseointegrasyon; "implant yüzeyinin temas kurduğu sahayı, konağın, diğer dokularından ayırmak için, fizyolojik savunma mekanizması olarak implant ve doku arasına kemik apozisyonunun sağlanması" olarak tanımlanabilir.[58]

2.3.1. Osseointegrasyon Mekanizması

Yapılan hayvan çalışmalarında osseointegrasyon mekanizması araştırılmıştır. Cerrahi uygulamayı takiben oluşan travma sonrasında; erken evrede (0-4 saat) implant yüzeyine yakın bölgeye iyonlar (örn; kalsiyum) ve plazma proteinleri (albümin, globülin, fibrin) gibi ürünler ulaşır ve implant yüzeyine yapışır.[58] Bu dönem osseointegrasyon sürecinin başlangıcını oluşturmaktadır. İmpantın kanla temas etmesi sonucu oksit tabakası oluşur ve osseointegrasyon için ilk basamak gerçekleşir. Elektron mikroskopu ile yapılan nano-seviyeli çalışmalarda bölgeye göç eden kalsiyum ve fosfat iyonlarının dolaşımdaki oksijen ile birlikte implant yüzeyine nüfuz etmesi ve oksidasyonun sağlanmasından sonra osseointegrasyonun başladığı saptanmıştır.[59]

Drilleme ile yaralanan kemik dokusu ve implant arasında kanama olmakta ve kısa sürede pıhtılaşma sağlanmaktadır. Pıhtı dokusunda fagositik hücreler, polimorfonükleer lökositler, lenfoid hücreler ve makrofajlar görülmektedir. Fagositik aktivite düzeyi cerrahinin 1. ve 3. günü arasında pik yapmaktadır. İlk yerleştirmeden 3-4 gün sonra, spongiyöz bölgedeki pıhtı formasyonunu takiben oluşan granülasyon dokusu, anjiyogenezi başlatır. Eritrositten zengin pıhtının implanta bakan yüzeyinde fibroblast benzeri hücreler bulunmaktadır.[48,59-61]

Bir haftanın sonunda, implant yüzeyinde ince bir osteoid matrix oluşur. Ekstasellüler matriks ve kollajen fibrillerin yeniden şekillenmesi için yukarı yönlü gen regülasyonu meydana gelir ve ilgili hücreler devamlı olarak farklılaşır.[62] İkinci haftadan itibaren artan immatür kemik dokusu, osteoid dokunun gelişimi için öncül teşkil eder. Bu süre içerisinde

immatür kemik doku oluşumu ve osteoblast göçü neredeyse tamamlanır. Daha sonra çeşitli mekanizmalar ile kalsifikasyon başlar.[59] Kemik kalsifikasyon sürecinde; öncelikle pre-kallus oluşur. Pre-kallusu, yoğun bağ dokusu oluşumu izler ve mezenşimal hücrelerin osteoblast ve fibroblastlara farklılaşması ile süreç devam eder. Osteoblast ve fibroblast hücreleri kallus oluşumuna öncülük eder. Kalsifikasyonu takiben yeni kemik oluşumu başlar. Bu aşamada yeni kemik henüz olgun değildir. Zamanla kalsifikasyon artarak, sert, sağlam ve yoğun kemik dokusuna dönüşür. Ortalama 3 ay sonra tamamlanan kalsifikasyon sürecinde sıkı ve olgunlaşmış kemik, protetik yüklemelere hazır hale gelir. Fonksiyonel oklüzal kuvvetler ile kemik remodelasyonu devam eder.[59] Fonksiyonel kuvvet gelmeyen bölgelerde kemikte apozisyondan ziyade rezorpsiyon görülmektedir. Tüm bu osseointegrasyon sürecini yöneten başlıca hücreler osteoklast, osteoblast ve osteositlerdir. Osteositler insan kemik mimarisinin merkezini oluşturmaktadır. İnsan vücudunda toplam 42 milyar osteosit bulunmakta ve 9 milyonu iskeletsel değişikliklerle birlikte her gün yenilenmektedir.[63]

2.3.2. Osseointegrasyonun Klinik Olarak Değerlendirilmesi

İmplant osseointegrasyonunun değerlendirilmesinde primer ve Sekonder stabilitenin ayrı ayrı değerlendirilmesi kritik önem taşımaktadır. Primer stabilite, implant uygulandığı andan itibaren oluşan remodelasyon süreci ile birlikte zamanla azalmakta, Sekonder stabilite ise primer stabilite değerlerinin aksine zamanla artış göstermektedir.

Bu iki değerin birleşkesinin en zayıf oldukları zaman dilimi, implant yerleşimini takiben geçen 3. ve 4. haftalar arasıdır.[64] Kemik remodelasyon sürecinin takibi için klinisyenler implant stabilitesinin ölçülmesine katkı sağlayan bazı araçlar ve teknikler geliştirmişlerdir.

Teknikler invaziv olarak çıkartma torku ve histolojik analizi, non-invaziv olarak radyografik analiz, yerleştirme torku, perküsyon testi, çekiç darbesi metodu, impuls testi, Dental mobilite ölçer, periotest ve rezonans frekans analizini içermektedir. Sıklıkla kullanılan iki teknik periotest ölçümleri ve rezonans frekans analizi teknikleridir. Periotest cihazı ile yapılan ölçümler değerlendirilmiş ve implant stabilitesi üzerinde verilerin analiz süreci geliştirilmiştir. Periotest cihazı 4 saniye boyunca implant yüzeyine dört defa kuvvet uygular. Aletin diş ile temas süresinin hesaplanması sonucunda -8 ila 0 arası değer yeterli

osseointegrasyon, +1 ila +9,9 arası değer klinik muayene gerektiren implantın yüklemeye hazır olmadığı, +10 ila +50 arası değer ise osseointegrasyonun yetersiz olduğu ve implantların kesinlikle yüklenemeyeceğini ifade eder. Periotest cihazı, uygulama esnasında implanta temas ettiği ve bu temas ile belirli düzeyde kuvvetin uygulanması sonucunda, erken dönem kullanımı kendi içerisinde bazı riskler barındırabilmektedir. Ayrıca periotest cihazında ölçümlerin esnasında prob ve diş arası mesafeden etkilenmesi, stabilitenin klinik olarak değerlendirilmesinde hassasiyetin zayıf olması, ölçüm probunun açısına göre değerlerin değişmesi, abutment özellikleri ve temas yüzeyinden etkilenme, ölçüm verilerinin sübjektif olması gibi sorunlar ortaya çıkmıştır. Bu dezavantajlar periotest cihazların kullanımının güvenli olmadığını bizlere göstemektedir.[65]

Bilim insanları bu süreçte implant ile kontakt halinde olmayan, rezonans frekans analizlerini yapabilen cihazlar geliştirmişlerdir. RFA cihazlarında ISQ [Implant Stability Quotient] olarak adlandırılan 0-100 aralığında bir değerler skalası ortaya çıkar. Her 1 ISQ değeri 50 hertz'lik bir frekans farklılaşmasına eşdeğerdir ve cihaz, implant ile temas etmeden, makaslama, gerilme ve baskı kuvvetlerini ölçümleyebilmektedir. Bu cihazlar, günümüzde klinik anlamda implant stabilitesinin değerlendirilmesine katkı sağlayan ürünleri oluşturmaktadır. Yapılan birçok çalışma ile RFA analizi yapan cihazların implantlarda hem primer hem de Sekonder stabilitenin ölçülmesinde diğer yöntemlere göre birçok avantaja sahip oldukları ve güvenilir sonuçlar oluşturduğu gösterilmiştir.[64-66]

2.3.3. Osseointegrasyonu Etkileyen Faktörler

Osseointegrasyonun erken evresinde iki tip kemik-implant yüzey etkileşimi söz konusudur. Birincisi, fibrointegrasyon olarak da bilinen fibröz bir yumuşak doku kapsülü oluşumu ile karakterizedir. Eğer implant, etrafındaki kemik ile yeterli düzeyde stabilite elde edemezse, osseointegrasyon başarısız olur. Kemiğin doğrudan implant yüzeyi ile temasta olduğu ikinci tip bağlanma osseointegrasyon olarak adlandırılmaktadır. İmplantın uzun dönem başarısında ikinci terminolojik kavram tercih edilmektedir. Osseointegrasyon oranı ve kemik-implant bağlantı yüzdesi implantın yüzey özelliklerine bağlıdır. Kimyasal içeriği, yüzey enerjisi, hidrofobi/hidrofilitesi, pürüzlülüğü, topografisi ve yüzey morfolojisi hücrelerin yapışıp yaşamasında oldukça önem arz etmektedir.[7]

Osseointegrasyonun optimal koşullarda sağlanabilmesi için konak reaksiyonu önemli olduğu kadar implant yüzeyi de oldukça önemlidir. İmplant yüzeyinin fiziksel nanostrüktürel yapısını incelediğimizde, titanyum dioksitin 3 farklı faza sahip olduğu bilinmelidir. En çok bulunan fazı rutil formudur. Anataz yapıya sahip tetragonal faz ve içerisinde ortorombik yapı barındıran brokit formu olarak titanyum dioksitin 3 farklı forma sahip olduğu bilinmektedir.[60]

Titanyum dioksitin kristalize formlarının tam olarak etkisi bilinmemektedir. İn vitro çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır. McAlarney ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada titanyum dioksitin kristalize yapısının protein adezyonunu etkilediği ve bunun da iyileşme üzerinde etkilerinin olduğunu savunmuşlardır.[67] Öte yandan, Wheelis ve arkadaşları yaptıkları güncel çalışmada kristal yapının preosteoblast ve fibroblastlar üzerinde uzun dönem etkilerinin anlamlı bir sonuç ürettiği sonucuna varamamışlardır.[60]

Titanyum yüzeyi, normal şartlar altında doğada hidrofilik olarak bulunmaktadır. Bir yüzeyin hidrofilik olması, yüzey kontak açısının 90 dereceden daha büyük olduğunu belirtir. Bununla birlikte sektörde finansal kâr amacı ile satılan dental implantların çoğunluğu hidrofobiktir.[68] Bunun sebebi, titanyum yüzeyin endüstriyel üretim esnasında karbon ve diğer elementlere maruz kalması ve yüzey karakteristiğinin değiştirilmesidir. Bir su damlasının ya da kanın hidrofobik bir yüzeye yayılması pek mümkün değildir. Osseointegrasyon için ilk şart, implant temas yüzeyine, yiv aralarına, nanopürüzlendirilmiş sahalara kan dokusunun ulaşabilmesidir. Kontak açısı, plazma uygulaması, UV ışıkla irradyasyon uygulamasına bağlı olarak yüzey açısı 0 dereceye yakın hale getirilip süper hidrofilik hale getirilebilmektedir. Hidrofilik yüzeylerin hidrofobik yüzeylere nazaran avantaj sağladığı çalışmalar literatürde yaygın olarak bulunmaktadır.[69]

Cerrahi uygulamalarda implant materyalinin kemikle bütünleşebilmesi için primer stabilite sağlanmalıdır. Smeets ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada, primer stabilitenin implant uygulaması yapıldıktan sonra rezorpsiyona bağlı olarak azalmaya başladığını, 2 ila 3. haftada bu düşüşün dip yaptığını belirtmişlerdir. Sekonder stabilite ise implant uygulaması yapıldıktan sonra zaman geçtikçe artmaktadır.[70] Osseointegrasyon için kemik yüzeyi ile temasa geçen implantın oksitlenmiş yüzeyi, süreç içerisinde adeziv bağ oluşturma potansiyeli gösterirler. Bu entegrasyon süreci konağın yanıtına ve implant biyomateryalinin yüzey özelliklerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir.[70]

Titanyum implantların oksit yüzeyleri implantların osseointegrasyon kapasitesini artırdığı bilinmekle birlikte korozyona dirençli kararlı bir yapı da oluşturduğu görülmektedir. Öte yandan bazı araştırmacılar implantların insan vücudunda farklı etkilerinin olduğunu da gözlemlemişlerdir. Örneğin; Hallab ve arkadaşları, total diz replantasyonu sonrasında serumda titanyum konsantrasyonunun arttığını göstermişlerdir.[71] Mentus yaptığı çalışmada titanyum yüzeyde anodik ve katotik korozyonun olduğunu göstermiştir.[72] Anodik korozyon genellikle titanyum yüzeyin oksitlenememiş segmentlerinde meydana gelmekte bu da oksitlenen yüzeyin titanyum materyali zamanla nasıl muhafaza edebildiğini göstermektedir. Katodik korozyon sürecine reaktif oksijen radikallerinin azlığı sebep olmakta ve bu radikalleri makrofajlar, monositler, granulositler de üretmektedirler. Reaktif oksijen radikalleri implant yüzeyi etrafında VEGF sekresyonunu artırmakta ve anjiyogenez hızlanmaktadır.[72]

Osseointegrasyon mekanizması, normal kemik iyileşmesi ve remodelasyon süreci ile benzerlik göstermektedir. Sağlıklı bireylerde iyileşme normal seyrinde devam etmekte iken sistemik durumun problemli olması iyileşmeyi ve prognozu etkilemektedir. Özellikle sigara içen bireyler, kontrol altında olmayan diyabet hastaları, osteoporoz ve onkolojik tedavi görmüş hastalar risk içermektedir.[73,74] Öte yandan periodontal sağlığı iyi olmayan bireylerin de implant uygulamalarında uzun dönem yüksek başarısızlık oranları görülmektedir.[75]

İmplant uygulanan yüzeyde osseointegrasyonun modifikasyonu, konak yanıtına ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Osseointegrasyon kapasitesi ve kemik rejenerasyonunu geliştirmek ve iyileştirmek için biyouyumlu organik bileşenler bölgesel olarak uygulanabilmektedir.[75]

2.4. Biyoaktif Ajanların Kemik Rejenerasyonunda Kullanımı

Osteoblastik farklılaşma, anjiyogenezis, matriks mitozisi ve hidroksiapatit formasyonunu sağlayan ve dokularda rejeneratif uyarılmaları sağlayabilen mediyatörlere biyoaktif ajanlar denir.[76] İnsan kemik dokusunun rejeneratif kapasitesi oldukça yüksek olmasına rağmen defekt büyüklüğü, yaş, immünojenik veya genetik faktörler ve altta yatan bazı sistemik durumlar neticesinde rejeneratif potansiyel azalabilmektedir. Rejenerasyon kapasitenin artırılması ve osseointegrasyonun daha kısa sürede tamamlanmasında kullanılabilen çeşitli rejeneratif ürünler mevcuttur. Otolog kan trombosit türevleri, kan

dokusundan alınıp ayrıştırılan ve kemik rejenerasyonunu artıran yüksek konsantrasyonda biyoaktif faktörleri içermektedir.[77] Önceleri fibrin ağı ve yapıştırıcısı ve trombositopeni hastalarının tedavisinde kullanılan trombosit konsantrasyonlarının kemik rejenerasyonunu hızlandırdığı keşfedildikten sonra diş hekimliğinde de kullanımı yaygınlaşmıştır.[78]

Hematologlar, ilk olarak 1970'li yıllarda santrifüje edilmiş kanda alt tabakada çöken fibrin matriksinde normal venöz kana oranla çok daha fazla trombosit yoğunluğu olduğunu keşfetmişlerdir.[79,80] Yumuşak ve sert doku iyileşmesinde kullanılabilmesi için, mikrolitrede asgari 1.000.000 trombosit olması gerekirken, bu oran kanda 150.000-300.000 arasında farklılık göstermektedir.[81-83] Normal şartlarda belirli miktardaki kanda düzeyi % 5 olan trombositlerin santrifüje edildikten sonra % 95'e kadar çıkabildiği belirtilmektedir.[81]

Trombositler, kemik iliğinden köken alan megakaryositlerden oluşan, disk şeklinde çekirdeksiz hücrelerdir. Kan dolaşımı içerisinde turn-over süreleri 7 ile 10 gün arasında değişmektedir. Trombositler koagülasyon sürecinin gerçekleşmesine ek olarak, içinde barındırdığı sitokin ve büyüme faktörleri ile birlikte rejenerasyon ve tamir mekanizmalarında rol oynarlar. Yara iyileşmelerinde trombositlerin etkisi ile fibrin ağı oluşmaktadır ve bu fibrin ağı farklılaşmamış mezenşimal hücreleri kendisine çekmektedir.[84]

Otolog trombosit içerisindeki büyüme faktörleri ve fibrin ağ, yara iyileşmesi, anjiyogenez, doku tamiri ve kök hücre aktivasyonunda önemli rol oynamaktadır. Trombositlerin alfa ve delta depo granülleri, polipeptit ve diğer mikromolekülleri içermektedir. Alfa granülleri, çeşitli seviyelerde büyüme faktörü, protein, von-Willebrand faktörü, fibrinojen, trombosit türevli büyüme faktörü (Platelet Derived Growth Factor, PDGF), epidermal büyüme faktörü (Epidermal Growth Factor, EGF), VEGF, endotelyal büyüme faktörü (Endothelial Cell Growth Factor, ECGF), fibroblast büyüme faktörü (Fibroblast Growth Factor, FGF), TGF-β ve IGF içeriğiyle kök hücre stimülasyonunda oldukça büyük bir potansiyele sahiptirler. Dens granül adı da verilen delta granülleri ise adenozin difosfat, adenozin trifosfat, kalsiyum ve seratonin içermektedir. Bu bileşenler ise doku ve damar geçirgenliğini artırabilmektedir.[82]

İlk olarak 2009 yılında Ehrenfest, Rasmusson ve Albrektsson, otolog kan trombosit ürünleri lökosit içerip içermemesine ve fibrin mimarisine göre 4 gruba ayırmıştır.[85] **Bu ürünler;**

1) Lökositten arındırılmış ya da çok az lökosit içeren trombositten zengin plazma (P-PRP)

2) Lökosit ve trombositten zengin plazma (Leukocyte and Platelet-Rich Plasma, L-PRP)

3) Lökositten arındırılmış ya da çok az lökosit içeren trombositten zengin fibrin (P-PRF)

4) Lökosit ve trombositten zengin fibrin (Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin, L-PRF)

P-PRP'nin diğer bir ismi de plazmadan zengin büyüme faktörleri (Plasma Rich Growth Factor, PRGF) olarak bilinmektedir. P-PRP ve L-PRP, likid ya da aktif jel formda kullanılabilen ürünlerdir. P-PRF, yalnızca güçlü jel formda kullanılabilirken sıvı formda uygulanamamaktadır. P-PRF ürünleri ile ilgili yalnızca bir ticari firma ürün tanıtımı yapmakta olup bu durum çeşitli manipülasyon ve ekonomik handikaplara sahiptir. Birinci nesil trombosit türevlerini, PRP ve Anitua'nın PRGF'si oluşturmaktadır. İkinci nesil trombosit konsantrasyonları ise trombositten zengin fibrin (Platelet Rich Fibrin, PRF), titanyum ile hazırlanan trombositten zengin fibrin (Titanium-prepared Platelet Rich Fibrin, T-PRF), enjekte edilebilir trombositten zengin fibrin (Injectable Platelet Rich Fibrin, i-PRF), konsantre büyüme faktörü (Concentrated Growth Factor, CGF) oluşmaktadır.[85]

CGF, 2006 yılında Sacco tarafından geliştirmiş ikinci nesil kan trombosit türevidir. CGF, venöz kanın santrifüje edilerek büyüme faktörü ve lökositten zengin bir fibrin ağa dönüştürülmesi ile elde edilir.[86] CGF protokolünde; santrifüj işlemi önce 30 saniyelik hızlanma periyodu ile başlar, akabinde 2700 rpm'de 2 dakika, 2400 rpm'de 4 dakika, 2700 rpm'de 4 dakika, 3000 rpm'de 3 dakikalık döngüyü takiben 36 saniyelik yavaşlama ve durağanlaşma periyodu ile son bulur. Yapılan güncel çalışmalarda trombosit türevlerinin rejenerasyonu artırma kapasitesinin olduğu bilinmektedir.[77,87-89]

PRF, Joseph Choukroun tarafından geliştirilmiştir.[90] PRF kavramı literatüre kazandırıldığında, lökositten arındırılmış (P-PRF), lökositten zengin (L-PRF) arasında herhangi bir ayrım gözetilmeksizin yalnızca PRF olarak adlandırılmış ve bu da lökosit içeriği açısından literatürde karmaşıklık yaratmıştır. PRF'te, Choukroun, monositlerin ve diğer

lökositlerin konsantre trombosit türevlerinden ayrıştırılmasının doğru olmadığını, çünkü materyallerin antimikrobiyal etkinliğinin olduğunu belirtmiştir. Choukroun'un geliştirdiği bir diğer teknik ise dişeti veya deri gibi yumuşak dokulara enjekte edilerek veya kemik greftleri birleştirilerek kullanılabilen i-PRF'tir. Bu şekilde PRF'nin greftler ile birlikte uygulanabilirliği kolaylaşmıştır.[85]

PRF'in ileri versiyonu olan geliştirilmiş trombositten zengin fibrin (Advanced-Platelet Rich Fibrin, A-PRF), 2014 yılında Choukroun tarafından geliştirilen üçüncü nesil bir trombosit türevidir.[85] PRF'e göre içerisinde daha fazla beyaz kan hücresi içeren A-PRF, düşük hızlı bir santrifüj ile oluşturulduğundan dolayı orijinal PRF'ten daha yumuşak bir kıvama sahiptir. Santrifüj tekniğinden dolayı trombosit ve lökositten daha zengin bir son ürün elde edilir.[91] Bu sistemde trombosit ve beyaz kan hücreleri fibrin içerisindeki bütünlüğünü korumaktadır. Belirtilen protokol, geleneksel yöntemlere göre çok daha kolay olmakla birlikte ürün kullanım yönergesinde yalnızca santrifüj yöntemi ile ve herhangi bir ek katkı maddesine ihtiyaç duymadan ürün hazırlanabilmektedir.[92] PRF ürünü 12 dakikalık 2700 rpm'de santrifüj ile hazırlanırken, A-PRF ise 14 dakika boyunca 1500 rpm'de elde edilmektedir.[93]

2.5. Kemik Remodelasyonunda TNF-α, RANKL ve OPG'nin Rolü

İmplant osseointegrasyonu, kemiğin zaman zaman rezorbe olduğu ve yerini yeni kemik dokusuna bıraktığı bir remodelasyon sürecidir. Dolayısıyla kemik yapım ve yıkımında rol alan hücrelerin bilinmesi, çeşitli sitokinlerin remodelasyon sürecindeki görevlerinin anlaşılmasında önemli olacaktır.

Sürecin anlaşılmasında 1990'lı yılların başlarında, osteoklastların mononükleer öncül hücrelerden köken alan, aynı zamanda makrofaj ile ortak kökene sahip hücrelerden meydana geldiği bilinmekteydi. Oysaki osteoklastlar, osteoblastların salgıladığı makrofaj koloni uyarıcı faktör (Macrophage-Colony Stimulating Factor, M-CSF) ile birlikte öncül hücrelerden meydana gelmektedir.[51] Araştırmacılar, M-CSF'den yoksun bırakılmış farelerde yapılan bir çalışmada, osteoklastik farklılaşmanın meydana gelemediğini, ancak osteoklastik farklılaşma için tek faktörün bu sitokin olmadığını gözlemlemişlerdir.[94] Japonya'da Roden ve Martin,[95] Amerika Birleşik Devletleri'nde ise Simonet,[95] 1997 yılında yaptıkları çalışmalarında, kemik remodelasyonunda sitokin dönüşüm mekaniği ile ilgili

hipotezler öne sürmüşler ve tutarlı sonuçlar ortaya koymuşlardır. Bu çalışmalarda molekülü farklı tekniklerle izole etmişlerdir.[95] Genel düşünce olarak, Roden ve Martin'in hipotezleri geçerliliğini sürdürmesine rağmen, mekanizma tamamen aydınlatılamamıştır. Dört çalışma grubu, salınan bu mediatörler ile ilgili çalışmalar yapmış ve henüz adı konmamış bu hususları irdelemişlerdir. Boyce ve arkadaşları[96] fareler üzerinde normalden çok yüksek seviyelerde tümör nekroze edici faktör (Tumor Necrosis Factor, TNF) sekresyonuna sebep olacak yüklemeler yapmışlar, fakat bu farelerin bazılarının osteopetrozise yakalandığını gözlemlemişlerdir. Kemik rezorpsiyon mediyatörü olarak görev yapan TNF moleküllerinin böyle antagonizmal bir reaksiyon vermesi, Boyce ve arkadaşlarında merak uyandırmış ve tesadüf eseri Osteoprotegerin'i (OPG) keşfetmişlerdir. OPG ile ilişkili olan gene "Bone protector-kemik koruyucu" ismini vermişlerdir. Bunun sebebi, osteoprotegerinin kemik yıkımını inhibe etmesi ve kemikte rezorpsiyon paternini azaltmasıdır. Diğer bir faktör olarak nükleer faktör Kappa B ligandı reseptör aktivatörü (RANKL)/OPG sisteminin de keşfedilmesi ile birlikte fizyoloji çalışmalarında yeni yolların açılması söz konusu olmuştur.[97]

Tümör nekroze edici faktör alfa (Tumor Necrosis Factor Alpha, TNF-α), 212 aminoasit zincirinden oluşan, 3 monomerli glikoprotein yapısına sahip bir sitokindir. Makrofaj ve monositler tarafından salınır. TNF-α, periodontal kemik yıkımında tükürük ve dişeti oluğu sıvısından izole edilebilen bir biyo-belirteçtir.[98] Kaşektin veya tümör nekroze edici faktör süper ailesi 1A (Tumor Necrosis Factor Superfamily 1A, TNFSF1A) olarak da bilinmektedir. Pleiotropik etki, yani tek bir ürün olarak birden çok varyatif etki gösterebilmektedir. TNF-α, aynı zamanda dokularda insülin direncini de artırarak Tip 2 diabet komplikasyonlarının gelişiminde rol oynamaktadır.[99] Hücre membranı üzerinde ve çözünebilir halde aktif formda olabilir. TNF-α geni, 6. kromozom üzerinde bulunan "majör doku uygunluk kompleksi" (Major Histocompatibility Complex, MHC) içerisinde yer almaktadır. Ekspresyon transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel mekanizmalarla kontrol edilmektedir.[100] Dişeti oluğu sıvısı (DOS) ve peri-implant oluk sıvısı (PİOS) içerisinde bulunan kemik yapım ve yıkım mediyatörleri osseointegrasyon için belirleyici rol oynamaktadırlar. Bu konu ile ilgili gelişmiş düzeyde literatür taraması yapıldığında, özellikle TNF-α ile birlikte interlökin 6'nın (Interleukin 6, IL-6) osteonekroz süreci ile ilgili başlıca sorumluluğa sahip iki mediyatör olduğu görülmektedir.[101] Sigaranın sağlıklı bireylerde peri-implant oluk sıvısındaki TNF-α düzeyini artırdığı bilinmektedir.[102] TNF-α,

osteoblastik hücrelerin olgunlaşmasını ve aktivasyonunu baskılamakta ve osteoblastik hücrelerin apoptozisini başlatmaktadır. Ayrıca fibroblast apopitozunu indükleyerek peri-implant dokunun tamir kapasitesini düşürmektedir. Böylelikle PİOS'daki TNF-α varlığı implant etrafındaki ataçman kaybının bir delili olarak görülebilir.[103] Sistematik bir derleme ve meta-analiz çalışmasında TNF-α ve interlökin 1β'nın (Interleukin 1β, IL-1β) peri-mukozitis ve peri-implantitis varlığında sağlıklı olanlara kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır.[104] Gen ilişkili 1,25(OH)2D3 reseptör aktivasyonunu bloke ederek RANKL ile birlikte dolaylı olarak osteoklastik aktiviteyi de artırmakta, ayrıca osteoprotegerin salınımını da azaltmaktadır.[101]

RANKL, TNF-α süper ailesine bağlı Tip II homotrimerik transmembran proteinidir. RANKL, membrana bağlı ayrışarak salınmaktadır. Osteoblastik kök hücreler başta olmak üzere RANKL salınımı, lenfoid doku, timüs ve akciğerde gerçekleşir. RANKL'ın kemik fizyolojisindeki en baskın rolü osteoklastik farklılaşma ve aktivasyonu ile birlikte osteoklast apopitozunun inhibisyonudur. M-CSF ile ilişkili RANKL, matür osteoklastlardaki osteoklastik öncül hücrelerin tam anlamıyla farklılaşması için gerekli ve tek başına yeterlidir.[105] RANKL geninden yoksun bırakılmış farelerin tüm osteoklast hücrelerini kaybettiğini ve ciddi osteopetrozis tablosu sergilediği belirtilmektedir.[106] RANKL ve OPG osteoblastlardan salgılanır ve inaktif osteoklast hücresinin RANK reseptörüne bağlanmak için birbirleri ile yarışırlar. RANKL normalde matur ve prekürsör öncül osteoklast hücreleri üzerinde bulunan RANK reseptörüne bağlanır. Osteoklastların fonksiyonlarını yapabilmesi için bu bağlantı gereklidir.[107] Stimülasyon neticesinde üç yolla sinyal kaskatı düzenlenmektedir. İlk iki yolak nükleer faktör kappa B ve aktivatör protein-1 ile enflamatuar yanıtın, üçüncüsü ise apoptotik yolağın aktivasyonudur.[108]

401 aminoasit içeren bir protein olarak sentez edilen OPG, 380 aminoasit içeren olgun bir proteine dönüşür.[105] OPG, stromal hücre ve osteoblastlardan serbestleştirilir. Bu yapısı ile OPG, membran ilişkili TNF süper-ailesinin diğer üyelerinden farklıdır. RANKL molekülünün aksine OPG geninden yoksun farelerde osteoporoz gözlenmiştir.[109] OPG, RANKL'a bağlanarak RANK sinyal yolağını tıkar. Tüm RANKL formlarının biyolojik etkilerini nötralize eden antagonist bir endojen reseptör olarak hareket eder ve kemik rezorpsiyonunu inhibe eder. Aynı zamanda OPG'nin RANKL'dan bağımsız bir şekilde osteoklast üzerindeki reseptörler ile bilinmeyen bir şekilde etkileşerek doğrudan osteoklast aktivitesini inhibe edebildiği bildirilmektedir. OPG osteoklastik farklılaşma, aktive olmuş

olgun osteoklastların süpresyonu ve apopitoz indüksiyonu gibi biyolojik etkilere sahiptir. Osteositler kemik şekillenmesi ve formasyonunda kritik rol oynayan RANKL/OPG sinyal yolağına etki ederek kemik oluşumuna katkı sağlar.[110] RANK/RANKL/OPG oranının histomorfometrik olarak fizyolojik kemik remodelasyonunun ana belirteci olduğu belirtilmektedir.[111] Peri-implant hastalıklarda RANKL/OPG oranının artığı belirtilmektedir.[112]

2.6. Dişeti Oluğu Sıvısı ve Peri-implant Oluk Sıvısı

Ağız sekresyonları, fizyolojistler açısından her zaman ilgi çekici olmuştur. Ağız sekresyon analizi, periodontoloji alanında, multidisipliner çalışma sisteminin klinik entegrasyonu, hücre biyolojisi, klinik diş hekimliği, moleküler biyoloji, epidemiyoloji ve davranış bilimi, intraoral bölgenin sistemik hastalıklara olan etkisi ve sistemik hastalıkların intraoral bölgeye etkisinin incelenmesi, insan vücudundaki histokimyasal değişimlerin anlaşılması, periodontal sağlığın idamesi ve hastalıklardan korunmanın ana eksenini oluşturmaktadır.[113]

Periodonsiyum bağ dokusu, oldukça zengin vasküler ağ yapısına sahip olmakla birlikte, moleküler ve hücresel komponentlerin kan aracılığı ile intraoral bölgeye taşınmasında ara tampon rol üstlenmektedir. Gingival sulkus dokuları sürekli olarak cep sıvısı ile yıkanmakta ve buradaki sekresyon sürekli olarak devam etmektedir. Gingival cep sıvısı diğer bir adıyla dişeti oluğu sıvısı (DOS), ilk olarak 1800'lü yıllarda keşfedilmiş fakat kompozisyonu ve savunma mekanizmasındaki rolü ilk olarak 1950'li yıllarda Waerghaug ve Bill & Krasse'nin öncü çalışması ile ortaya çıkartılmıştır.[114] Köpekler üzerinde yapılan çalışmalarda, önceden köpeklere enjekte edilen ve serumda serbest halde dolaşan floresan materyalin dişeti oluğu sıvısına yerleştirilen kâğıt striplere 3 dakika sonra geçtiği ve kâğıt striplerin floresan materyali absorbe ettiğini gözlemlemişlerdir.[115] Bu örnek, sıvı geçişinin kan yolu ile dokulara taşındığını, taşınan sıvının gingival sulkustan ekstrakte edildiğini göstermiştir. Brill dişeti oluğu sıvısının insanlarda bir serum sıvısı olduğunu savunmaktadır. Daha sonra yapılan çalışmalarda dişeti oluğu sıvısının sürekli akış halinde saf bir transüda olmadığı, aksine inflamatuvar bir eksüda olduğu gösterilmiştir.[116]

DOS, kompleman faktörler, antikorlar ve hücresel komponentlerin (plazma hücreleri ve nötrofiller) toplamından oluşur ve cep içerisinde subgingival plağa karşı primer savunma

mekanizmasını oluşturur. Herhangi bir enflamasyon olmasa bile, cep içerisinden sürekli olarak belirli bir miktarda DOS sekrete olur. DOS'un enflamatuvar ve rejeneratif olayların fizyolojisin takibinde kullanılması günümüzde kullanılan bir yöntemdir. Dişeti oluğu sıvısı içerisinde bakteriler, epitelyal hücreler, lökositler, eritrositler, alkalin fosfataz, katepsin B, matriks metalloproteinaz-8 (MMP-8), MMP-9, nötrofil elastaz, MMP-12, IL-1β, interlökin-4, (Interleukin-4, IL-4), IL-6, interlökin-8 (Interleukin-8, IL-8), Interferon gamma, immünglobülin A (Immunoglobulin A, IgA), IgG, IgM, laktoferrin, lizozim, OPG, Osteokalsin, prostoglandin E2, dönüştürücü büyüme faktörü alfa (Transforming Growth Factor alpha, TGF-α), TGF-β, TNF-α ve RANKL izole edilebilmektedir.[117]

Peri-implant oluk sıvısı, dişeti oluğu sıvısına benzer şekilde, implant ve dişeti bağlantı epiteli arasından izole edilebilen ve diagnostik amaçla kullanılabilen bir biyolojik materyaldir. Yapılan çalışmalarda, periodontal doku hastalıklarından gingivitis ve periodontitisin dental implantlar etrafında gözlenen peri-mukozitis ve peri-implantitis ile benzer doku patolojisi sergilediği rapor edilmiştir.[118]

2.6.1. Peri-implant Oluk Sıvısı Elde Etme Yöntemleri

PİOS, kökeni ve içeriği yönüyle DOS ile benzer bir sıvıdır. Bu nedenle sıvı elde etme yöntemlerinden bahsederken DOS yerine PİOS ifadesi kullanılacaktır.

Periodontal ve peri-implanter remodelasyon sürecinde konak dokuda sürekli olarak sitokin ve kemokinler aktif bir salınım halindedirler. Aynı şey remodelasyon için de geçerlidir. Periodontal ve peri-implanter hastalıkların klinik olarak incelenmesinde plak skoru ve plak indeksi, klinik ataçman kaybı, sondalama cep derinliği, gingival indeks, sondalamada kanama indeksi gibi klinik belirteçler kullanılabilmekte ve hastalığın seyri gözlemlenebilmektedir. Peri-implant oluk sıvısının elde edilmesi belirli bir standardizasyon içerisinde olmalı ve izolasyonun tam olarak sağlanması gerekmektedir.[119]

Peri-implant oluk sıvısının toplanmasındaki en büyük zorluk, sağlıklı durumlarda sulkustan elde edilen materyalin miktarıdır. Bu nedenle araştırmacılar farklı sıvı toplama yöntemleri belirleme ihtiyacı duymuşlardır. **Bu yöntemler;**[120]

- Gingival yıkama metodu: İki teknik ayrı ayrı kullanılabilmektedir. Oppenheim'ın gingival yıkama metodu için sert akrilikten mamül edilmiş bir plak kullanılmaktadır. Plağın dişetine bakan kısımları dişetini örtecek şekilde tasarlanır. Bunun sebebi gingival sulkus

girişinin plak içerisinde kalmasını ve sıvının plağın içerisine akmasını sağlamaktır. Biriken sıvı plağa bağlı dört tüp içerisinde toplanır. Bu toplama metodu daha çok maksillada kullanılır. Peristaltik pompa ile bir sulkustan diğerine doğru yıkama yapılır. Verilen sıvının miktarı bilindiğinden, elde edilen sıvının toplamından önceki sıvının miktarı çıkarılıp gerçek sıvı miktarı tespit edilir. Uzun dönemli çalışmalarda faydalıdır. Kontaminasyon riski olmayıp dokuların bütünlüğünü korur. Çok karmaşık bir işlem olması ve sıvıyı dilüe etmesi dezavantajları arasında yer alır.[103]

- Mikrokapiller teknik: Mikrokapiller tüp veya pipetler ile kapiller aksiyon sayesinde sıvının toplanmasına imkân tanır. Sıvının alınacağı bölgenin izolasyonundan sonra çapı bilinen bir kapiller tüp gingival oluk girişine yerleştirilir. Tüpün içine doğru kapiller aksiyon sayesinde gingival oluk sıvısı göç eder. Çapı bilinen tüpün içindeki oluk sıvısının miktarı işaretli çizgiler arasındaki mesafe ölçülerek belirlenir. Uzun toplama süresi, işlem esnasında travma meydana getirebilmesi ve viskoz bir sıvının aspire edilmesindeki zorluklardan dolayı toplanamaması gibi dezavantajları vardır.[120]

- Absorpsiyon teknikleri: Absorpsiyon teknikleri, cep içerişine yerleştirilen kâğıt striplerin cep içerisindeki sıvıyı standart olarak belirleyen belirli bir süre içerisinde absorbe etmesi ile bilinmektedir. Kâğıt çubuk ve kâğıt şeritlerin birbirlerinden farklı absorbsyion aralığına sahip oldukları bilinmektedir.[121] Absorpsiyonun optimum koşullarda olabilmesi için oluk sıvısının kan ile kontaminasyonunun engellenmesi gerekmektedir. Bunun için bazı araştırmacılar 30 saniye ile 1 dakika arasında değişen uygulama süreleri öngörmüşlerdir.[120] Absorpsiyon teknikleri kendi içerisinde iki ana gruba ayrılmaktadır.

a) İntrakreviküler teknik: Oluk sıvısı için en sık kullanılan ölçüm olmakla birlikte, kâğıt şeridin cep içerisine girmesi hedeflenir. Derin ve sığ intrakreviküler teknik olarak ikiye gruba ayrılan intrakreviküler teknikte, dişeti oluğu sıvısı izole edilirken kullanılan predominant olarak derin intrakreviküler teknik kullanılmakla birlikte, peri-implant oluk sıvısı toplanmasında, narin bağ doku yapıya sahip olması ve erken dönemdeki iyileşme sürecinden dolayı sığ intrakreviküler teknik kullanılabilir. Periimplant doku, normal gingival dokular gibi sıkı bir bağlantı epiteline sahip değildir ve travmatize olma insidansı daha yüksektir. Sığ intrakrevikular teknikte dişetinin irritasyonundan kaçınılmakta ve kanama oluşumu önlenmektedir. Sığ intrakreviküler teknikte kâğıt şeritler oluk içerisine 1 mm derinliğinde yerleştirilir.[120]

b) Ekstrakreviküler teknik: Periodontal hasar durumunda cep içerisinde irritasyona sebebiyet vermemek için periodontal patoloji mevcudiyetinde ekstrakreviküler teknik kullanılabilir. Bu teknikte kâğıt şeritler cep içerisine yerleştirilmez. Kuron üzerine yerleştirilir ve hidrostatik basınç ile gingival cep sıvısının cep dışına çıkması ve kâğıt şeridin eksüdayı absorbe etmesi beklenir. Ekstrakreviküler teknik daha çok üst dişlerde kullanılan bir tekniktir. Epidemiyolojik çalışmalarda örneklem yapılmak istendiğinde daha çok üst çenedeki dişler izolasyon için kullanılır. Çünkü yerçekimi etkisi ile absorpsiyon daha kolay gerçekleşir.[120]

Dişeti oluğu sıvısında bulunan TNF-α, RANKL ve OPG, kemik apozisyonu ya da depozisyonu ile ilgili, araştırmacılara her zaman bilgi verir.[122] Akram ve arkadaşları yaptıkları çalışmada dişeti oluğu sıvısında artan TNF-α seviyesi ile birlikte enfeksiyon bulgularının da arttığını belirtmişlerdir.[123] Belibasakis ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada dişeti oluğu sıvısındaki RANK, RANKL ve OPG düzeyinin kemik yapım ve yıkım turn-overında aktif olarak görev yaptıklarını belirtmişlerdir. Özellikle RANKL/OPG oranının artması ile birlikte rezorpsiyon paterninin arttığı, OPG'nin artması ve oranın düşmesi ile birlikte remodelasyon sürecinin gerçekleştiğini belirtmişlerdir.[108] Bu yönden bakıldığında, dişeti oluğu sıvısının içerisinde bulunan biyomarker düzeylerinden mevcut kemik yapım-yıkım durumunu gözlemlemek ve hastalığın seyrini ve prognozunu simüle edebilmek mümkün hale gelebilmektedir. OPG seviyesinin artışının kemik remodelasyonunu hızlandırıdığı yapılan güncel çalışmalarla gösterilmiştir. [124,125]

Yakın zamanda, Lei ve arkadaşlarının[126] 2020 yılında periodontal kemik içi defektler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, CGF ve A-PRF biyomateryallerinin yönlendirilmiş doku rejenerasyon kapasitesinin artışına olan etkisini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada 14 gün sonunda A-PRF membranın CGF membrana göre daha gevşek bir fibrin yapıya sahip olduğu fakat daha fazla büyüme faktörü salınımı yaptığına ilişkin bir sonuca ulaşmışlardır. Bu sonucun istatistiksel bir fark yaratmadığı ve her iki ürünün de 14 gün boyunca büyüme faktörü salınımını düzenli olarak sağladığı, A-PRF ve CGF biyomateryallerinin her ikisinin de kontrol gruplarına göre periodontal rejenerasyonu ve bölgede kemik oluşumunu artırdığını belirtmişlerdir.[126] Öte yandan, Park ve arkadaşları,[127] yetişkin köpekler üzerinde oluşturulan femur defektlerinde CGF ve PRF biyomateryallerini uygulamışlardır. Çalışmanın sonuçlarında görüldüğü üzere CGF materyalinin PRF ürününe göre fibrinojenik stabilite açısından daha sabit bir yapıya sahip olduğu belirtilmiş ve geleneksel PRF ürünlere

göre 1.5 kat daha fazla VEGF içerdiğini ortaya koymuşlardır.[127] Clark ve arkadaşları, 2018 yılında çekim sonrası soket koruma ve implant uygulaması yaptıkları çalışmalarında, vertikal kemik kaybı yüksekliğinin en az olduğu grubun A-PRF ve dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftlerinin kombine uygulaması ile birlikte olduğunu göstermişlerdir.[128] Barnebau-Mira ve ekibi, daha çok posterior mandibulada görülen travmatik kemik kistlerinin dolumu ile ilgili yaptıkları çalışmada, A-PRF ve kollajen membran kombine uygulamasının bölgede diğer çalışma gruplarına göre en başarılı iyileşmeyi sağladığını göstermişlerdir.[129] Yewale ve arkadaşlarının 2021 yılında yaptıkları çekim sonrası soket koruma uygulamalarını içeren çalışmalarında, greft materyali ile birlikte uygulanan A-PRF'in, hem vertikal hem de horizontal olarak 3 boyutlu düzlemde hacimsel olarak kemik kaybını azalttığı sonucuna varmışlardır.[130] Yapılan tüm bu çalışmalarda, kan trombosit türevlerinin yeni kemik oluşumunda kullanımının defekt bölgesinin kemik ile hacimsel dolumu, yeni kemik oluşumunun hızlandırılması, rejeneratif potansiyelin artırılması ve cerrahi sonrasında kemik kaybının minimize edilmesi açısından olumlu sonuçlar ortaya konmuştur.

Pıhtı oluşum sürecinde sitokinler, büyüme faktörleri, kemokin ve kimyasal mediyatörler arasındaki etkileşim ile kompleks sinyalizasyonlar meydana gelir. Yara bölgesindeki yükselen sitokin ve büyüme faktörleri makrofaj, nötrofil ve lenfositlerin göçünü artırır. Bu nedenle fibrin matriksinden salgılanan sitokinlerin bu sinyalizasyon yolaklarını etkileyebileceği bildirilmektedir.[131] Bu çalışmadaki hipotezimiz, dental implant yara bölgesine uygulanan CGF veya A-PRF gibi trombosit konsantrasyonlarının inflamasyon, proliferasyon ve remodelasyon sürecine katkı sağlayacağıdır. Bu nedenle amacımız, CGF ve A-PRF'in dental implant osseointegrasyonuna etkisini klinik, radyografik ve biyokimyasal yönden değerlendirmektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Protokolü

Çalışmamız Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda yürütüldü. Çalışmaya başlamadan önce Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi İnsan Etik Kurulu'ndan gerekli izin alındı (Etik Kurul No: 2019/119). Dâhil edilme kriterlerini karşılayan ve gönüllü olan hastalara çalışma ile ilgili detaylı bilgiler verildikten sonra her bir bireye işlem öncesi aydınlatılmış onam formu imzalatıldı (EK-1).

3.2. Hasta Seçimi

Anamnezinde sağlıklı olduğu tespit edilen ve klinik ve radyografik muayenesi yapılmış bireylerin dâhil edilme kriterleri şöyleydi:

- 18 yaş üstü bireyler,
- Mandibulada simetrik dişsiz alanlar,
- İdeal implant yerleşimine olanak sağlayan yeterli kemik genişliği ve yüksekliği,
- Sigara içme alışkanlığı olmayan bireyler,
- İmplant bölgesinde en az 2 mm keratinize dişeti genişliği ve 3 mm yumuşak doku kalınlığı.

  Aşağıda belirtilen kriterlerden herhangi birini taşıyan bireyler çalışma dışı bırakıldı.

  Bu kriterler;

  - Diabetes mellitus, metabolik kemik rahatsızlığı, romatoid artrit, mukokütanöz hastalıklar, immünolojik bozukluklar, hepatit ve HIV benzeri sistemik rahatsızlığı olanlar,
  - İşlem öncesi en az 6 ay önce herhangi bir sebeple antibiyotik, anti-inflamatuar, steroid, immünsüpresan, antikoagülan ve hormonal kontraseptif

kullananlar ile birlikte halihazırda veya daha önce bifosfonat kullanan hastalar,

- İmplant bölgesinde herhangi bir patoloji veya defekte sahip bireyler,
- İmplant bölgesinde sert doku augmentasyonu öyküsü olanlar,
- İleri düzeyde periodontal hastalığı olup oral hijyeni zayıf bireyler,
- Dişsiz bölgeye komşu dişte ileri derecede çürük veya endodontik lezyon varlığı,
- Plak kontrolünü zorlaştıracak ağız içi ortodontik ve protetik aparey kullananlar,
- Hamile ve emziren bireyler.

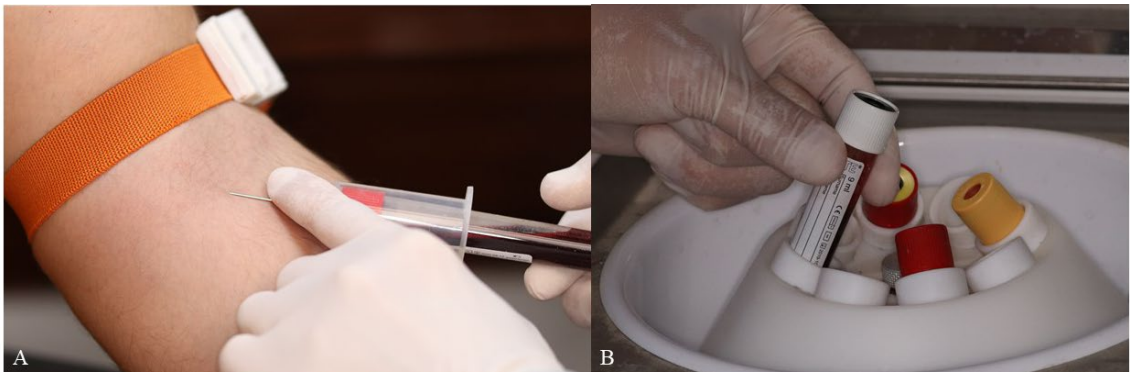
Buna göre bölünmüş ağız dizaynı ile tasarlanan çalışmamıza, CGF ve A-PRF grupları için 20'şer hasta olmak üzere toplam 40 birey dâhil edildi.

3.3. Randomizasyon ve Körleme

Operasyona başlamadan önce hastaların hangi gruba dâhil edileceği kapalı zarf çekilerek belirlendi. Mandibulada hangi tarafa CGF veya A-PRF uygulanacağı ise yine kapalı zarf çekimi ile belirlendi. Operasyonu gerçekleştiren hekim, hangi materyalin uygulandığı konusunda bilgi sahibi değildi. Klinik ve radyolojik ölçümler ise yine çalışma hakkında bilgi sahibi olmayan başka bir hekim tarafından gerçekleştirildi.

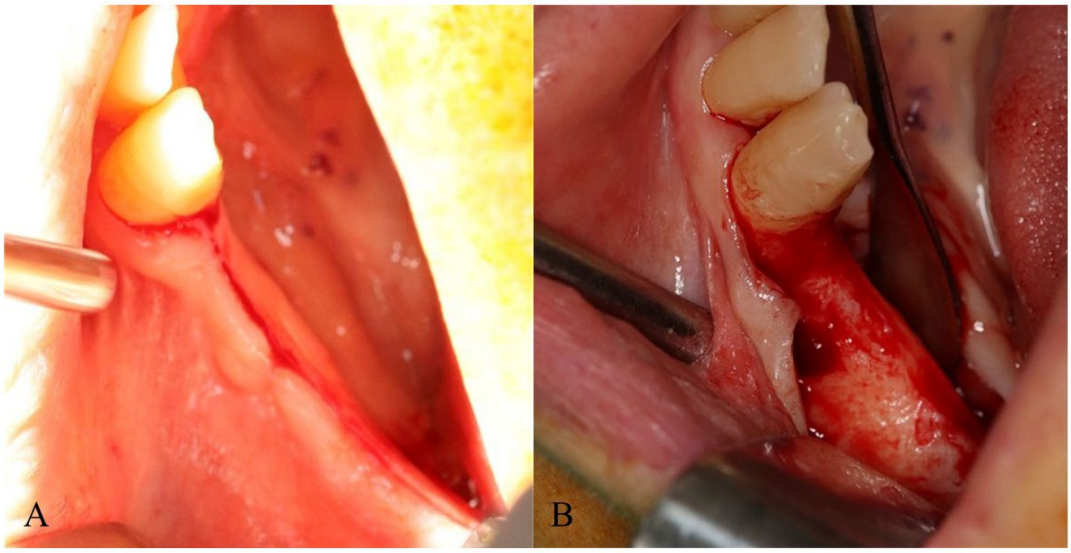
3.4. Cerrahi Prosedür

İlk olarak hastanın önkol kübital veninden 9 ml kan alındıktan sonra vakit kaybetmeden santrifüj işlemi gerçekleştirildi (Şekil 3.1A ve 3.1B).



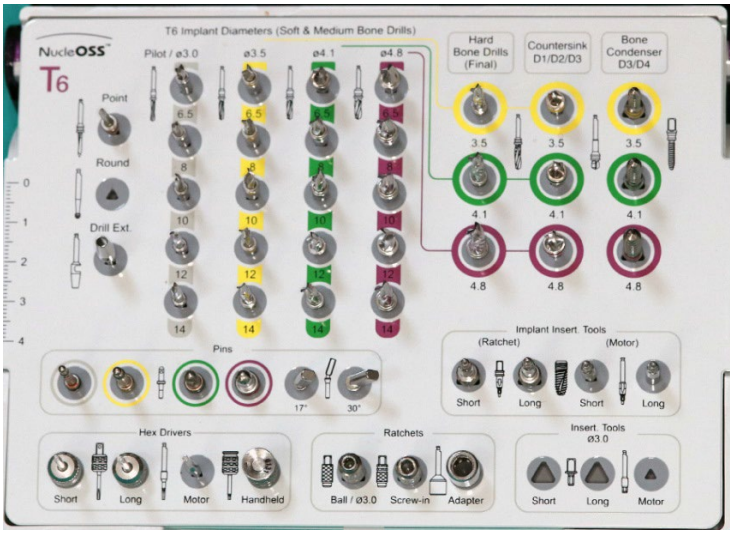
Şekil 3.1. (A) Kübital venden kan alma, (B) antikoagülansız tüplerin santrifüj cihazına yerleştirilmesi

Cerrahi bölgenin 1:100.000'lik adrenalin içerikli anestezik ile (Maxicaine) infiltrasyon anestezisi sağlandı. 15c nolu bistüri yardımı ile kret üzerinde horizontal insizyon yapıldı. (Şekil 3.2A)



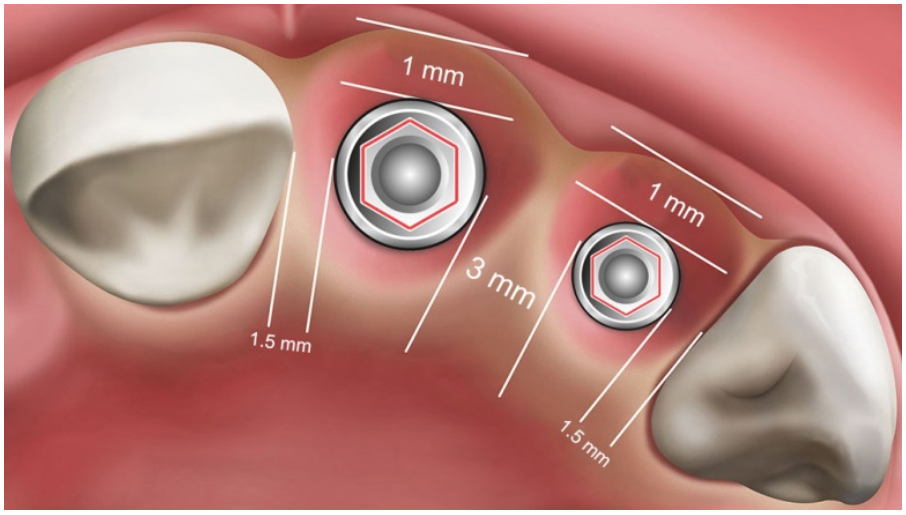
Şekil 3.2. (A) Krestal horizontal insizyon, (B) tam kalınlık flep ile kemiğin açığa çıkartılması

İnsizyon hattı boyunca tam kalınlık mukoperiostal flep kaldırıldı (Şekil 3.2B). Cerrahi sahadaki kemiğin kalınlığı ve bölgenin gereksinimleri göz önünde bulundurularak implant çapı belirlendi ve implanta ait cerrahi set ile frezleme işlemi gerçekleştirildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. İmplant cerrahi kiti

Frezleme işleminde, işaretleme frezi ile bölge tespit edildikten sonra pilot frez ile implant pozisyonu belirlendi ve implantın boyu oranında yuva oluşturuldu. Yerleştirilmesi planlanan implant çapına göre, dar frezden başlayarak son freze kadar 600 rpm hız ve 25 Ncm tork ile implant kavitesi oluşturuldu (NSK Surgic Pro, Nakanishi International). Boyun bölgesi stresi minimalize etmek için bütün kavite preparasyonlarında son frezden sonra boyun frezi (countersink) kullanıldı. İmplantın yerleştirildiği bölgenin mezial veya distalinde doğal diş olması durumunda, diş ile implant kavitesi arasında arasında en az 1,5 mm'lik mesafenin olmasına ve implant kavitesinin bukkal ve lingualinde en az 1 mm'lik kemik varlığına dikkat edildi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Bir implantın doğal diş ve komşu implanta göre konumu

3.5. CGF ve A-PRF Hazırlama Prosedürü

Tüm santrifüj işlemleri 24 derecelik oda sıcaklığında gerçekleştirildi. CGF için kan, 30 sn'lik bir hızlanmadan sonra, 2700 rpm'de 2 dakika, 2400 rpm'de 4 dakika, 2700 rpm'de 4 dakika, 3000 rpm'de 3 dakika ve 36 saniyelik yavaşlama programına uyumlu cihazda (Medifuge, Silfradent SRL, Sofia, Italy) santrifüj edildi (Şekil 3.5). A-PRF için ise kan, 1300 rpm'de 14 dakika boyunca santrifüj edildi (Duo Centrifuge, France) (Şekil 3.6).[93]

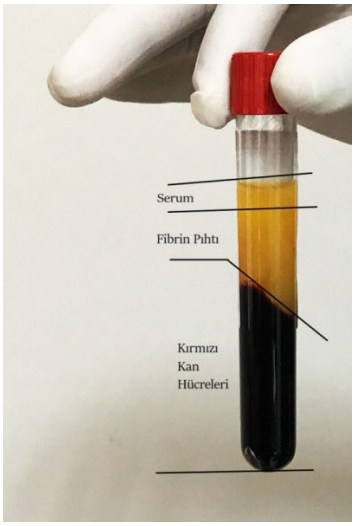


Şekil 3.5. CGF santrifüj cihazı



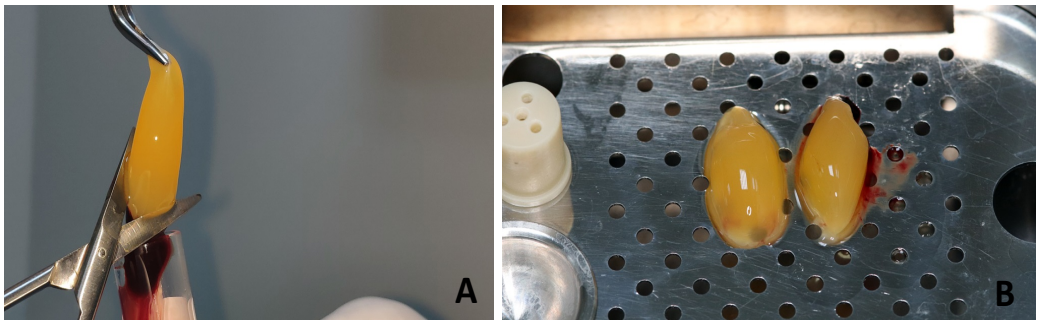
Şekil 3.6. A-PRF santrifüj cihazı

Her iki prosedürde, tüp içerisinde yukarıdan aşağıya doğru; trombositten fakir plazma (serum), beyaz kan hücresinden zengin fibrin tabaka (CGF veya A-PRF materyali) ve kırmızı kan hücresinden zengin kısmın olduğu 3 tabakalı bir otolog ürün[132,133] elde edildi (Şekil 3.7).

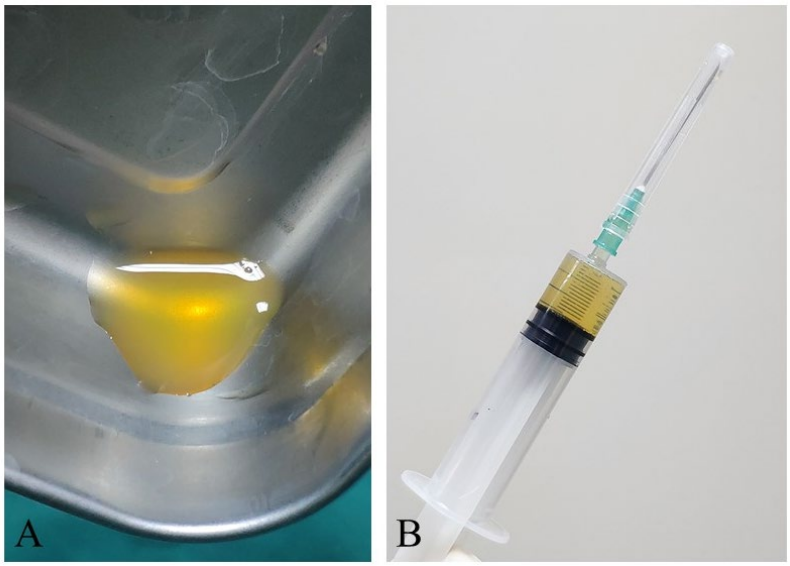


Şekil 3.7. Santrifüj ile elde edilen ürünün tüp içerisindeki katmanları

Bir penset yardımı ile tüpten alınan CGF veya A-PRF materyali özel kutudaki delikli kısmın üzerine yerleştirildi (Şekil 3.8). İçerisindeki büyüme faktörü ve trombositten zengin sıvının kaba akmasını sağlamak için fibrin matriks üzerine metalik kapak konuldu. Bir yandan spesifik sıvı kabın dibinde birikirken, diğer yandan fibrin matriksin membrana dönüşümü sağlandı (Şekil 3.9A ve Şekil 3.10).



Şekil 3.8. (A) Trombosit ve büyüme faktörü açısından zengin fibrin matriksin tüpten alınması, (B) fibrin matriksin özel delikli kutuya yerleştirilmesi



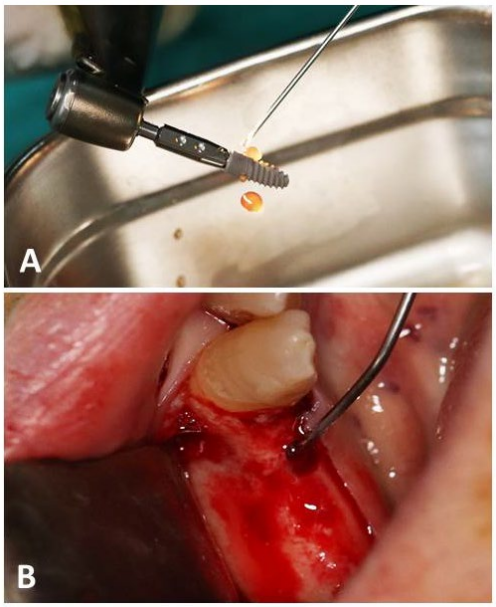
Şekil 3.9. (A) Fibrin matriksten süzülen sıvının kaba aktarılması, (B) sıvının implant yüzeyine uygulanmak üzere 5 cc'lik enjektöre alınması



Şekil 3.10. Fibrin matriksten membran elde edilmesi

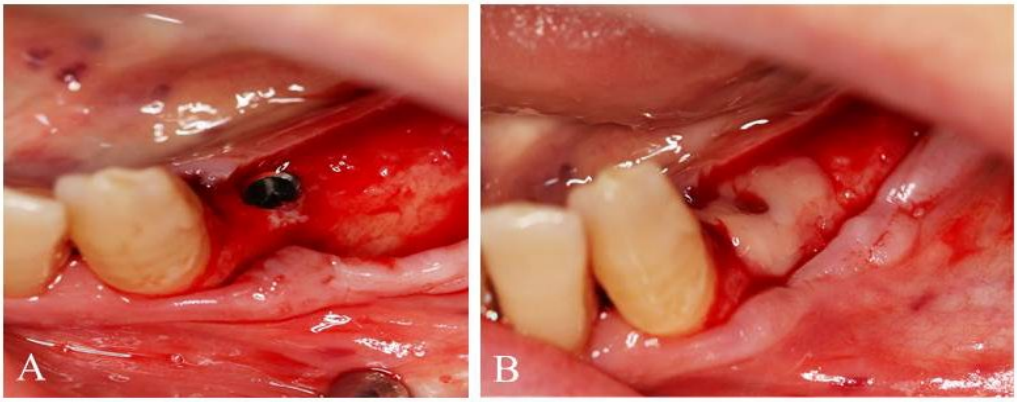
3.6. Fibrin Sıvısının İmplant Yüzey ve Kavitesine Uygulanması ve İmplantın Yerleştirilmesi

Fibrin matriksten sızarak özel kabın içinde biriken sıvı, bir enjektör ile çekildikten sonra (Şekil 3.9B) cerrahi sahaya yerleştirilmesi planlanan implant yüzeyine, ıslak bir alan kalmayıncaya kadar uygulandı (Şekil 3.11A). Ayrıca hazırlanan implant kavitesi de sıvı ile dolduruldu (Şekil 3.11B). Bu aşamada kavitenin içerisindeki sıvının emilmesinden kaçınmak için implant yerleştirilinceye kadar aspirasyon yapılmadı.



Şekil 3.11. (A) Fibrin sıvının implant yüzeyine uygulanması, (B) kavitenin fibrin sıvısı ile doldurulması

İmplant üzerine, önceden hazırlanan ve bölgeyi yeterince kapsayacak şekilde bir fibrin membran örtüldü (Şekil 3.12). Fibrin membran üzerinde iyileşme başlığının implanta oturabilmesi için bir delik oluşturuldu ve bölgenin gereksinimlerine uygun iyileşme başlığı yerleştirildi (Şekil 3.13A). Kontrol grubundaki prosedür, çenenin karşı tarafında ve CGF ve A-PRF uygulanmadan benzer şekilde gerçekleştirildi (Şekil 3.13B). Bütün implantlar 40 rpm ve 25 Ncm tork ile 0,5 mm subkrestal olarak yerleştirildi (Nucleoss® T6, İzmir, Türkiye). İmplant stabilitesinin ölçümü için, iyileşme başlığı takılmadan önce rezonans frekans analizi (RFA) yapıldı (Penguin^{RFA}, Nakanishi, Göteborg, Sweden). Cerrahi saha 5/0 ipek sutur ile kapatıldı (Şekil 3.13). Hastalara yalnızca klorheksidin gargara reçete edildi. Postoperatif önerilerde bulunuldu. 10 gün sonra suturlar uzaklaştırıldı.



Şekil 3.12. (A) İmplantın subkrestal yerleşimi, (B) fibrin membranın krestal kemik üzerine konumlandırılması

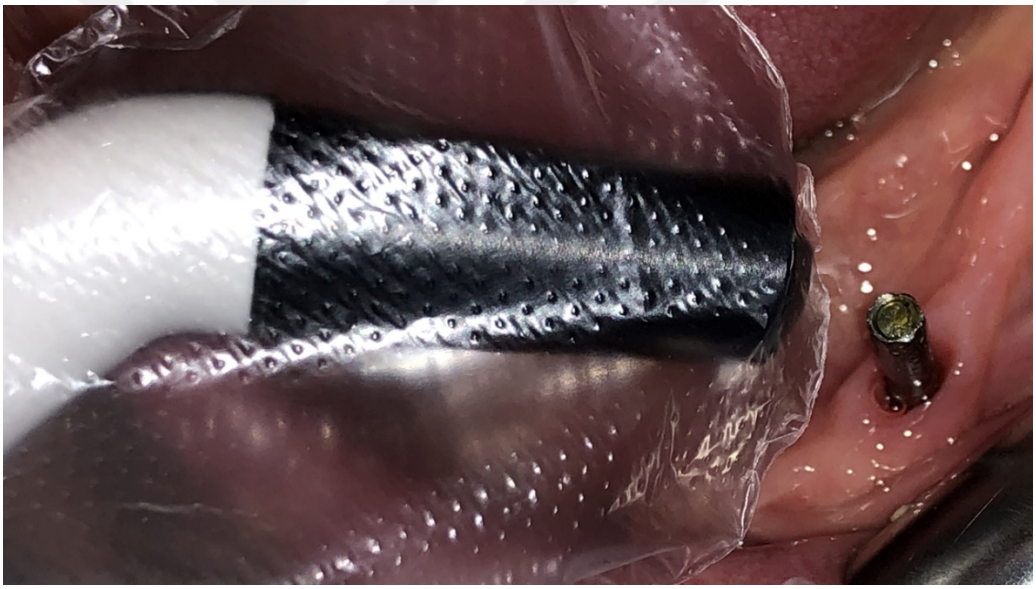


Şekil 3.13. (A) İyileşme başlığının yerleştirilmesi ve bölgenin 5/0 ipek sütur ile kapatılması, (B) çalışma gruplarına ilişkin implantların simetrik görünümü

3.7. Klinik ve Radyografik Ölçümler

3.7.1. Peri-implant Klinik Parametreleri: Plak indeksi (Pİ)[134], gingival indeks (Gİ)[134], cep derinliği (CD) ve gingival kanama indeksi (GKİ)[135] için meziyal, distal, bukkal ve lingual olmak üzere her bir iyileşme başlığının 4 yüzeyi değerlendirildi. Cep derinliği, gingival marjinden cep tabanına kadar olan mesafenin periodontal sonda (UNC-15 probe) ile ölçülmesiyle elde edildi. Klinik ölçümler 2. hafta, 4. hafta ve 3. ayda kaydedildi.

3.7.2. Rezonans Frekans Analizi: RFA ile implant stabilitesinin değerlendirilmesinde Penguin RFA cihazı (Integration Diagnostics Sweden AB) kullanıldı. Cihazın ölçüm yapabilmesi için implant gövdesine MulTipeg transdüktör yerleştirildi.



Şekil 3.14. Rezonans frekans analizi

MulTipeg, direnç hissedene dek (yaklaşık 3-5 Ncm) el ile sıkıştırıldı. Penguin RFA cihazı ile transdüktör arasında temas olmaksızın belirli bir mesafeden implant stabilitesi ölçümü gerçekleştirildi. Her bir implantın mezio-distal ve bukko-lingual ekseninde beşer defa ölçümler tekrarlanarak elde edilen sayısal değerlerin ortalaması alındı. İmplant stabilite değeri "ISQ" (implant stability quotient) şeklinde ifade edildi. RFA analizleri, implant

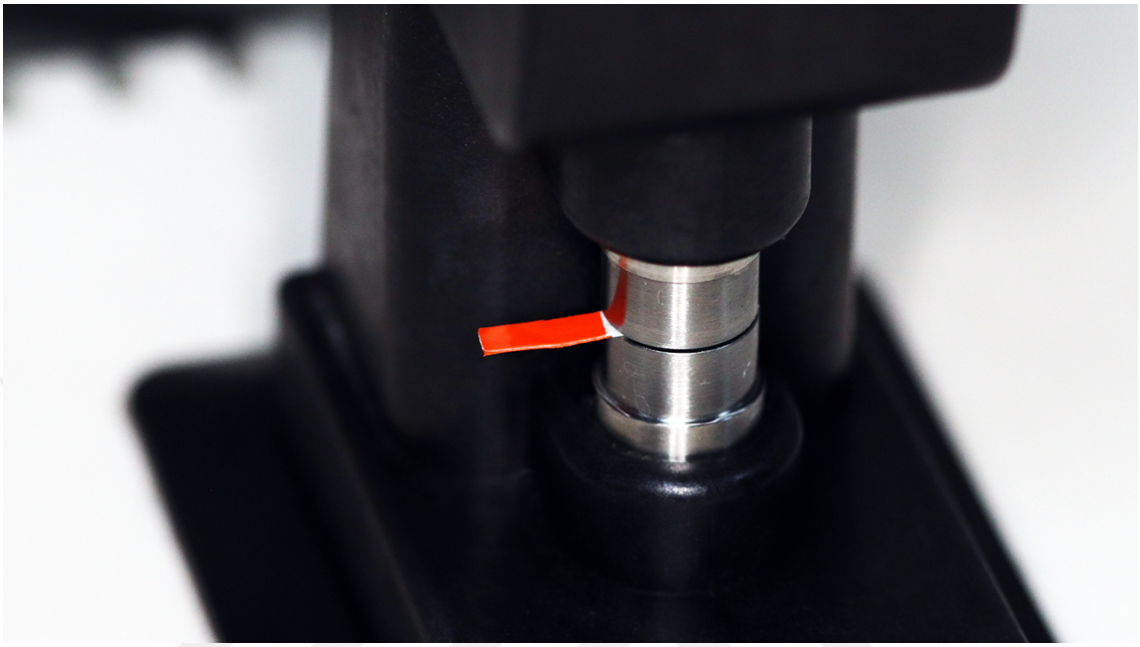
yerleştirildikten hemen sonra, 4. hafta ve 3. ayda olmak üzere üç ayrı zamanda yapıldı. Tüm ölçümler aynı değerlendirmeci tarafından gerçekleştirildi (Şekil 3.14).

3.7.3. Peri-implant Oluk Sıvısı Elde Etme: Peri-implant oluk sıvısı elde etmek için absorban filtreli kâğıt şerit (Periopaper^{TM}, Oraflow, SmithTown, NY) kullanıldı. Bunun için ilgili bölgenin tükürük ve plaktan izolasyonu sağlandı. Ağız içerisindeki tükürüğün tahliyesi için tükürük emici kullanıldı. Bölge, hava ile kurutulduktan sonra iyileşme başlığının meziyal ve distalinden cep içerisine 1 mm girecek şekilde birer adet kâğıt şerit yerleştirildi ve 30 saniye bekletildi (Şekil 3.15). Sürenin sonunda absorban filtreli kâğıt şerit önceden kalibre edilmiş elektronik cihaza (Periotron 8010, Oraflow, Amityville, NY) yerleştirilerek akım değerleri belirlendi (Şekil 3.16). Periotron değerleri yazılım vasıtasıyla (Periotron Professional) mikrolitre cinsinden hacim değerlerine dönüştürüldü. Elde edilen hacim değerleri biyokimyasal analiz ile ölçülen sitokin düzeylerinin kalibrasyonu amacıyla kullanıldı.



Şekil 3.15. Absorban kâğıt ile peri-implant oluk sıvısının elde edilmesi

Kan veya plak ile kontamine olmuş kâğıt şeritler değerlendirme dışı bırakıldı. Kâğıt şeritler boş eppendorf tüpüne aktarılıp ağzı parafin mumu ile kapatıldı ve analiz edilinceye kadar −80˚C'de muhafaza edildi.



Şekil 3.16. Peri-implant oluk sıvısı emdirilmiş kâğıt şeridin kalibre edilmiş Periotron cihazına yerleştirilmesi

3.7.4. Marjinal Kemik Kaybı Seviyesi Ölçümü: Marjinal kemik kaybı seviyesi ölçümü postoperatif üçüncü ayda elde edilen ve kalibre edilmiş panoramik radyografiler üzerinde yapıldı. Ölçüme başlamadan önce, implantların yerleştirilmesinden hemen sonra ve 3. ayda alınan panoramik radyografilerde implantların çap ve boyuna ilişkin ölçümler eşleştirilerek olası sapmalar düzeltildi. Subkrestal yerleştirilen implantların çevresindeki marjinal kemik seviyesi implant platformuna göre koronalde konumlanıyorsa marjinal kemik kaybı "0" mm olarak değerlendirildi. Marjinal kemik seviyesi implant platformuna göre daha apikalde konumlanıyorsa, meziyal ve/veya distalden olmak üzere implant platformundan kret seviyesine kadar olan mesafen ölçülerek ortalama marjinal kemik kaybı düzeyi belirlendi. Ayrıca marjinal kemik kaybı düzeyi, birinci değerlendiricinin (asıl kontrolör) kalibrasyonu için deneyimli ve alanında uzman iki hekim tarafından gerçekleştirildi.

3.8. Biyokimyasal Analizler

Başlangıçta, fosfat tamponlu salin hazırlandı (Phosphate Buffered Salin, PBS pH:7.00 137 mM NaCl, 10 mM Na 2 HPO 4 ve 2,7 mM KCl).



Şekil 3.17. Eppendorf tüp içerisine fosfat tamponlu solüsyon eklenmesi

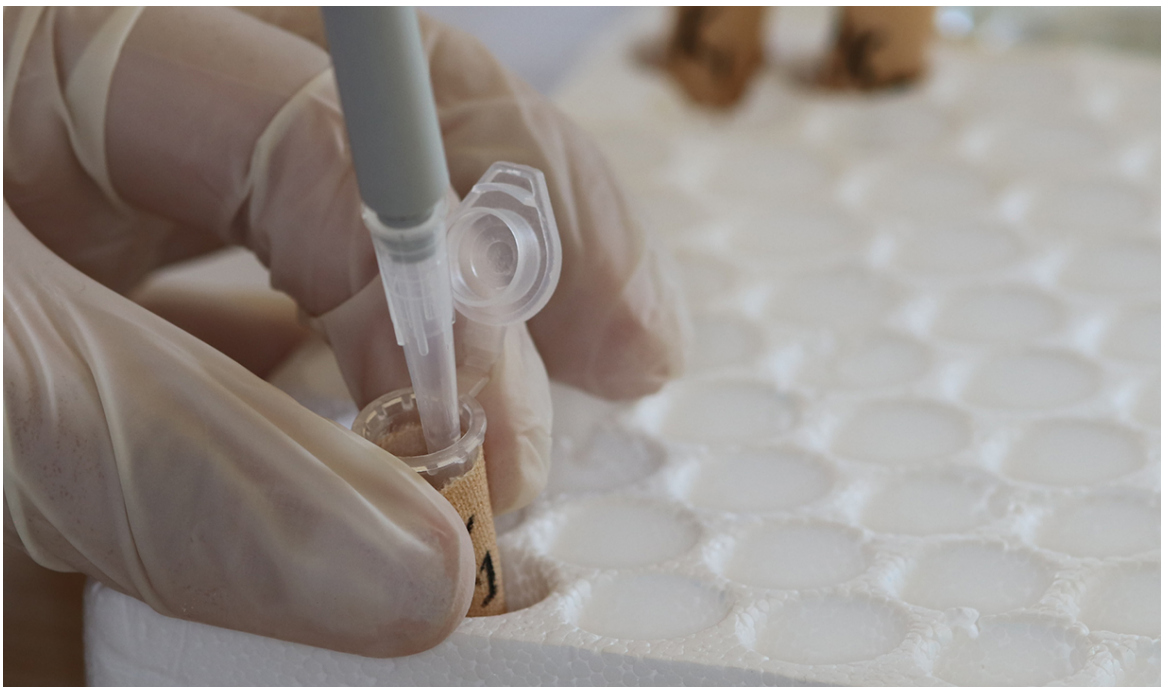
İçerisinde ikişer adet kâğıt şerit bulunan eppendorf tüplerinin her birine 300 µL PBS eklendi (Şekil 3.17) ve oda ısısında 30 dakika bekletildikten sonra 12000 x g'de 15 dk 4℃'de santrifüj yapıldı (Şekil 3.18).



Şekil 3.18. Biyokimyasal mediyatörlerin kâğıt şeritlerden fosfat tampon solüsyonuna geçmesi için örneklerin ünitede çalkalanması

Santrifüj sonrası eppendorf içerisindeki stripler uzaklaştırılarak elde edilen süpernatant, ELISA ölçümlerinde kullanıldı. Analizler için, TNF-α (Boster Biological Technology, Pleasanton CA, USA), sRANKL (Soluble Receptor Activator of Nuclear Factor-Kappa B Ligand) (Elabscience, USA) ve OPG (Boster Biological Technology, Pleasanton CA, USA) kitleri kullanıldı. Her üç biyomolekül için tüm reaktifleri ve çalışma standartları çalışma öncesi kitin üretici talimatları doğrultusunda hazırlandı.

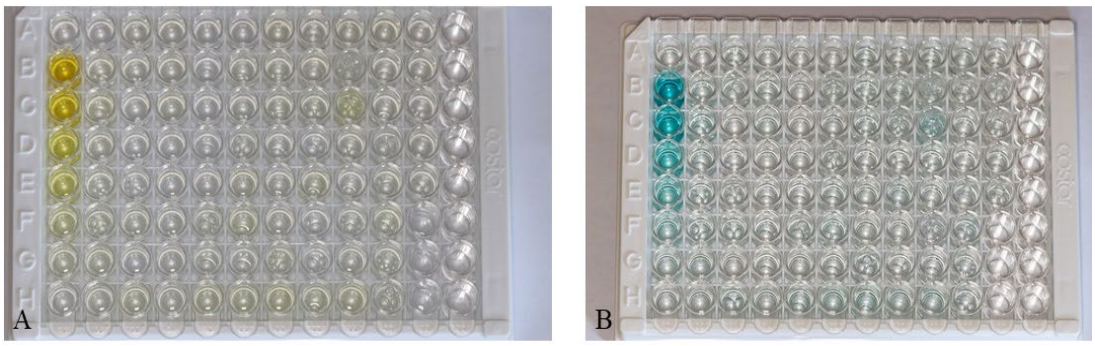
TNF-α için, her bir standart kuyucuğuna 100 µl standart, numune kuyucuklarına çalışma örnekleri 100 µl olacak şekilde pipetlendi (Şekil 3.19). Blank kuyucuğuna ise 100 µl Sample Diluent eklendi. Plate yüzeyi kapatılarak 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Inkübasyonun ardından kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırıldı. Her kuyucuğa hazırlanan 1x Biotinylated Anti-Human TNF antibody 100 µl eklendi. Plate yüzeyi kapatılarak 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. Inkübasyonun ardından kuyucuklar 1x yıkama tampon ile 3 kez yıkandı. Yıkamanın ardından her kuyucuğa hazırlanan 1x Avidin-Biotin-Peroxidase Complex'ten 100 µl eklendi. Plate yüzeyi kapatılarak 37 °C'de 30 dakika inkübasyon yapıldı. Inkübasyonun ardından 1x yıkama tamponu ile 5 kez yıkama yapıldı. Her bir kuyucuğa 90 µl Color Developing Reagent eklendi. Plate yüzeyi kapatılarak 37 °C'de 15-25 dakika inkübasyon yapıldı.



Şekil 3.19. Standart kuyucuklara aktarılmak üzere eppendorf tüplerden sıvı pipetlenmesi

sRANKL için, çalışma örnekleri örnek kuyucuklarına 100 uL pipetlendi (Şekil 3.19). Plate yüzeyi kit içerisindeki kapatıcı ile kaplanarak 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. İnkübayonun ardından kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırılarak, yıkama yapılmadan tüm kuyucuklara 100 µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu eklendi. Plate yüzeyi kapatılarak yavaşça karıştırdıktan sonra 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon bittikten sonra plate içerisindeki solüsyon her kuyucuktan aspire edildi. Her bir kuyucuğa 350 uL yıkama tamponu eklenerek ELISA cihazında 3 kez yıkama yapıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu eklenerek plate yüzeyi kapatıldı ve 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından plate içerisindeki solüsyon uzaklaştırılarak, her bir kuyucuğa 350 uL yıkama tamponu eklendikten sonra ELISA cihazında 3 kez yıkama yapıldı. Yıkamanın ardından her bir kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktifi eklendikten sonra plate yüzeyi kapatılarak 37 °C'de 15 dakika karanlıkta inkübe edildi.

OPG için, her bir standart kuyucuğuna 100 µl standart, numune kuyucuklarına çalışma örnekleri 100 µl olacak şekilde pipetlendi (Şekil 3.19). Blank kuyucuğuna ise 100 µl Sample Diluent eklendi. Plate yüzeyi kapatılarak 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Inkübasyonun ardından kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırıldı. Her kuyucuğa hazırlanan 1x Biotinylated Anti-Human TNFRSF11B antibody 100 µl eklendi. Plate yüzeyi kapatılarak 37 °C'de 60 dakika inkübe eildi. Inkübasyonun ardından kuyucuklar 1x yıkama tampon ile 3 kez yıkandı. Yıkamanın ardından her kuyucuğa hazırlanan 1x Avidin-Biotin-Peroxidase Complex'ten 100 µl eklendi. Plate yüzeyi kapatılarak 37 °C'de 30 dakika inkübasyon yapıldı. Inkübasyonun ardından 1x yıkama tamponu ile 5 kez yıkama yapıldı. Her bir kuyucuğa 90 µl Color Developing Reagent eklendi. Plate yüzeyi kapatılarak 37 °C'de 15-25 dakika inkübasyon yapıldı.



Şekil 3.20. (A ve B) Örneklerin ELISA cihazında okunmasından önce Stop solüsyonu ile reaksiyonun durdurulması

Tüm biyomediyatörler için inkübasyon sonunda her kuyucuğa 100 µl Stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu (Şekil 3.20). Reaksiyonu durdurduktan sonraki kuyucukların optik dansitesi 450 nm dalga boyunda ELISA Reader'da (Thermo Fisher, Scientific Multiscan, Go-Finland) ölçüldü (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. ELISA Reader cihazı

3.9. İstatistiksel Analizler

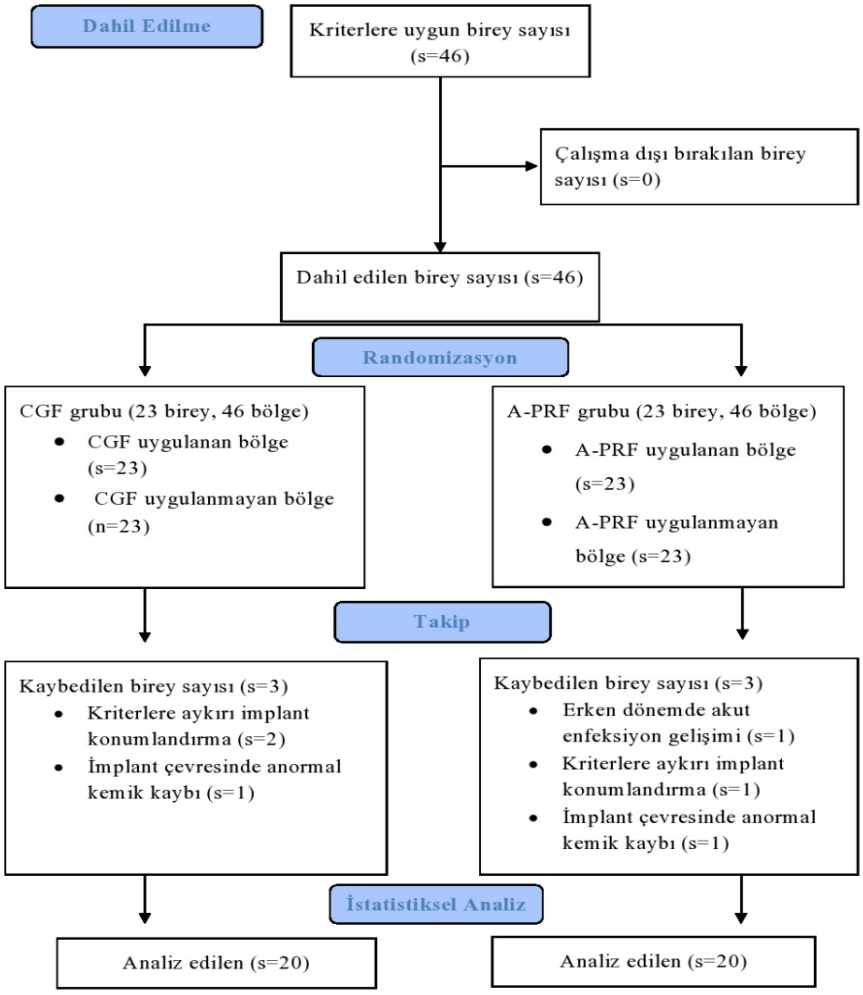
Çalışmamızda veriler % 95 güvenle SPSS 21(IBM SPSS Statistics 21) programı kullanılarak analiz edildi. Sürekli değişkenlerin ifadesinde ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maximum istatistikleri verildi. Kategorik değişkenler ise frekans ve yüzde olarak ifade edildi. Normallik değerlendirmesi Shapiro-Wilk testi ile yapıldıktan bağımsız grupların kıyasında Mann Whitney U ve Student t testleri kullanıldı. Bağımlı ölçümlerin kıyasında ise Wilcoxon işaretli sıralar testi ve Friedman testi kullanıldı. Friedman testinde farklı çıkan analizler için iki ölçüm zamanı kıyası Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon testi (Anlamlılık düzeyi için $p<0,016$) ile yapıldı. Korelasyon analizi için Spearman rank

korelasyon katsayısı ve önemliliği kullanıldı. Bütün analizler için (Bonferroni düzeltmesi hariç) p değeri 0,05 olarak belirlendi.

Çalışmanın güç analizi, TNF-α'nın üç farklı zamandaki düzeyi üzerinden gerçekleştirildi. Bu analizde, kısmi eta kare'nin 0,258 ve etki büyüklüğünün 0,589 olduğu hesaplandı. Her bir zaman ölçümü arasındaki korelasyonlardan en küçüğü dikkate alınarak 0,453 düzeyinde belirlendi. Mauchly'nin W küresellik test sonucu, küreselliği sağlayamadığından, (p=0,001) Greenhouse-Geisser epsilon değeri dikkate alınarak, epsilon değeri 0,656 olarak belirlendi. Bütün bu argümanlarla ve % 95 güç (power) ile her bir ölçüm zamanında alınması hasta sayısı 13 olarak bulundu. Ancak parametrik olmayan test analizi yapılacağından % 15'lik artışla çalışmaya dâhil edilmesi gereken en az birey sayısının 15 olması gerektiği kabul edildi. Bu çalışma için kayıp verilerin olabileceği göz önünde bulundurulduğundan ve daha güçlü bir istatistiksel analiz için her bir çalışma grubuna 20'şer birey dahil edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya başlangıçta 46 birey dâhil edildi. A-PRF grubunda, iyileşmenin 2. haftasında 1 hastada enfeksiyona bağlı implant kaybı, 1 hastada anormal düzeyde kemik kaybı ve 1 hastada hatalı implant konumlandırmadan dolayı 3 hasta çalışma dışı bırakıldı. CGF grubunda ise, hatalı implant konumlandırmadan dolayı 2, anormal kemik kaybı gözlenen 1 hasta olmak üzere 3 hasta çalışma dışı bırakıldı. Buna göre, CGF ve A-PRF grubunda 20'şer hasta olmak üzere toplam 40 hastaya ilişkin sonuçlar değerlendirildi (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Çalışmanın akış diyagramı

Çizelge 4.1. Çalışmaya dâhil edilen bireylerin demografik özellikleri

		Gruplar		p
		CGF	A-PRF	
Cinsiyet*	Erkek	9 (% 45)	13 (% 65)	0,204
	Kadın	11 (% 55)	7 (% 35)	
Toplam		20	20	
Yaş (ort ± ss)†		54,25 ± 14,13	53,95 ± 15,90	0,950
Genel yaş (ort ± ss)		54,10 ± 14,84		

*; Ki-kare testi, †; Student t testi, anlamlılık düzeyi; p<0,05, ort ± ss; ortalama ± standart sapma.

Demografik karakteristiklerine göre çalışmamızda, CGF grubuna 9 erkek 11 kadın, A-PRF grubuna 13 erkek 7 kadın dâhil edildi. CGF grubundaki bireylerin yaş ortalaması 54,25 ± 14,13 (25-79 yaş arası), A-PRF grubundaki bireylerin yaş ortalaması ise 53,95 ± 15,90 (21-78 yaş arası) idi. Bireylerin grup düzeyindeki yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımları istatistiksel açıdan benzerdi (p=0,204 ve p=0,950). (Çizelge 4.1)

İmplantların konumu, çapı ve uzunluğuna ilişkin veriler Çizelge 4.2'de gösterilmektedir. Test ve kontrol bölgelerine implantların yerleştirilme işlemi, mandibuladaki önemli anatomik oluşumlar dikkate alınarak gerçekleştirildi. Bölgedeki kemik kalınlığına göre yerleştirilen implantların çapı 3,5 ila 4,1 mm, uzunluğu ise 8 ila 10 mm arasında değişkenlik göstermektedir.

Çizelge 4.2. Yerleştirilen dental implantların lokalizasyon ve karakteristiklerinin gruplara göre dağılımı

		TEST			KONTROL		
Sıra No	**Grup**	**Konum**	**Çap (mm)**	**Uzunluk (mm)**	**Konum**	**Çap (mm)**	**Uzunluk (mm)**
1	CGF	35	3,5	10	45	4,1	10
2	CGF	43	3,5	10	33	3,5	10
3	CGF	46	3,5	10	36	3,5	10
4	CGF	33	3,5	10	43	3,5	10
5	CGF	43	3,5	10	33	3,5	10
6	CGF	33	3,5	10	43	3,5	10
7	CGF	15	4,1	10	25	4,1	10
8	CGF	43	4,1	10	33	4,1	10
9	CGF	36	3,5	10	46	4,1	10
10	CGF	47	4,1	8	37	4,1	10
11	CGF	36	4,1	10	46	4,1	10
12	CGF	35	4,1	10	45	4,1	10
13	CGF	36	4,1	10	46	4,1	10
14	CGF	34	3,5	10	35	3,5	10
15	CGF	34	4,1	10	44	3,5	10
16	CGF	33	4,1	10	43	4,1	10
17	CGF	43	4,1	10	33	4,1	10
18	CGF	33	3,5	10	43	3,5	10
19	CGF	43	3,5	10	33	3,5	10
20	CGF	33	4,1	10	43	4,1	10
21	A-PRF	41	3,5	10	31	3,5	10
22	A-PRF	44	4,1	10	34	4,1	10
23	A-PRF	43	3,5	10	33	3,5	10
24	A-PRF	47	4,1	10	37	4,1	8
25	A-PRF	36	4,1	10	46	4,1	10
26	A-PRF	36	4,1	10	46	4,1	10
27	A-PRF	46	4,1	10	46	4,1	10
28	A-PRF	33	3,5	10	43	3,5	10
29	A-PRF	43	3,5	10	33	4,1	10
30	A-PRF	33	3,5	10	43	3,5	10
31	A-PRF	35	4,1	10	45	3,5	10
32	A-PRF	46	4,1	10	36	4,1	10
33	A-PRF	33	3,5	10	43	3,5	10
34	A-PRF	43	3,5	10	33	3,5	10
35	A-PRF	32	3,5	10	42	3,5	10
36	A-PRF	34	4,1	10	44	4,1	10
37	A-PRF	43	4,1	10	33	4,1	10
38	A-PRF	47	4,1	10	37	3,5	10
39	A-PRF	42	4,1	10	32	4,1	10
40	A-PRF	22	4,1	10	12	4,1	10

CGF; konsantre büyüme faktörü, A-PRF; geliştirilmiş trombositten zengin fibrin, mm; milimetre.

Çizelge 4.3. İmplantların mandibulada yerleştirildiği bölgeye göre dağılımı

	CGF GRUBU								
	Sağ Çene				Sol Çene				
	M	PM	K	A	A	K	PM	M	Toplam
Mandibula	5	5	10	-	-	10	5	5	40
Toplam	5	5	10	-	-	10	5	5	40
	A-PRF GRUBU								
	Sağ Çene				Sol Çene				
	M	PM	K	A	A	K	PM	M	Toplam
Mandibula	6	3	7	4	4	7	3	6	40
Toplam	6	3	7	4	4	7	3	6	40

M; molar, PM; premolar, K; kanin, A; anterior.

Çizelge 4.3, implantların mandibuladaki pozisyonlarının grup düzeyindeki dağılımını göstermektedir. Çenedeki konumlarına göre, CGF grubunda implantların 20'si kanin, 10'u premolar, 10'u molar bölgeye yerleştirilirken, A-PRF grubunda ise 8 keser, 14 kanin, 6 premolar ve 12 molar bölgeye implant yerleşimi sağlandı.

Çizelge 4.4. Yerleştirilen implantların çap ve uzunluklarının gruplar düzeyinde karşılaştırılması

		CGF		A-PRF		p
İmplant karakteristiği		**Test n (%)**	**Kontrol n (%)**	**Test n (%)**	**Kontrol n (%)**	
Çap (mm)	3,5	10 (27,8)	9 (25,0)	8 (22,2)	9 (25,0)	0,939
	4,1	10 (22,8)	11 (25,0)	12 (27,2)	11 (25,0)	
Uzunluk (mm)	8	1 (50,0)	-	-	1 (50,0)	0,562
	10	19 (24,4)	20 (25,6)	20 (25,6)	19 (24,4)	

mm; milimetre, n; implant sayısı, Ki-kare testi, anlamlılık düzeyi; $p<0,05$.

Çizelge 4.4'te, yerleştirilen implantların uzunluk ve çaplarının CGF ve A-PRF test ve kontrol gruplarında ayrı ayrı dağılımları gösterilmektedir. Tabloya göre implantların çap ve uzunluklarının gruplar arasındaki dağılımı istatistiksel açıdan farklı değildi ($p>0,05$)

Çizelge 4.5. Marjinal kemik seviyesi ölçümlerinin asıl kontrolör ve başka bir değerlendirici arasındaki uyumunun değerlendirilmesi

	I. değerlendirici	II. değerlendirici	
I. değerlendirici	1.000 -	0,840* 0,000	r p
II. değerlendirici	0,840* 0,000	1.000 -	r p
Ölçüm sayısı	160	160	

Spearman korelasyon analizi, r; rho korelasyon katsayısı, p; anlamlılık düzeyi (p<0,05), *; istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı.

Dental implantların üçüncü aydaki panoramik radyografileri üzerinden birinci (asıl kontrolör) ve ikinci değerlendiriciler tarafından yapılan marjinal kemi kaybı ölçümlerinin korelasyonu Çizelge 4.5'te verilmektedir. Test ve kontrol gruplarındaki 80 implant çevresinde iki farklı değerlendirici tarafından yapılan 160 ölçümün birbiriyle % 84 düzeyinde korelasyona sahip olduğu gözlendi (r=0,840, p=0,000).

Test ve kontrol gruplarındaki implantlara ilişkin plak indeksi, gingival indeks, cep derinliği, gingival kanama indeksi ve rezonans frekans değerlerinin zamana göre karşılaştırmasında, CGF-test grubundaki implantların 3. Ay rezonans frekans değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek iken (p=0,005), A-PRF-test grubundaki implantların kontrol grubuna kıyasla, 4. Haftada daha büyük cep derinliğine rastlandı (p=0,025) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. CGF ve A-PRF çalışma gruplarına ilişkin klinik parametereler ile rezonans frekans değerlerinin zamana göre kıyaslanması

		CGF			**A-PRF**		
Klinik ölçümler	Zaman	Test	Kontrol	p^{β}	Test	Kontrol	p^{β}
Pİ	2. hf	0,90 ± 0,79	0,95 ± 0,69	0,665	0,85 ± 0,49	0,55 ± 0,60	0,058
	4. hf	1,00 ± 0,56	1,20 ± 0,89	0,305	0,85 ± 0,59	0,80 ± 0,52	0,705
	3. ay	0,70 ± 0,66	1,05 ± 0,76	0,083	0,80 ± 0,52	0,85 ± 0,67	0,739
	p^{α}	0,250	0,641		0,828	0,758	
Gİ	2. hf	0,80 ± 0,83	0,85 ± 0,59	0,782	0,45 ± 0,60	0,50 ± 0,51	0,705
	4. hf	0,65 ± 0,67	0,95 ± 0,69	0,132	0,60 ± 0,75	0,55 ± 0,60	0,655
	3. ay	0,65 ± 0,59	0,50 ± 0,51	0,257	0,35 ± 0,49	0,55 ± 0,51	0,102
	p^{α}	0,695	0,054		0,091	0,544	
CD (mm)	2. hf	2,55 ± 1,15	2,45 ± 1,36	0,480	2,85 ± 1,14	2,60 ± 0,82	0,129
	4. hf	2,00 ± 0,56	2,05 ± 0,51	0,739	2,25 ± 0,44	2,00 ± 0,46	**0,025***
	3. ay	1,80 ± 0,62	1,65 ± 0,59	0,180	2,05 ± 0,22	2,00 ± 0,32	0,564
	p^{α}	**0,030***	**0,016***		**0,001***	**0,010***	
GKİ (%)	2. hf	0,35 ± 0,49	0,45 ± 0,51	0,157	0,30 ± 0,47	0,15 ± 0,37	0,180
	4. hf	0,35 ± 0,49	0,50 ± 0,51	0,083	0,25 ± 0,44	0,15 ± 0,37	0,317
	3. ay	0,15 ± 0,37	0,20 ± 0,41	0,564	0,10 ± 0,31	0,05 ± 0,22	0,317
	p^{α}	0,102	0,063		0,156	0,368	
RFA (ISQ)	z1	74,90 ± 5,23	75,80 ± 3,48	0,685	77,65 ± 2,81	77,90 ± 2,95	0,550
	z2	75,60 ± 3,71	76,00 ± 2,22	0,788	76,70 ± 2,81	76,95 ± 2,08	0,834
	z3	79,80 ± 1,76	78,50 ± 2,30	**0,005***	78,40 ± 2,90	77,80 ± 2,26	0,261
	p^{α}	**0,001***	**0,005***		0,093	0,160	

Pİ; plak indeksi, Gİ; gingival indeks, CD; cep derinliği, GKİ; gingival kanama indeksi, RFA; rezonans frekans analizi, ISQ; implant stabilite değeri, hf; hafta, z1; intraoperatif, z2; 4. hafta, z3; 3. ay α; Friedman testi, β; Mann-Whitney U testi, istatistiksel anlamlılık; $p<0,05$, *; istatistiksel açıdan anlamlı.

Çizelge 4.7. Rezonans frekans değerlerinin zaman düzeyinde grup içi ve gruplar arası karşılaştırması

	CGF (ISQ)		**A-PRF (ISQ)**		
Rezonans frekansı ölçüm zamanı	**Test**		**Test**		p
	ort ± ss	min – maks	ort ± ss	min – maks	
z1	74,90 ± 5,23	63,00 – 82,00	77,65 ± 2,81	72,00 – 83,00	0,120
z2	75,60 ± 3,71	66,00 – 80,00	76,70 ± 2,81	71,00 – 81,00	0,484
z3	79,80 ± 1,76	77,00 – 84,00	78,40 ± 2,91	73,00 – 84,00	0,094
p	**0,001†**		0,093		
Rezonans frekansı ölçüm zamanı	**Kontrol**		**Kontrol**		p
	ort ± ss	min – maks	ort ± ss	min – maks	
z1	75,80 ± 3,48	66,00 – 81,00	77,90 ± 2,95	68,00 – 81,00	**0,011***
z2	76,00 ± 2,22	72,00 – 79,00	76,95 ± 2,08	73,00 – 82,00	0,331
z3	78,50 ± 2,30	73,00 – 81,00	77,80 ± 2,26	74,00 – 84,00	0,093
p	**0,005***		0,160		

ISQ; implant stabilite değeri, z1; intraoperatif, z2; 4. hafta, z3; 3. ay, ort ± ss; ortalama ± standart sapma, min-maks; minimum-maksimum, istatistiksel anlamlılık; p<0,05, *; istatistiksel açıdan anlamlı, †; istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı (p<0,001).

İmplantların yerleştirilmesi sırasında ve sonrasında stabiliteyi değerlendirmek üzere gerçekleştirilen rezonans frekans analizine yönelik ortalama değerler ile minimum ve maksimum rezonans frekans değerleri Çizelge 4.7'de gösterilmektedir. CGF-test grubundaki implantların yerleştirme esnasındaki rezonans frekans değeri ortalama 74,90 ± 5,23 iken, A-PRF-test grubunda ise bu değer 77,65 ± 2,81 idi. Üçüncü aydaki rezonans frekans değeri CGF-test grubunda 79,80 ± 1,76'ya, A-PRF-test grubunda 78,40 ± 2,91'e yükseldi. CGF ve A-PRF uygulanan implantların üç zaman dilimindeki rezonans frekans değerlerinin istatistiksel açıdan farklı olmadığı gözlendi (p>0,05). CGF-test grubundaki rezonans frekans değerinde zamana bağlı meydana gelen artış, A-PRF test grubundaki artışa kıyasla istatistiksel açıdan anlamlıydı (p=0,001). Benzer bir tablo, CGF ve A-PRF kontrol gruplarında da gözlendi. CGF-kontrol grubunda başlangıç rezonans frekansı 75,80 ± 3,48'den 3. ay sonunda 78,50 ± 2,30 ISQ değerine yükselerek zamanla önemli bir artış kaydetti (p=0,005). İmplant yerleştirme sırasında A-PRF kontrol grubundaki implantların

CGF-kontrol grubundakilere kıyasla daha yüksek rezonans frekans değeri ile yerleştirildiği gözlendi (p=0,011).

Çizelge 4.8. Rezonans frekans analizi ile üç farklı zamanda elde edilen stabilite değerlerinin karşılaştırmasına ilişkin istatistiksel p değerleri çizelgesi

	CGF		A-PRF	
Zamanlar farkı	Test	Kontrol	Test	Kontrol
z2-z1	0,252	0,565	0,036	0,031
z3-z1	**0,001***	**0,004***	0,211	0,607
z3-z2	**0,001***	**0,001***	0,046	0,130

z1; intraoperatif, z2; 4. hafta, z3; 3. ay, Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon Signed Ranks test, istatistiksel anlamlılık düzeyi; p<0,016, *; istatistiksel olarak anlamlı.

Çizelge 4.8'de gösterilen rezonans frekans analizi ile elde edilen implant stabilite değerlerinin zaman düzeyindeki karşılaştırmasına göre A-PRF-test ve kontrol gruplarında meydana gelen artış istatistiksel açıdan anlamlı değildi (p>0,05). CGF çalışma grubu için, hem test hem de kontrol gruplarında postoperatif 3. ayda elde edilen rezonans frekans değerlerinin, intraoperatif ve postoperatif 4. hafta ölçümlerine göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi (p<0,016).

Çizelge 4.9. Marjinal kemik seviyesinin gruplar düzeyinde karşılaştırılması

	CGF		A-PRF		
MKK (mm)	Test	Kontrol	Test	Kontrol	p
Ort ± ss	0,12 ± 0,04	0,17 ± 0,06	0,19 ± 0,08	0,23 ± 0,09	0,998
Min-maks	0 – 0,65	0 – 0,90	0 - 1,21	0 – 1,56	
Ortanca	0	0	0	0	

MKK; marjinal kemik kaybı, mm; milimetre, Ort ± ss; ortalama ± standart sapma, min-maks; minimum-maksimum, istatistiksel anlamlılık düzeyi; p<0,05.

CGF ve A-PRF çalışma gruplarına ilişkin marjinal kemik kaybı düzeyleri Çizelge 9'da gösterilmektedir. CGF-test grubunda kemik kayıp düzeyi 0,12 ± 0,04 mm iken, kontrol

grubunda bu oran 0,17 ± 0,06 mm şeklinde gerçekleşti. A-PRF-test grubunda ise marjinal kemik kaybı düzeyi 0,19 ± 0,08 mm, kontrol grubunda ise 0,23 ± 0,09 mm olarak ölçüldü. Çizelgede marjinal kemik kaybına ilişkin minimum ve maksimum değerlerin yanı sıra ortanca değerleri de verilmektedir. Buna göre, 4 gruptaki implantların 3. aydaki marjinal kemik kaybı düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0,998$).

Çizelge 4.10'da, CGF uygulanan tarafta 2. ve 4. haftada peri-implant oluk sıvısındaki ortalama TNF-α ve RANKL düzeylerinin uygulanmayan tarafa göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanırken ($p<0,05$), 3. ay seviyeleri yönüyle istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). CGF-test grubundaki OPG'nin 4. hafta düzeyi kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,033$). Ancak diğer zamanlarda OPG düzeyleri açsından istatistiksel açıdan fark yoktu ($p>0,05$). RANKL/OPG oranı yönüyle, tüm zamanlarda CGF test ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$).

A-PRF ile kombine edilen implantlara ilişkin TNF-α'nın 2. hafta, RANKL'nın 4. hafta ve RANKL/OPG oranının 2. ve 4. hafta düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlendi ($p<0,05$). Biyokimyasal belirteçlerin PİOS düzeylerinde zaman içerisinde meydana gelen değişimin gruplararası karşılaştırmasına ilişkin veriler Çizelge 4.10'da gösterilmektedir.

Çizelge 4.10. CGF ve A-PRF çalışma gruplarına ilişkin biyokimyasal belirteçlerin gruplar arası karşılaştırmasının zaman düzeyinde değerlendirilmesi

		CGF			A-PRF		
Biyobelirteç (pg/mL)	Zaman	Test	Kontrol	p	Test	Kontrol	p
TNF-α	2. hf	1,69 ± 1,80	0,46 ± 0,24	**0,001**†	1,69 ± 2,09	0,37 ± 0,18	**0,002**†
	4. hf	0,96 ± 0,94	0,39 ± 0,26	**0,011**†	0,49 ± 0,37	0,49 ± 0,33	0,984
	3. ay	0,64 ± 0,71	0,42 ± 0,24	0,334	0,45 ± 0,38	0,32 ± 0,15	0,057
RANKL	2. hf	4,56 ± 4,26	2,03 ± 1,66	**0,001***	3,06 ± 2,38	1,93 ± 1,20	0,067
	4. hf	6,13 ± 6,89	2,65 ± 1,74	**0,006**†	4,97 ± 4,31	2,60 ± 1,51	**0,015**†
	3. ay	2,17 ± 2,64	1,37 ± 0,87	0,455	2,49 ± 2,30	1,75 ± 1,26	0,073
OPG	2. hf	5,62 ± 6,01	3,57 ± 2,86	0,053	2,18 ± 1,46	2,40 ± 1,27	0,546
	4. hf	7,67 ± 6,48	4,62 ± 4,53	**0,033**†	3,84 ± 2,27	3,79 ± 1,94	0,823
	3. ay	6,80 ± 4,76	4,51 ± 3,83	0,126	3,70 ± 3,07	5,02 ± 9,68	0,765
RANKL/OPG	2. hf	1,38 ± 1,46	0,66 ± 0,62	0,060	1,65 ± 0,96	0,81 ± 0,23	**0,001***
	4. hf	0,97 ± 0,94	0,68 ± 0,44	0,580	1,59 ± 1,35	0,77 ± 0,38	**0,011**†
	3. ay	0,42 ± 0,49	0,44 ± 0,33	0,501	0,88 ± 0,75	0,66 ± 0,49	0,071

TNF-α; tümör nekroze edici faktör alfa, RANKL; reseptör aktive edici nükleer faktör kappa B ligandı, OPG; osteoprotegerin, RANKL/OPG; RANKL-OPG oranı, hf; hafta, pg/mL; pikogram/mililitre, †; istatistiksel olarak anlamlı, *; istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı.

Peri-implant oluk sıvısındaki biyokimyasal belirteçlerin CGF ve A-PRF çalışma gruplarındaki düzeylerinin zamana göre karşılaştırması Çizelge 4.11'de gösterilmektedir. **CGF ve A-PRF test grupları için;** 2. haftadaki ortalama TNF-α düzeyleri sırasıyla 1,69 ± 1,80 ve 1,69 ± 2,09 pg/mL'den, 3. ayda 0,64 ± 0,71 ve 0,45 ± 0,38 pg/mL seviyesine düştü. Zaman içerisinde benzer bir azalma eğilimi RANKL/OPG oranında gözlendi. TNF-α ve RANKL/OPG oranında meydana gelen azalma, hem CGF hem de A-PRF test grupları için istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Peri-implant oluk sıvısındaki TNF-α seviyelerinin zaman düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptandı ($p>0,05$). RANKL'ın 2. hafta, 4. hafta ve 3. ay düzeyleri incelendiğinde, CGF grubu için sırasıyla 4,56 ± 4,26 pg/mL, 6,13 ± 6,89 pg/mL ve 2,17 ± 2,64 pg/mL, A-PRF grubu için ise 3,06 ± 2,38 pg/mL, 4,97 ± 4,31 pg/mL ve 2,49 ± 2,30 pg/mL olduğu gözlendi. Gruplararası karşılaştırmada PİOS-

RANKL düzeyi tüm zamanlarda istatistiksel açıdan benzerdi (p>0,05). Zaman içerisinde meydana gelen değişim ise her iki grupta da istatistiksel açıdan anlamlıydı (p<0,05). OPG'nin 2. hafta ve 3. ay düzeylerinin A-PRF-test grubu ile kıyaslandığında CGF-test grubunda daha yüksek olduğu gözlendi (p<0,05). OPG düzeyinde zaman içerisinde meydana gelen değişimin seyri CGF ve A-PRF test gruplarında benzer olmasına karşın, A-PRF grubundaki 4. hafta ve 3. ay seviyeleri, 2. haftaya kıyasla daha yüksekti (p<0,05). İkinci hafta RANKL/OPG oranının test grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı gözlendi (p=0,123). A-PRF test grubundaki OPG ve RANKL/OPG oranlarında zaman içerisinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim meydana geldi (p<0,05). **CGF ve A-PRF kontrol gruplarındaki** biyokimyasal belirteçlerin PİOS düzeyleri değerlendirildiğinde, RANKL/OPG oranının CGF-kontrol grubu lehine daha düşük olduğu gözlendi (p=0,021). Zaman içerisinde meydana gelen değişimin ise CGF-kontrol grubunda istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanırken (p>0,05), A-PRF-kontrol grubundaki RANKL düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı bir düşüş kaydedildi (p=0,026).

Çizelge 4.11. CGF ve A-PRF çalışma gruplarına ilişkin biyokimyasal belirteçlerin grup içi ve gruplar arası karşılaştırmasının zaman düzeyinde değerlendirilmesi

Biyobelirteç (pg/mL)	Zaman	CGF	A-PRF		Kontrol (CGF)	Kontrol (A-PRF)	
		ort ± ss	**ort ± ss**	**p**	**ort ± ss**	**ort ± ss**	**p**
TNF-α	2. hf	1,69 ± 1,80	1,69 ± 2,09	0,665	0,46 ± 0,24	0,37 ± 0,18	0,317
	4. hf	0,96 ± 0,93	0,49 ± 0,37	0,172	0,39 ± 0,26	0,49 ± 0,33	0,267
	3. ay	0,64 ± 0,71	0,45 ± 0,38	0,968	0,42 ± 0,24	0,32 ± 0,15	0,137
	p	**0,001†**	**0,016***		0,675	0,058	
RANKL	2. hf	4,56 ± 4,26	3,06 ± 2,38	0,425	2,03 ± 1,66	1,93 ± 1,20	0,636
	4. hf	6,13 ± 6,89	4,97 ± 4,31	0,968	2,65 ± 1,74	2,60 ± 1,51	0,914
	3. ay	2,17 ± 2,64	2,49 ± 2,30	0,208	1,37 ± 0,87	1,75 ± 1,26	0,534
	p	**0,024***	**0,004***		0,086	**0,026***	
OPG	2. hf	5,62 ± 6,01	2,18 ± 1,47	**0,030***	3,57 ± 2,86	2,40 ± 1,27	0,317
	4. hf	7,67 ± 6,49	3,84 ± 2,28	0,071	4,62 ± 4,53	3,79 ± 1,94	0,871
	3. ay	6,80 ± 4,76	3,71 ± 3,08	**0,031***	4,51 ± 3,83	5,02 ± 9,68	0,409
	p	0,165	**0,026***		0,819	0,212	
RANKL/OPG	2. hf	1,38 ± 1,46	1,65 ± 0,96	0,123	0,66 ± 0,62	0,81 ± 0,23	**0,021***
	4. hf	0,97 ± 0,94	1,59 ± 1,35	**0,045***	0,68 ± 0,44	0,77 ± 0,38	0,516
	3. ay	0,42 ± 0,49	0,88 ± 0,75	**0,010***	0,44 ± 0,33	0,66 ± 0,49	0,204
	p	**0,001†**	**0,001†**		0,308	0,331	

TNF-α; tümör nekroze edici faktör alfa, RANKL; reseptör aktive edici nükleer faktör kappa B ligandı, OPG; osteoprotegerin, RANKL/OPG; RANKL-OPG oranı, hf; hafta, Student t test ve Mann Whitney U testi, istatistiksel anlamlılık; p<0,05, *; istatistiksel olarak anlamlı, †; istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı.

CGF ve A-PRF test gruplarındaki biyokimyasal belirteçlerin 2. hafta, 4. hafta ve 3. aydaki düzeylerinin karşılaştırılmasına ilişkin istatistiksel p değerleri Çizelge 4.12'de gösterilmektedir. **CGF-test grubu için;** TNF-α seviyesinde 4. hafta ve 3. ayda meydana gelen azalmanın 2. haftaya göre önemli olduğu gözlendi (p<0,05). RANKL düzeyinde 4. haftada meyana gelen artış 2. hafta ölçümüne kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı bulunmazken (p=0,351), 3. aydaki düşüş 2. ve 4. haftaya kıyasla istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,05). RANKL/OPG oranı için 3. ay ile 2. hafta ve 3. ay ile 4. hafta arasında önemli farklar bulundu (p<0,05). **A-PRF-test grubu için**; TNF-α seviyesinde 4. hafta ve 3.

ayda meydana gelen azalmanın 2. haftaya göre önemli olduğu gözlenirken (p<0,05), RANKL için 3. aydaki azalma 4. haftaya kıyasla anlamlıydı. OPG düzeylerinde ise 4. haftada önemli bir artış kaydedildi (p=0,009). RANKL/OPG oranı değerlendirildiğinde, 3. ay düzeyinde 2 ve 4. haftaya kıyasla önemli oranda düşüş saptandı (p<0,05).

Çizelge 4.12. CGF ve A-PRF çalışma gruplarına ilişkin biyokimyasal belirteç düzeylerinin zaman içerisindeki değişimlerinin karşılaştırılması

Gruplar	Zaman farkı	TNF-α	RANKL	OPG	RANKL/OPG
CGF	z2 – z1	**0,011**†	0,351	0,126	0,048
	z3 – z1	**0,008**†	**0,004**†	0,313	**0,006**†
	z3 – z2	0,079	**0,014**†	0,433	**0,005**†
A-PRF	z2 – z1	**0,010**†	0,117	**0,009**†	0,520
	z3 – z1	**0,009**†	0,478	0,037	**0,004**†
	z3 – z2	0,271	**0,001**†	0,279	**0,001**†

TNF-α; tümör nekroze edici faktör alfa, RANKL; reseptör aktive edici nükleer faktör kappa B ligandı, OPG; osteoprotegerin, RANKL/OPG; RANKL-OPG oranı, z1; intraoperatif, z2; postoperatif 4. hafta, z3; postoperatif 3. ay, Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon, †; istatistiksel açıdan anlamlı, *; istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı, istatistiksel anlamlılık; p<0,016.

Test gruplarının klinik, radyolojik ve biyokimyasal parametrelerinin 2. hafta düzeyinde korelasyonlarına ilişkin katsayı tablosuna göre **CGF grubunda**; plak indeksi ile gingival indeks arasında pozitif korelasyon (p<0,001), cep derinliği ile OPG arasında pozitif korelasyon (p=0,030), cep derinliği ile RANKL/OPG oranı arasında negatif korelasyon (p=0,021), TNF-α ile OPG arasında pozitif korelasyon (p=0,013), RANKL/OPG ile RANKL arasında pozitif (p=0,002), RANKLOPG ile OPG arasında negatif korelasyon (p=0,003) olduğu gözlendi. **A-PRF grubunda ise;** gingival indeks ile cep derinliği arasında pozitif korelasyon (p<0,001), cep derinliği ile rezonans frekans değeri arasında negatif korelasyon (p=0,04), TNF-α ile RANKL ve OPG arasında pozitif korelasyon (p<0,001), RANKL ile OPG ve RANKL/OPG oranı arasında pozitif korelasyon (p=0,013 ve p=0,016) olduğu gözlendi (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. CGF ve A-PRF test gruplarındaki klinik, radyografik ve biyokimyasal parametrelerin 2. hafta seviyelerinin korelasyonu

Gruplar	Parametreler	Pİ	Gİ	CD	GKİ	MKK	RFA	TNF-α	RANKL	OPG	RANKL/ OPG
CGF	Pİ	1,000	**0,832***	0,278	-0,194	0,243	0,000	0,168	-0,155	0,171	-0,191
	Gİ	**0,832***	1,000	0,231	-0,079	0,262	-0,157	0,022	-0,020	0,083	0,047
	CD	0,278	0,231	1,000	0,163	0,181	0,209	0,261	-0,202	**0,485†**	**-0,510†**
	GKİ	-0,194	-0,079	0,163	1,000	0,010	-0,287	-0,418	-0,191	-0,300	0,136
	MKK	0,243	0,262	0,181	0,010	1,000	0,279	-0,079	-0,245	-0,169	-0,084
	RFA	0,000	-0,157	0,209	-0,287	0,279	1,000	0,347	0,118	-0,171	0,121
	TNF-α	0,168	0,022	0,261	-0,418	-0,078	0,347	1,000	0,415	**0,544†**	-0,112
	RANKL	-0,155	-0,020	-0,202	-0,191	-0,245	0,118	0,415	1,000	0,127	**0,652†**
	OPG	0,171	0,083	**0,485†**	-0,300	-0,169	-0,171	**0,544†**	0,127	1,000	**-0,627†**
	RANKL/OPG	-0,191	0,047	**-0,510†**	0,136	-0,084	0,121	-0,112	**0,652†**	**0,627†**	1,000
A-PRF	Pİ	1,000	0,318	0,368	0,426	0,178	-0,309	-0,331	-0,093	-0,383	0,212
	Gİ	0,318	1,000	**0,814***	0,187	0,100	-0,292	-0,257	-0,124	0,014	-0,214
	CD	0,368	**0,814***	1,000	0,083	0,240	**-0,462†**	-0,141	0,004	0,127	-0,181
	GKI	0,426	0,187	0,083	1,000	0,199	0,136	-0,170	0,151	-0,246	0,416
	MKK	0,178	0,100	0,240	0,199	1,000	-0,306	-0,212	-0,018	-0,067	-0,026
	RFA	-0,309	-0,292	**-0,462†**	0,136	-0,306	1,000	0,079	0,162	-0,111	0,419
	TNF-α	-0,331	-0,257	-0,141	-0,170	-0,212	0,079	1,000	**0,737***	**0,714***	0,092
	RANKL	-0,093	-0,124	0,004	0,151	-0,018	0,162	**0,737***	1,000	**0,546†**	**0,532†**
	OPG	-0,383	0,014	0,127	-0,246	-0,067	-0,111	**0,714***	**0,546†**	1,000	-0,359
	RANKL/OPG	0,212	-0,214	-0,181	0,416	-0,026	0,419	0,092	**0,532†**	-0,359	1,000

Pİ; plak indeksi, Gİ; gingival indeks; CD; cep derinliği, GKİ; gingival kanama indeksi, MKK; marjinal kemik kaybı, RFA; rezonans frekans analizi, TNF-α; tümör nekroze edici faktör alfa, RANKL; reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligandı, OPG; osteoprotegerin, RANKL/OPG; oran, Spearman korelasyon analizi, *; istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı, †; istatistiksel açıdan anlamlı, istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$.

Test gruplarının klinik, radyolojik ve biyokimyasal parametrelerinin 4. hafta seviyelerindeki korelasyonlarına ilişkin katsayı tablosuna göre **CGF grubunda;** plak indeksi ile gingival indeks arasında pozitif korelasyon (p=0,009), cep derinliği ile gingival kanama indeksi arasında pozitif korelasyon (p=0,008), TNF-α ile gingival kanama indeksi arasında negatif korelasyon (p=0,010), TNF-α ile RANKL ve RANKL/OPG oranı arasında pozitif korelasyon (p<0,001 ve p=0,015) olduğu saptandı. **A-PRF grubunda ise;** marjinal kemik kaybı düzeyi ile OPG arasında pozitif korelasyon (p=0,043), TNF-α ile RANKL ve OPG arasında pozitif korelasyon (p=0,002 ve p=0,017), RANKL ile RANKL/OPG arasında pozitif korelasyon (p=0,001) ve OPG ile RANKL/OPG oranı arasında negatif korelasyon (p=0,039) olduğu gözlendi (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. CGF ve A-PRF test gruplarındaki klinik, radyografik ve biyokimyasal parametrelerin 4. hafta seviyelerinin korelasyonu

Gruplar	Parametreler	Pİ	Gİ	CD	GKİ	MKK	TNF-α	RANKL	OPG	RANKL/ OPG
CGF	Pİ	1,000	**0,569***	0,000	0,383	0,127	-0,246	-0,332	-0,095	-0,237
	Gİ	**0,569***	1,000	0,315	-0,301	0,249	0,116	-0,155	-0,017	-0,199
	CD	0,000	0,315	1,000	**-0,571***	-0,119	0,380	0,206	-0,047	0,222
	GKİ	0,383	-0,301	**0,571***	1,000	0,010	**0,564***	-0,300	-0,027	-0,227
	MKK	0,127	0,249	-0,119	0,010	1,000	0,078	-0,051	0,028	-0,083
	TNF-α	-0,246	0,116	0,380	**-0,564***	0,078	1,000	**0,762***	0,436	**0,535**†
	RANKL	-0,332	-0,155	0,206	-0,300	-0,051	**0,762***	1,000	**0,540**†	**0,711***
	OPG	-0,095	-0,017	-0,047	-0,027	0,028	0,436	**0,540***	1,000	-0,116
	RANKL/OPG	-0,237	-0,199	0,222	-0,227	-0,083	**0,535**†	**0,711***	-0,116	1,000
A-PRF	Pİ	1,000	0,349	0,356	0,143	0,200	0,190	-0,075	0,270	-0,209
	Gİ	0,349	1,000	0,192	0,192	0,201	0,091	0,092	-0,073	0,138
	CD	0,356	0,192	1,000	0,200	0,197	0,070	-0,030	0,270	-0,170
	GKİ	0,143	0,192	0,200	1,000	0,276	-0,090	0,010	0,230	-0,150
	MKK	0,200	0,201	0,197	0,276	1,000	0,176	0,269	**0,457**†	-0,158
	TNF-α	0,190	0,091	0,070	-0,090	0,176	1,000	**0,661***	**0,526**†	0,272
	RANKL	-0,075	0,092	-0,030	0,010	0,269	**0,661***	1,000	0,271	**0,696***
	OPG	0,270	-0,073	0,270	0,230	**0,457**†	**0,526**†	0,271	1,000	**-0,465**†
	RANKL/OPG	-0,209	0,138	-0,170	-0,150	-0,158	0,272	**0,696***	**-0,465**†	1,000

Pİ; plak indeksi, Gİ; gingival indeks; CD; cep derinliği, GKİ; gingival kanama indeksi, MKK; marjinal kemik kaybı, TNF-α; tümör nekroze edici faktör alfa, RANKL; reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligandı, OPG; osteoprotegerin, RANKL/OPG; oran, Spearman korelasyon analizi, *; istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı, †; istatistiksel açıdan anlamlı, istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$.

Test gruplarının klinik, radyolojik ve biyokimyasal parametrelerinin 3. ay seviyelerinin korelasyonlarına ilişkin katsayı tablosuna göre **CGF grubunda**; plak indeksi ile rezonans frekans değeri arasında pozitif korelasyon (p=0,028), marjinal kemik kaybı düzeyi ile RANKL ve OPG arasında negatif korelasyon (p=0,024 ve p=0,011), TNF-α ile RANKL ve OPG arasında pozitif korelasyon (p=0,006 ve p=0,003) ve RANKL ile RANKL/OPG arasında pozitif korelasyon gözlenirken (p<0,001), **A-PRF grubunda ise;** plak indeksi ile gingival indeks arasında pozitif korelasyon (p=0,029), plak indeksi ile OPG arasında negatif korelasyon (p=0,002), gingival indeks ile rezonans ferkans değeri arasında negatif korelasyon (p=0,007), TNF-α ile RANKL ve OPG arasında pozitif korelasyon (p=0,040 ve p<0,001), RANKL ve RANKL/OPG oranı arasında pozitif korelasyon (p=0,012), OPG ve RANKL/OPG oranı arasında negatif korelasyon (p=0,036) gözlendi.(Çizelge 4.15)

Çizelge 4.15. CGF ve A-PRF test gruplarındaki klinik, radyografik ve biyokimyasal parametrelerin 3. ay seviyelerinin korelasyonu

Gruplar	Parametreler	Pİ	Gİ	CD	GKİ	MKK	RFA	TNF-α	RANKL	OPG	RANKL/ OPG
CGF	Pİ	1,000	0,413	0,316	-0,081	0,056	**-0,491†**	-0,436	0,035	-0,426	0,295
	Gİ	0,413	1,000	0,229	0,028	0,203	-0,040	-0,425	-0,426	-0,290	-0,017
	CD	0,316	0,229	1,000	-0,084	-0,288	-0,300	-0,052	0,062	-0,297	0,152
	GKİ	-0,081	0,028	-0,084	1,000	-0,130	-0,063	-0,207	-0,194	0,134	-0,109
	MKK	0,056	0,203	-0,288	-0,130	1,000	0,330	-0,329	**-0,502†**	**-0,553†**	-0,195
	RFA	**0,491†**	-0,040	-0,300	-0,063	0,330	1,000	0,158	-0,208	0,148	-0,208
	TNF-α	-0,436	-0,425	-0,052	-0,207	-0,329	0,158	1,000	**0,589***	**0,630***	0,253
	RANKL	0,035	-0,426	0,062	-0,194	**-0,502†**	-0,208	**0,589***	1,000	0,340	**0,805***
	OPG	-0,426	-0,290	-0,297	0,134	**-0,553†**	0,148	**0,630***	0,340	1,000	-0,195
	RANKL/OPG	0,295	-0,194	0,152	-0,109	-0,195	-0,208	0,253	**0,805***	-0,195	1,000
A-PRF	Pİ	1,000	**0,487†**	0,099	-0,198	0,059	-0,336	-0,424	-0,361	**-0,656***	0,204
	Gİ	**0,487†**	1,000	0,313	-0,245	0,299	**-0,586***	0,146	0,173	-0,082	0,173
	CD	0,099	0,313	1,000	-0,076	0,340	-0,381	0,100	-0,179	0,020	-0,259
	GKİ	-0,198	-0,245	-0,076	1,000	-0,190	0,146	0,029	-0,087	0,173	-0,347
	MKK	0,059	0,299	0,340	-0,190	1,000	-0,433	0,030	0,012	0,014	-0,075
	RFA	-0,336	**0,586***	-0,381	0,146	-0,433	1,000	0,316	0,000	0,297	-0,110
	TNF-α	-0,424	0,146	0,100	0,029	0,030	0,316	1,000	**0,463†**	**0,735***	-0,287
	RANKL	-0,361	0,173	-0,179	-0,087	0,012	0,000	**0,463†**	1,000	0,352	**0,550†**
	OPG	**0,656***	-0,082	0,020	0,173	0,014	0,297	**0,735***	0,352	1,000	**-0,471†**
	RANKL/OPG	0,204	0,173	-0,259	-0,347	-0,075	-0,110	-0,287	**0,550†**	**-0,471†**	1,000

Pİ; plak indeksi, Gİ; gingival indeks; CD; cep derinliği, GKİ; gingival kanama indeksi, MKK; marjinal kemik kaybı, RFA; rezonans frekans analizi, TNF-α; tümör nekroze edici faktör alfa, RANKL; reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligandı, OPG; osteoprotegerin, RANKL/OPG; oran, Spearman korelasyon analizi, *; istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı, †; istatistiksel açıdan anlamlı, istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$.

5. TARTIŞMA

Bölünmüş ağız dizaynı ile gerçekleştirilen çalışmalar, literatürde ilk defa Ramfjord ve arkadaşları tarafından uygulanmıştır.[136] Bu çalışmada kullandığımız ve çalışmanın iskelet yapısını oluşturan bölünmüş ağız tasarımının 1968'den bu yana kullanılmasının çeşitli nedenleri vardır. Bu tasarım ile, bireysel değişkenlerin kontrol altına alınması ve çalışma gruplarına olası etkileri bertaraf edilmekte ve daha az verisel kirliliğe ve analiz kapsamında daha az bilgi çatışmasına imkan tanınmaktadır.[137] Konak ile ilişkili faktörler; oral hijyen alışkanlığı, hastanın genel sistemik durumu, yaş, cinsiyet vs. gibi faktörlerin özellikle rejeneratif potansiyelin araştırıldığı çalışmalarda uygulanan materyalin etkisini önemli ölçüde etkilemekte, bu nedenle standardizasyon ile ilgili çeşitli sorunlar yaşanmaktadır. Çalışma objektifliği açısından özellikle test ve kontrol gruplarının olduğu uygulamalarda bu yöntemin belirlenmesinin yegâne sebebi de bu standardizasyonun sağlanabilmesidir.[137]

Bölünmüş ağız tasarımlı çalışmalarda "Carry-Across Effect" (Taşınma etkisi), en büyük dezavantajlardan birisidir.[138] Taşınma etkisi, test grubunda uygulanan herhangi bir ajan, sistemik dolaşıma katılıp kontrol ya da plasebo alanını etkileyebilmekte ve bu durum, çalışma istatistiğini, eğer iyi bir planlama yapılmazsa bozabilmektedir. Bir diğer yandan, hastalığa sahip alanda uygulanan tedavi protokolü ya da tedavi edici ajanın, ağızda bulunan simetrik diğer bölgede aynı derecede hastalığa ya da dejenerasyona sahip olmadığından dolayı tutarlı bir tedavi yanıtı mümkün olmayabilir. Palm ve arkadaşlarının[139] yaptığı infiltrasyon anestezi çalışması ve Haukali ve Poulsen'in[140] yaptığı cila çalışmalarında, bölünmüş ağız tasarımı benimsenmiş ve yukarıda belirtilen problemlere değinilmiştir. Bir bölgeye uygulanan infiltratif anestezi, sistemik dolaşıma katılabilmekte ve çenenin diğer kısmındaki anestezi uygulanacak bölgeyi etkilemekte, hastalardan alınan "VAS" (Görsel Analog Ölçeği, Visual Analog Scale) puanlamasını değiştirebilmektedir. İlk uygulama ve ikinci uygulama arasında görsel analiz indeksinde anlamlı sapmalar taşınma etkisine bağlanmaktadır. Öte yandan, Haukali ve Poulsen'in klorheksidin ve timol ile yaptıkları yüzey cila çalışmasında, ajan uygulanan bölgelerde aynı seviyede çürük olmadığını ve bölgelerin simetrik derecede probleme maruz kalmamalarının, yapılan tedavi sonrasındaki değerlendirmenin ne kadar doğru ve tutarlı ölçülebileceğini göstermişlerdir.[140] Bu veriler

taşınma etkisinin, genellikle sistemik dolaşımda aktif olarak bulunmayan, vücudun kendisinin üretmediği ve dışarıdan alınan ajanlarla yapılan çalışmalarda gözlenebileceği kaçınılmazdır. Bizim çalışmamızda kan dolaşımında trombosit türevlerinin daha yoğunlaştırılmış bir formu olan otolog trombosit türevlerini kullandık.

Dünya'da her geçen yıl yaşam süresi uzamakta ve nüfus artmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, günümüzde dünya nüfusunun % 11'inin 60 yaş ve üzerinde olduğunu göstermiştir.[141] İşviçre'de yapılan bir çalışmada bu oranın 2050'de %22 olacağı öngörülmektedir.[142] Japonya'da ise 60 yaş üstü nüfusun topluma nazaran % 32 oranında olacağı düşünülmektedir.[143] Yaşlanma veya yaşlılık en basit tabirle fiziksel bütünlüğün ve entegrasyonun zaman içerisinde kaybı olarak tanımlanabilir.[144] Ayrıca yaşlanmanın ağız sağlığı üzerindeki etkisi Uluslararası Diş Hekimliği Birliği (Federation Dentaire Internationale- FDI), Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation- WHO), Amerikan Diş Hekimleri Birliği (American Dental Association- ADA) ve Japon Diş Hekimleri Birliği (Japanese Dental Association-JDA) gibi önde gelen uluslararası kuruluşların odaklandığı konulardandır. WHO, 80 yaş ve üzeri popülasyonda en az 20 dişe sahip bireylerin sayısının artırılmasını hedeflemiştir.[145] Anlaşılacağı üzere, yaşlanma ile birlikte diş kayıpları da oldukça sık gözlenmektedir.[145] Bu çalışmadaki popülasyonun CGF grubunda yaş ortalaması 53,95 ± 15,90 iken, A-PRF grubundaki ise yaş ortalaması 54,25 ± 14,13 olduğu gözlendi. Çalışmamıza dâhil edilen bireylerin yaşlı popülasyondan oluşması, yaşlanma ile birlikte diş kayıplarının artması ve çalışmamızın ana kriterlerinden biri olan simetrik diş kayıplarının gözlenme sıklığının bu yaş grubundaki bireylerde artış göstermesi sebebiyledir.[7]

İnsan türü, doğası gereği birbirlerine göre birçok anatomik varyasyon göstermektedir. Dişsiz maksilla ve mandibulada kemik yapısı, fonksiyonel kuvvetin olmadığı durumlarda rezorbe olmaya eğilimlidir. Bu duruma örnek olarak yerçekimsiz ortamda uzun süre geçiren insanların kemik kalsiyum yoğunluklarının azalması ve yatalak durumda olan hastaların, yatakta durağan ve aynı biçimde pozisyonlanmaları neticesinde vücutta oluşan doğaya aykırı suni jiroskopik bir etki oluşması ve bu etkinin kemik kitlesinde rezorpsiyona sebep olduğunu belirten çalışmalar verilebilir.[146-149] En nihayetinde kullanılmayan ve fonksiyon görmeyen kemik dokunun zamanla rezorpsiyonu, insan fizyolojisine uygun olan ve beklenen bir süreçtir. Wang ve arkadaşları, diş çekimini takiben alveolar krette hacimsel kaybı gözlemlemişlerdir.[150] Rezorpsiyon paterni de sistemik ve çevresel tüm varyatif parametreler ile değişkenlik gösterebilmektedir. Pietrokovski ve

arkadaşları, maksilla ve mandibuladaki rezidüel kemiğin bukkolingual kalınlığına yönelik yaptıkları çalışmada, maksiller premolar bölgede 4 mm, maksiller molar bölgede 5 mm, mandibular premolar bölgede 7 mm ve mandibular molar bölgede ise 9 mm kemik kalınlığı saptamışlardır.[151] Bu çalışmaya göre maksilla, diş eksikliklerinden sonra mevcut kemik kalınlığını daha fazla kaybetmektedir. Gehrke ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmalarında, maksilla ve mandibulanın kortikal ve spongioz kemik oranlarının farklı olduklarını belirtmişler ve ayrıca, mandibulada uygulanan implantların tüm bölgelerde maksillaya göre daha fazla osseointegre olduklarını göstermişlerdir.[152] Bu sonuç, aynı anda hem maksilla hem de mandibulaya implant uygulaması yapıldıktan sonra kretler arası implantlarda yerleşimi takiben, osseointegrasyon sürecinin çalışma kapsamında takibinin ve iyileşme süreçlerinin kıyaslanmasında yapılacak olan değerlendirmelerin sorgulanmasına neden olabilir. Urban ve arkadaşları, maksillada oluşan diş kayıplarından kısa bir süre sonra sinüs tabanında aşağı doğru sarkma ve bunun sonucunda sinüs augmentasyon prosedürlerinin gerekmekte olduğunu belirtmişlerdir.[153] Ek olarak ince kemik kalınlığı, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu işlemlerini uygulamayı gerekli kılmakta, implantın 3 boyutlu pozisyonunun optimal seviyede konumlandırılması için önem teşkil etmektedir. Tüm bu sebeplerden dolayı, maksillada çalışmamıza uygun bilateral simetrik kemik yapısına ve kalitesine sahip vakaları bulmanın mandibulaya göre daha zor olabileceğini görmekteyiz. Ayrıca yönlendirilmiş doku rejenerasyonu yapılmadan, ideal kemik kalınlığının var olduğu durumların yapılan çalışmalarda mandibulada daha fazla olduğu belirtilmiştir.[151] Bu anlamda çalışmanın standardizasyonunun artırılması açısından implantlar yalnızca mandibula bölgesine uygulanmıştır. Böylelikle çalışmanın yegâne amacı olan implant yerleşimi sonrasında CGF ve A-PRF likidlerinin implant yüzeyine ve implant soketine uygulanması sonrasında oluşacak yerçekimine bağlı kayıp riski elimine edilmiştir.

İmplant topografisinin farklılığı, osseointegrasyonu etkileyen faktörlerden birisidir.[41] SLA implant yüzeyleri, kumlanmış ve asitlenmiş titanyum yüzeyler olarak bilinmektedir. İri kum taneleri ile pürüzlendirilen titanyum yüzeylere temas yüzeyini ve osseointegrasyon potansiyelini artırmak için asit uygulanarak mikropürüzlendirme yapılır. SLA yüzeyli implantların plazma sprey yüzeylere kıyasla alkalen fosfataz seviyesini artırdığı ve kemik doku ile temas eden implant yüzey alanı arttığından[154] tork direncinin daha yüksek olduğu yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır.[39] Perrin ve arkadaşlarının yaptıkları histolojik çalışmalarda, kumlanmış yüzeyle muamele edilmiş ve asitlenmiş implant topografisinin

(SLA aktif yüzey), geleneksel yöntemlere göre implant etrafında daha sıkı bir kemik örgüsü oluşturduğu belirtilmiştir.[26] Bir diğer yandan, implantın çevresindeki marjinal kemik kaybını minimalize etmek amacı ile "platform-switching" implantlar tasarlanmıştır.[155] Platform-switching; implant boyun çapıdan daha dar bir dayanak kullanımına imkan tanıyan ve dayanak-implant bağlantısını kemikten uzak bir alana taşıyarak boşluğun kemik ve yumuşak doku ile dolmasını sağlayan bir tasarımdır. Böylelikle, mikrobiyal etkenlerin doğrudan kemik ile teması engellenir.[156-158] Aynı zamanda bu tasarım, daha dar bir çıkış profiline imkân tanımaktadır. Lazzara ve Porter, "platform-switching" konseptinin implant-dayanak arayüzünü kemikten implant merkezine kaydırarak peri-implant marjinal kemik kaybını minimalize ettiğini gözlemlemişlerdir.[159] Ayrıca marjinal kemik kaybı üzerinde "platform switching" implantların subkrestal yerleştirilmesinin büyük önemi olduğu vurgulanmaktadır. Klinik bir çalışmada subkrestal yerleştirilen standart platformlu implantlarda 0,81 ± 0,79 mm oranında vertikal marjinal kemik kaybı gözlenirken "platform switching" implantlardaki marjinal kemik kaybı 0,39 ± 0,52 mm düzeyinde idi.[160] İmplant tasarımının marjinal kemik stabilitesi için önemli olduğu literatürde çeşitli çalışmalarla desteklenmektedir. İmplant çevresindeki kemik kaybını minimalize etmek ve PİOS sitokin düzeyleri üzerindeki saptırıcı etkilerini azaltmak için SLA yüzey ve platform-switching özelliğine sahip implant (Nucleoss T6) tercih edildi.

İmplant tasarımının yanısıra erken dönemde gözlenen marjinal kemik kaybının etiyolojisinde sigara, mevcut periodontal hastalıklar ve kötü ağız hijyeni, flepli veya flepsiz cerrahi, implantın malpozisyonu, aşırı kemik ısınması, kortikal kemikte aşırı sıkışma, baskı ve yumuşak doku problemleri gibi faktörler yer almaktadır. Ayrıca dental implant çevresindeki yeterli krestal kemik genişliği, implant başarısı için başlıca kriterlerden birisi olarak değerlendirilmektedir.[161,162] İmplant yerleşimini takiben başta bukkal kemik olmak üzere implant çevresindeki kemikte remodelasyon ve boyutsal değişikliklerin meydana gelmesi kaçınılmazdır. Bukkal kemik kalınlığının 1,8 mm ve üzeri olduğu durumlarda erken dönemde implantın çevresindeki kemik yüksekliğinde herhangi bir kayıp yaşanmadığı, bu değerin altındaki bukkal kemik kalınlığında ise krestal kemik kaybının meydana geldiği bildirilmiştir.[163] Estetik bölgede gerçekleştirilen implantlarda protetik yüklemeyi takiben böyle bir remodelasyon sürecinin estetik sonuçları olumsuz etkilemesi mümkün olabilmektedir. Yapılan başka çalışmalarda biyolojik konseptlerden dolayı yumuşak ve sert dokunun varlığını sürdürebilmesi için ideal bukkal kemik kalınlığının en az 1 mm olması

gerektiği savunulmaktadır.[163] Testori ve Zucchelli'nin estetik bölgede yerleştirdikleri implant çalışmalarında, doğal diş çevresindeki periodontal ligamente ait arter ve ven sisteminin bozulması nedeniyle kemik dokunun, bütünlüğünü koruyup sürdürebilmesi için implantın bukkalinde en az 1 mm'lik kemik varlığına dikkat çekmişlerdir.[164] Benzer şekilde bukko-lingual implant pozisyonunun belirlenmesinde, bukkal ve lingual yönde 1 mm kemik kalınlığının uzun dönem stabilite için gerekli olduğu Spray ve arkadaşları tarafından savunulmuştur.[165] Bölgeye yerleştirildikten sonra mevcut osseointegrasyon süreci sonucunda tamamen stabil hale gelen implantın bölgeye yerleştirilmesi için önceden hesaplanması gereken bir diğer husus ise, implantın gingival marjinden 3 mm daha apikalde konumlanması gerekliliğidir.[164] Bu pozisyon ideal bir çıkış profili için gerekli olan konumdur. İmplant-diş arasındaki mesafe minimum 1.5 mm olmalı, eğer mümkünse interproksimal alandaki marjinal kemik kaybının engellenmesi ve papili destekleyen kemik dokunun rezorbe olmasının engellenmesi için mesafe 2 mm olacak şekilde uygulanmalıdır.[164] Çalışmamızda uyguladığımız implantlarda, güncel literatür bilgilerine ve modern implant uygulama kurallarına sadık kalarak, meziodistal yönde diş implant arası mesafe 1,5 mm, bukkolingual yönde hem bukkal, hem lingual kemik kalınlığı 1 mm, vaka seçiminde minimum 3 mm yumuşak doku kalınlığı göz önünde bulundurularak dental implantların subkrestal uygulanması sağlanmıştır. Yeterli yumuşak doku kalınlığına sahip olan vakalarda krestal implant uygulamaları neticesinde krestal kemik kaybının minimal olduğu gözlemlenmiştir.[166] Linkevicius ve arkadaşları, gingival fenotip kalınlaştıkça, marjinal kemik kaybının da minimalize olduğunu gösteren çalışmalar yapmışlardır.[167] Bu çalışmada CGF ve A-PRF gruplarında marjinal kemik seviyesinin yerleştirilen implantların en az yarısında (ortanca değer "0") değişmeden kaldığı, ortalama marjinal kemik kaybı düzeyinin CGF ve A-PRF test gruplarında sırasıyla 0,12 ± 0,04 mm ve 0,19 ± 0,08 mm, kontrol gruplarında ise 0,17 ± 0,06 mm ve 0,23 ± 0,09 mm olduğu gözlendi. Rejeneratif potansiyelleri göz önünde bulundurulduğunda her ne kadar gruplar arasında istatistiksel açıdan fark olmasa da, CGF ve A-PRF uygulamalarının marjinal kemik stabilitesi üzerinde olumlu etkileri olduğu değerlendirilebilir. Bu olumlu etki, implant üzerine örtülen CGF ve A-PRF membranın yumuşak doku kalınlığını artırması ile ilişkilendirilebilir.[167] Dişeti çekilmelerinin tedavisinde CGF[168] ve PRF türevlerinin[169,170] kullanımının gingival kalınlığı ortalama 0,32-1 mm oranında artırdığı yapılan çok sayıda çalışmada gösterilmiştir.

Mikrobiyal dental plak çok sayıdaki patojen mikroorganizma içeriği nedeni ile diş çevre dokularında enflamatuar reaksiyonlara neden olmaktadır.[135] Özellikle mikrobiyal dental plak ile başlayan gingivitis ve periodontitis vakalarında dişeti oluğu sıvısında TNF-α, RANKL, RANKL/OPG oranlarında artış gözlenirken, OPG oranlarında düşüş olduğu belirtilmektedir.[171,172] Sağlıklı durumda olmayan bölgeye yapılacak olan implant uygulamaları, beraberinde hızlı kemik yıkımlarını ve implantın kaybına neden olabilecek sonuçları da beraberinde getirebilmektedir.[173] Araujo ve Lindhe, yumuşak ve sert dokudaki anatomik ve histolojik değişkenlerin, konak mekanizmasının yanıtını etkilediğini belirtmişlerdir.[174] Dişetindeki enflamasyon derecesini etkileyen mikrobiyal dental plak varlığını ve akabinde meydana gelen gingival inflamatuar reaksiyonların ölçütlerini değerlendirdiğimiz bu çalışmada ortalama plak indeks değerleri açısından tüm gruplar arasında fark yoktu. A-PRF-test grubunun 4. haftadaki cep derinliği kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olsada, plak miktarından bağımsız olarak 2,25 ± 0,44 mm'lik ortalama cep derinliğinin klinik ve radyografik parametreler üzerinde herhangi bir etki oluşturması beklenmemektedir. Çünkü, peri-implant dokularda patolojinin olmadığı sağlıklı durumlarda cep derinliğinin 5 mm'den küçük olması ideal kabul edilmektedir.[175] Plak varlığı, gingival inflamasyon, cep derinliği ve gingival kanama yönüyle hem test hem kontrol grupları arasında fark olmadığından dolayı, CGF ve A-PRF ürünlerinin implantın osseointegrasyonuna etkilerini değerlendirmek için rezonans frekans analizi, marjinal kemik kaybı seviyesi ve biyokimyasal belirteçlerin PİOS düzeyleri diğer klinik parametrelerden bağımsız bir şekilde tartışılacaktır.

Titanyum yüzeylerin kemik ile entegrasyonunda, fibrin formasyonunun ve pıhtı içerisindeki çeşitli proteinlerin büyük önemi vardır. Yapılan hayvan çalışmalarında yara oluşumunu takiben ilk 4 saat içerisinde oluşan fibrin ağın inflamatuar ve doku tamirinde rol alan hücrelerin implant yüzeyine yapışmasını kolaylaştırdığı ve bu sayede osseointegrasyon sürecini hızlandırdığı belirtilmiştir.[58,176] 3-4 gün içerisinde oluşan anjiogenezis ve pıhtı stabilizasyonu, 14. günde mevcut kemik ve implant arasında immatür kemiğin meydana gelmesine öncülük eder.[59] Primer stabilite, implantasyondan sonraki ilk hafta içerisinde implantın uzun dönem stabilitesi için önemli olup, 3-4 haftalık süreçte en düşük seviyesine ulaşır. Sekonder stabilitenin meydana geldiği dönem olarak da bilinen osseointegrasyon süreci ise 3. haftadan itibaren başlayarak 8. haftada pik yapar.[177] Lang ve arkadaşları çalışmalarında implant stabilitesinin en erken 3. haftadan sonra ölçülmesi gerektiğini

belirtmişlerdir.[178] İmplant uygulamalarında primer stabilite kavramı, bir diğer incelenmesi gereken noktadır. "Yüksek Mekanik Stabilite" implant etrafındaki kemikte mikro-kırıklar üretebilmekte ve yüksek tork bu durumda rezorpsiyona sebep olabilmektedir.[179,180] "Düşük Mekanik Stabilite" ise osseointegrasyonun sağlanmasının önünde bulunan en büyük engellerden biri olma özelliğini taşımakta, ayrıca uygulama sonrasındaki alternatif seçenekleri minimalize etmektedir.[64,65] Bu anormal durumların oluşmasını engellemek için klinisyenler, titreşimlerin analiz edilebildiği ve sonuçların önceden öngörülebilme ihtimalini önceleyen araçlar geliştirmeye çalışmışlardır. Monje, Ravida ve arkadaşlarının yaptığı meta-regresyon analizlerinde,[66] rezonans frekans analizinin ölçülmesi ile elde edilen primer stabilite değerlerinin sekonder stabilite değerleri ile korelasyonu olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada, implantların ağızda kalma oranının primer stabilite değerleri ile karşılaştırılmasında, daha yüksek primer stabilite değerlerinin daha uzun dönem implant kalım süresi ile bağdaştırılabileceği sonucuna varılmıştır. Başlangıçta normal aralıklarda primer stabilite değeri elde edildiğinde marjinal kemik kayıplarınının da minimalize olduğu değerlendirilmiştir.[66] Rezonans frekans analizi ile primer stabilite değerleri, görüldüğü gibi erken ve uzun dönem başarıyı etkileyen başlıca parametrelerden birisidir. İmplant stabilitesinin ölçülmesinde rezonans frekans analizi sıklıkla kullanılmaktadır. Rezonans frekans analizi ile 0-100 aralığında bir implant stabilite değeri (ISQ) elde edilir.[181] Klinik olarak stabil implantlar için 40-80 arası değerlerin ideal olduğu kabul edilmektedir.[182] Bu çalışmada, CGF ve A-PRF gruplarında yerleştirilen implantların tamamı için iyi bir primer stabilite değeri elde edildi. İmplantların primer stabiliteleri, A-PRF-test grubu için 77,65 ± 2,81, A-PRF kontrol grubu için 77,90 ± 2,95, CGF-test grubu için 74,90 ± 5,23, CGF kontrol grubu için 75,80 ± 3,48 ISQ değerlerine sahipti. Mandibular implantların primer stabilite değerlerinin maksiller implantlara göre daha yüksek olduğu ifade edilmektedir.[183] Mandibular implantlarda daha yüksek ISQ değerleri, mandibulanın maksillaya göre daha yoğun kemiğe sahip olması ve daha az trabeküler yapı sergilemesine bağlanmaktadır.[184, 185] Bu sayede implant ve kemik temas oranı artarak primer stabilite değeri yukarı yönde etkilenmektedir. Yerleştirme torku açısında deney ve kontrol grupları arasında fark bulunmazken, zaman içerisinde CGF-test grubunda, A-PRF-test grubuna oranla daha iyi bir stabilite değeri elde edildi. Benzer şekilde, Pirpir ve arkadaşları CGF uygulamasının implant stabilitesini geliştirdiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada anterior bölgede dişsizliğe sahip hastalarda CGF membran implant kavitesi içerisine uygulanmış ve implant

yerleştirilmiştir.[88] Başka bir çalışmada fibrin matriksten sızan sıvı ile implant yüzeyleri ıslatılmış ve elde edilen membran implant kavitesine yerleştirilmiştir. Çalışmanın sonuçları bu tarz bir uygulamanın implant stabilitesine pozitif katkı sağlayacağını göstermiştir.[170] Bizim çalışmamızda ise implant kavitesine ve implant yüzeyine fibrin matriks sıvısı uygulanmış olup elde edilen membran implantın üzerine örtülmüştür. Bu şekilde bir uygulamanın nedeni CGF ve A-PRF membranlarının viskozite farkından dolayı implant kavitesine homojen bir şekilde yerleştirilmesindeki zorluktan kaynaklanmaktadır. Ayrıca matriksten sızan sıvının büyüme faktör içeriğinin membranlardan daha yüksek olduğu belirtilmektedir.[186] Büyüme faktörlerinin implant stabilitesi üzerindeki etkisi ve protetik yükleme için gerekli olan süreyi kısaltması ile ilgili çalışmalar[187] bulgularımızı desteklemekle birlikte, CGF kontrol grubunda da zaman içerisinde implant stabilitesinde artış olması çalışma gruplarındaki bireylerin kemik tipi ile ilişkilendirilebilir.[187] Kemik yoğunluğunun implant stabilitesi üzerinde etkili olduğu yapılan çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir.[188, 189] Bunun yanısıra uygulanan fibrin sıvının etkinliğini gösterebilmesi için implant yüzeyi ile ortalama 30 dakikalık bir temas süresine ihtiyaç olduğu ifade edilmiştir.[190]

Dental implantların osseointegrasyonu, bir dizi immün-enflamatuar olayların meydana geldiği kemik remodelasyon sürecidir.[191] Bu yanıt, IL-1, IL-6, TNF-α, PDGF, TGF-β ve MSC gibi çeşitli sitokinler ile yönetilen konak dokunun oluşturduğu fizyolojik bir reaksiyondur. İnflamasyon bölgesindeki, TNF-α, T hücresi ve osteoblastlardan RANKL'ın ekspresyonunu indükler[192] ve iyileşme sürecinin erken evresinde, osteoklastların nekrotik sahayı rezorbe etmesi için uyarıcı görevi görür.[193-195] Dişeti oluğu sıvısında yüksek TNF-α ve RANKL düzeyi ile birlikte düşük OPG düzeyi osteoklastik rezorpsiyonun göstergesidir. Ayrıca yüksek RANKL/OPG oranı da kemik hacminde kayıp ile ilişkilendirilmektedir.[96] Yoğun rezorptif dönemin ortalarına doğru bölgede bulunan TGF-β ve BMP cerrahi alanda kartilaj oluşum fazını uyarır ve osteojenik, kondrojenik fazın başlaması ile birlikte intramembranöz ve endokondral kemikleşme mekanizmasında öncül yolak oluşmaya başlar. Kartilaj oluşumunun başladığı safhada TNF-α ve RANKL salınımının yoğun olduğu safhadan hemen sonra kondrositlerden salınan OPG, pik yapar ve bu durum osteoklast formasyonunun negatif regülasyonuna sebep olur. Zamanla kalsifiye olan kıkırdak doku, yerini kemik örgüsüne bırakırken, OPG salınımı da zamanla düşer.[195,196] RANKL ve TNF-α, kemik hücrelerinin bölgeye göç etmesini ve kartilaj mineralizasyonunun başlamasına rezorpsiyon süreci ile birlikte öncülük eder.[197] 14 gün sonunda bu hücreler neo-anjiyogenezi

başlatmak için VEGF salınımını tetikleyerek iskelet kemik oluşumunu başlatır. Aynı zamanda, IL-1, IL-6, TNF-α salınımı da artarken, RANKL, osteoblastogenezisi suprese edip osteoklastogenezisi indüklemektedir.[198,199] Bu sürecin sonunda osteoklastlar iskelet çatısını da rezorbe etmekte ve yerini lamellar kortikal kemiğe bırakmaktadır.[200] Çalışmamızda kullandığımız ikinci nesil trombosit konsantrasyonlarından olan CGF, trombositten zengin fibrinde olduğu gibi aynı fibrin matriksi içeren bir jel matriksten konsantre edilmektedir.[132] Farklı santrifüj hızları sayesinde bol miktarda büyüme faktörü ve çok daha büyük ve yoğun bir fibrin matriks oluşmaktadır. CGF matriksinin sahip olduğu yüksek gerilme dayanımı ve viskozitesi, yapısındaki büyüme faktörlerini proteolizden iyi bir şekilde korumaktadır.[201] Böylelikle, CGF materyalinde hapsolan büyüme faktörlerinin, sağlam fibrin matriks içinden salınım süresi uzar. Dohan ve arkadaşları PRF içerisindeki büyüme faktörlerinin bir hafta boyunca salınabildiğini gösterdikleri bir çalışmalarını yayınlamışlardır.[85] Bununla birlikte Qin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, CGF materyalinin içerisindeki büyüme faktörlerinin en az 13 gün süre boyunca salındığını göstermişlerdir.[202] Chen ve arkadaşlarının 2016 yılında kısa implantların sinüs lift prosedürü ile uygulandığı çalışmada, CGF'in fibrin matriks dayanıklılığının yüksek olmasından dolayı perfore olan membranlarda kullanımı ve içerisindeki rejeneratif potansiyeli arttırıcı büyüme faktörleri ile birlikte sinüs membranının rejenerasyonunun tamamlandığını belirtmişlerdir.[87] CGF biyomateryalinin içerisindeki beyaz kan hücreleri ve trombositler, değişken santrifüj hızları ile birlikte parçalanabilmekte ve büyüme faktörleri direkt olarak yoğun fibrin matriks içerisinde açığa çıkabilmektedir.[201] Çalışmamızda TNF-α, RANKL ve OPG düzeylerinin CGF grubunda, A-PRF test ve diğer kontrol gruplarına nazaran daha yüksek olması, bu görüşleri destekler niteliktedir.

A-PRF ise PRF'e göre içerisinde daha fazla beyaz kan hücresi içeren A-PRF, düşük hızlı bir santrifüjle üretilmekte ve matriks formu orijinal PRF'ten daha yumuşaktır. Daha uzun süreli ve daha yavaş santrifüjün neticesinde trombosit ve lökositten daha zengin, bir son ürün elde edilir.[91] Bu sistemde trombosit ve beyaz kan hücreleri parçalanmaz. A-PRF, PRF ve PRP ile ilgili Kobayashi ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada,[203] PRP'nin erken dönemde A-PRF ve PRF'e göre çok daha fazla miktarda büyüme faktörü salgıladıkları, uzun dönemde bu etkinliğin oldukça fazla azaldığı görülmüş, PRF ve A-PRF'in ise 10 günlük bir süre içerisinde devamlı olarak büyüme faktörü salınımına devam ettiğini gözlemlemişlerdir. PRF'in geliştirilmiş bir formu olan A-PRF'in ise PRF'e göre

anlamlı seviyede daha uzun süreli büyüme faktörü salınımı yaptığı belirlenmiştir.[203] Alhasyimi ve arkadaşlarının 2018 yılında tavşanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, osteoblastik aktivitenin artışı ile bölgeye uygulanan A-PRF arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulmuşlardır. Bu çalışmaya göre A-PRF kemik remodelasyonunu desteklemekte ve yardımcı olmaktadır.[204] Clark ve arkadaşlarının 2017 yılında dondurulmuş-kurutulmuş kemik allogreftleri üzerinde yaptıkları çalışmada, bölgede lokal A-PRF uygulamasının kemik canlılığını artırdığı sonucuna varmışlardır.[128] Geliştirilmiş trombositten zengin fibrin matriksin kemik ve dişetine ilişkin doku rejenerasyonunu hızlandırdığına yönelik yapılan çalışamalar Miron, Zucchelli ve arkadaşları tarafından da gösterilmiştir.[205] Literatürde CGF ve A-PRF'i, PRP ve diğer gelişmiş modifikasyonlarla kıyaslayan oldukça fazla çalışma olmasına rağmen, birbirleri arasında büyüme faktörlerinin salınımı açısından karşılaştıran çok az çalışma vardır. Bu çalışmalarda CGF ve A-PRF arasında büyüme faktörü salınımını yönüyle birbirlerine oranla fark yarattığı herhangi bir sonuç bulunmamıştır.[206-209]

Çalışmamızda, PİOS-biyobelirteç düzeylerine ilişkin 2. hafta ölçümlerinde TNF-α'nın hem CGF, hem de A-PRF test gruplarında, kontrol gruplarına kıyasla önemli ölçüde yüksek olduğunu gözlemledik. Benzer şekilde, RANKL oranlarının CGF-test grubunda 2. ve 4. haftada, A-PRF-test grubunda ise 4. haftada yüksek olduğu gözlendi. Oysaki kemik rezorpsiyonunda önemli rolleri bulunan TNF-α ve RANKL üzerinden tabloyu yorumlayacak olsaydık, rejeneratif kan biyomateryallerinin osteoklastik aktiviteyi artırdığı ve peri-implant kemik dokusunda kayba neden olduğunu söylerdik. Bunun yanısıra RANKL/OPG oranının kemik yapım-yıkım döngüsünde önemli olduğu bilinmektedir. Yani dokudaki OPG düzeyi rezorpsiyon-apozisyon döngüsünde belirleyici bir role sahiptir.[210] Literatürde, fizyolojik remodelasyon sürecinde RANKL salınımını indükleyen faktörlerin, osteoblastlardan OPG ekspresyonunu da düzenleyebileceği belirtilmektedir. Bu sürecin ilk adımı olan nötrofil ve monositlerden eksprese edilen TNF-α'nın kemik remodelasyonunu desteklediği, yapılan hayvan çalışmalarında gösterilmiştir.[211] Çeşitli konsantre trombosit türevlerindeki büyüme faktörlerinin yara bölgesinde nötrofil, makrofaj ve lenfositlere bağlı enflamatuar reaksiyonları yönlendirebildiği belirtilmektedir.[131] Bu bilgiler ışığında OPG değerlerinin özellikle CGF-test grubunda tüm zamanlarda yüksek düzeyde olması ve RANKL/OPG oranının kontrol grubuna kıyasla benzer olması, CGF materyalinin A-PRF'e göre remodelasyon sürecini daha kontrollü bir şekilde gerçekleştirilebildiğini göstermektedir.

Çünkü A-PRF-test grubundaki RANKL/OPG'nin 4. hafta ve 3. ay düzeyi CGF-test grubuna kıyasla daha yüksekti. Bu durum CGF matriksinin, A-PRF'e göre daha yüksek gerilme dayanıklılığı ve viskozitesine böylelikle büyüme faktörlerinin proteolizden iyi bir şekilde korumasına[201-212] ve uzun süre osteoblastik aktiviteyi artıracak büyüme faktörü salınımına[202] bağlanabilir. A-PRF-test grubundaki implant stabilite değerleri ve marjinal kemik seviyelerine ilişkin verilerin kontrol grubu ile benzer olmasına karşın, rejeneratif bir materyal olan A-PRF'in RANKL-OPG oranını artırması, kemik remodelasyonunda başka mekanizmaların da rol oynayabileceğine delil olabilir. Her ne kadar A-PRF uygulanan tarafta klinik olarak olumlu sonuçlar elde ettiysek de, biyokimyasal analiz sonuçlarımız literatür verileri ile çelişmektedir. Yapılan birçok çalışmada, A-PRF, özellikle osteoblastik bir marker olan OPG'yi artırdığı[213] ve RANKL/OPG oranını düşürdüğü ifade edilmektedir.[214,215] Yine Sumida ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptıkları çalışmalarında, A-PRF'in OPG seviyesini artırdığını ve cerrahi sahada daha hızlı bir iyileşme kapasitesi ortaya koyduğunu savunmuşlardır.[216] Kemik remodelasyonunda RANKL/OPG yolağından başka mekanizmaların savunulduğu Kargarpour ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptıkları bir çalışmada, PRF membranının Tartrate-Resistant Acid Phosphatase (TRAP), Cathepsin K, Dendritic Cell-Spesific Transmembrane protein (DCSTAMP), Nuclear Factor of Activated T-Cells (NFATCc) ve osteoklast ilişkili reseptör (OSCAR) gibi ürünleri etkileyerek osteoklastik aktiviteyi azalttığı belirtilmiştir.[212] CGF materyalinden farklı olarak PRF türevleri yoğun lökosit ve makrofaj içermekte ve bu sayede kemik rejenerasyonu ve yara iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır. PRF'in içerisindeki IL-6, IL-8, IL-4, TGF-β gibi sitokinler ve büyüme faktörleri makrofaj polarizasyonu yapabilmektedir.[217] Bu sitokinlerden IL-6 ve IL-8, M1 makrofajlarının formasyonuna yönelik bir enflamatuar çevre oluştururken, IL-4 ve TGF-β, M2 makrofaj polarizasyonunu indüklemektedirler.[216] Yapılan bir in-vitro çalışmada, PRF'in makrofaj polarizasyonunu M1'den M2 fenotipine doğru yönlendirebileceği belirtilmektedir.[218] M2 makrofajların indüksiyonunun periodontitis modellerinde alveolar kemik rezorpsiyonunu önleyebileceğine dair kanıtlar mevcuttur.[219] Çalışmamızda A-PRF uygulamasının implant sağlığı ile ilişkili parametreler üzerindeki pozitif etkisinin meydana gelmesinde yukarıda bahsedilen mekanizmaların rolü olabilir.

CGF ve A-PRF gruplarına ilişkin klinik, radyolojik ve biyokimyasal verilerin 2. hafta korelasyonları incelendiğinde, CGF-test grubunda TNF-α'nın artışı OPG oranlarını artırırken, A-PRF grubunda ise, TNF-α ve RANKL, TNF-α ve OPG, RANKL ve OPG

arasında sinerjik bir ilişki olduğu gözlenmiştir. 4. haftada CGF-test grubunda TNF-α'nın RANKL düzeyi ile, A-PRF-test grubunda ise TNF-α'nın hem RANKL hem de OPG düzeyi ile pozitif yönde korelasyonu olduğu belirlenmiştir. 3. ayda CGF-test grubunda TNF-α'nın RANKL ve OPG ile pozitif yönde, marjinal kemik kaybının ise negatif yönde korelasyon gösterdiği belirlenirken, A-PRF-test grubunda ise TNF-α'nın RANKL ve OPG ile pozitif yönde korelasyona sahip olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde, TNF-α düzeyi arttığında RANKL seviyesinin de arttığı Marahleh ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada gösterilmiştir.[220] Oysaki, Weitzmann'ın 2017 yılında yaptığı literatür derlemesinde RANKL değerlerinin artması ile birlikte OPG değerlerinde azalmanın görüldüğü belirtilmiştir.[100] Bu sonuçlar A-PRF-test grubundaki 2. hafta sonuçları ile çelişmektedir. Çalışmamızın korelasyon verilerine bakıldığında CGF-test grubunda PİOS-biyokimyasal belirteç düzeylerinde meydana gelen değişimlerin birbirleri ile daha uyumlu olduğu, bu durumun remodelasyon sürecinin kontrollü bir şekilde sürdürüldüğünü ortaya koymaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, otolog rejeneratif birer ürün olan CGF ve A-PRF'in dental implantlar ile kombine ve simetrik uygulamalarında klinik, radyografik ve biyokimyasal düzeydeki etkileri inceleyen bir çalışmadır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar şöyle özetlenebilir.

- Çalışmaya dâhil edilen bireyler orta ve yüksek yaş grubundadır. Yaş ortalaması bölünmüş ağız dizaynı ile gerçekleştirilen çalışmamıza dâhil edilme kriterlerinden biri olan simetrik diş eksikliğinin yaygın olarak yaşlı popülasyonda gözlenmesinden kaynaklıdır.
- CGF ve A-PRF çalışma grubundaki bireyler yaş ve cinsiyet açısından homojen dağılım göstermiştir.
- Primer implant stabilitesine etki edebilecek implant çap ve uzunlukları gruplarda benzer dağılım göstermiştir.
- Plak indeksi, gingival indeksi, cep derinliği ve gingival kanama indeksi gibi inflamatuar süreçleri etkileyebilecek klinik değişkenler açısından CGF ve A-PRF çalışma grupları arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir.
- CGF test ve kontrol grubundaki implantların 3. ay stabiliteleri diğer zamanlara göre anlamlı seviyede yükselmiştir.
- İmplant çevresinde gözlenen marjinal kemik kaybı düzeyi istatistiksel açıdan 4 grupta da benzerlik göstermiştir.
- CGF ve A-PRF uygulanan implantlarda, 2. hafta PİOS-TNF-α düzeyleri yüksekti. CGF-test grubu için 4. haftadaki TNF-α seviyesi kontrol grubuna kıyasla yüksekti. 3. ayda ise hem CGF hem de A-PRF test grubunda TNF-α düzeylerinde önemli oranda düşüş gözlenmiştir.
- PİOS-RANKL düzeyleri implantların erken iyileşme sürecinde CGF ve A-PRF test gruplarında yükselmiştir. Ayrıca 4. haftada seviyeleri artarken 3. ay sonunda ise başlangıçtaki seviyenin altına düşmüştür.
- PİOS-OPG düzeylerinde ise CGF-test grubunda 2. haftadan itibaren yükselme gözlenmiş ve 4. haftada pik yaparak osseointegrasyon süreci boyunca yüksek

seviyesini korumuştur. A-PRF test-grubunda ise OPG düzeyinde yükselme 4. haftada meydana gelmiş ve CGF-test grubundaki seviyeye ulaşmıştır. Ancak 3. ay sonunda seviyesinde tekrar azalma eğilimi gözlenmiştir.

- RANKL/OPG oranı yönüyle değerlendirildiğinde, CGF-test grubunda 2. haftadan 3. aya kadar dengeli bir oran elde edilirken, A-PRF-test grubunda ise RANKL/OPG oranı hem A-PRF kontrol grubundan hem de CGF-test grubundan daha yüksek seviyede seyretmiştir. Her iki test grubu için RANKL/OPG oranında 3. ay sonunda azalma meydana gelmiş ve kontrol grupları ile benzerlik göstermiştir.
- TNF-α, RANKL, OPG ve RANKL/OPG oranı arasında korelasyonlar gözlenmiştir. CGF-test grubunda, TNF-α erken dönemde OPG ve RANKL ile, geç dönemde ise her ikisi ile pozitif korelasyon gösterirken, A-PRF test grubunda ise ise üç dönemde de TNF-α ile RANKL ve OPG arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir.

Bu çalışmada hastaya bağlı değişkenlerden biri olan yumuşak doku kalınlığı, implant yerleştirilmesi esnasında değerlendirilmiş, hastalara ilişkin veriler analiz edilmemiştir. Bununla birlikte operasyon gününde ve 3. ayda elde edilen panoramik radyografiler üzerinden meziyal ve distalden olmak üzere iki boyutlu vertikal marjinal kemik kaybı verilerinin birebir biyokimyasal verilerle ilişkilendirilmesi doğru olmayabilir. Horizontal yöndeki rezorpsiyon miktarını ve implantın bukkal ve lingual yüzü dâhil olmak üzere çevresindeki kemik seviyesindeki değişimleri üç boyutlu bilgisayarlı tomografiler ile ölçmek gerekse de, ALARA (As Low As Reasonable Radiation) kriterine aykırı olduğu düşünülerek bu çalışmada volumetrik ölçüm değerlerine yer verilmemiştir. İmplant yerleştirme işlemi yüksek hassasiyetle gerçekleştirilmiş ve çalışmamızın standartlarına uygun olmayan hastalar çalışma dışı tutulmuştur. Cerrahi rehberler kullanılarak kemik içerisinde üç boyutlu ve arzu edilen implant konumlandırması gerçekleştirilebilmektedir. Ancak pahalı olması nedeniyle bu çalışmada cerrahi rehber kullanılmamıştır. Bu limitasyonlar dahilinde, başta CGF olmak üzere A-PRF sıvı ve membranlarının dental implantasyonda kullanımının erken dönemde yumuşak ve sert doku iyileşmesine katkı sağladığı sonucuna varılabilir. Ayrıca biyokimyasal düzeyde CGF materyalinin yüksek konsantrasyonda büyüme faktörü ve organize matriks yapısı sayesinde biyolojik inflamatuar olayları indükleyerek daha kontrollü bir osseointegrasyon sürecini yönettiği söylenebilir. Benzer metodoloji ile daha genç popülasyonun dahil edileceği kapsamlı ve kemik

remodelasyon sürecinde rol oynayan başka biyobelirteçlerin araştılacağı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. **Buser D, Janner SF, Wittneben JG, Brägger U, Ramseier CA, et al.** 10-year survival and success rates of 511 titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a retrospective study in 303 partially edentulous patients. *Clin Implant Dent Relat Res*. **2012**;14(6): 839-51.

2. **Degidi M, Nardi D, Piattelli A**. 10-year follow-up of immediately loaded implants with TiUnite porous anodized surface. *Clin Implant Dent Relat Res*. **2012**;14(6): 828-38.

3. **Fischer K, Stenberg T**. Prospective 10-year cohort study based on a randomized controlled trial (RCT) on implant-supported full-arch maxillary prostheses. Part 1: sandblasted and acid-etched implants and mucosal tissue. *Clin Implant Dent Relat Res*. **2012**;14(6): 808-15.

4. **Gotfredsen K**. A 10-year prospective study of single tooth implants placed in the anterior maxilla. *Clin Implant Dent Relat Res*. **2012**;14(1): 80-7.

5. **Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, et al.** Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg*. **1969**;3(2): 81-100.

6. **Schroeder A, van der Zypen E, Stich H, Sutter F**. The reactions of bone, connective tissue, an epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. *J Maxillofac Surg*. **1981**;9(1):1525.

7. **Buser D, Sennerby L, De Bruyn H**. Modern implant dentistry based on osseointegration: 50 years of progress, current trends and open questions. *Periodontol 2000*. **2017**;73(1): 7-21.

8. **Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark PI**. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg*. **1981**;10(6): 387-416.

9. **Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, et al.** Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl*. **1977**;16: 1-132.

10. **Bernard JP, Szmukler-Moncler S, Pessotto S, Vazquez L, Belser UC**. The anchorage of Brånemark and ITI implants of different lengths. I. An experimental study in the canine mandible. *Clin Oral Implants Res*. **2003**;14(5): 593-600.

11. **Schroeder A, Stich H, Straumann F, Sutter F**. [The accumulation of osteocementum around a dental implant under physical loading]. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd*. **1978**;88(10): 1051-8.

12. **Schroeder A, Maeglin B, Sutter F**. [ITI (Internationales Team für orale Implantologie) type-F hollow cylinder implant for denture retention in the edentulous jaw]. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd*. **1983**;93(9): 720-33.

13. **Sutter F, Schroeder A, Buser DA**. The new concept of ITI hollow-cylinder and hollow-screw implants: Part 1. Engineering and design. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **1988**;3(3): 161-72.

14. **Buser D, Weber HP, Bragger U, Balsiger C**. Tissue integration of one-stage ITI implants: 3-year results of a longitudinal study with Hollow-Cylinder and Hollow-Screw implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **1991**;6(4): 405-12.

15. **Buser D, Weber HP, Lang NP**. Tissue integration of non-submerged implants. 1-year results of a prospective study with 100 ITI hollow-cylinder and hollow-screw implants. *Clin Oral Implants Res*. **1990**;1(1): 33-40.

16. **van Steenberghe D, Lekholm U, Bolender C, Folmer T, Henry P, et al.** Applicability of osseointegrated oral implants in the rehabilitation of partial edentulism: a prospective multicenter study on 558 fixtures. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **1990**;5(3): 272-81.

17. **Schnitman PA, Rubenstein JE, Whörle PS, DaSilva JD, Koch GG**. Implants for partial edentulism. *J Dent Educ*. **1988**;52(12): 725-36.

18. **Bornstein MM, Halbritter S, Harnisch H, Weber HP, Buser D**. A retrospective analysis of patients referred for implant placement to a specialty clinic: indications, surgical procedures, and early failures. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2008**;23(6): 1109-16.

19. **Brügger OE, Bornstein MM, Kuchler U, Janner SF, Chappuis V, et al.** Implant therapy in a surgical specialty clinic: an analysis of patients, indications, surgical procedures, risk factors, and early failures. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2015**;30(1): 151-60.

20. **Aghaloo TL, Moy PK**. Which hard tissue augmentation techniques are the most successful in furnishing bony support for implant placement? *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2007**;22 Suppl: 49-70.

21. **Buser D, Ruskin J, Higginbottom F, Hardwick R, Dahlin C, et al.** Osseointegration of titanium implants in bone regenerated in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **1995**;10(6): 666-81.

22. **Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S**. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg*. **1988**;81(5): 672-6.

23. **Dahlin C, Gottlow J, Linde A, Nyman S**. Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique. An experimental study in monkeys. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. **1990**;24(1): 13-9.

24. **Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C**. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **1994**;9(1): 13-29.

25. **Hanawa T**. Titanium-Tissue Interface Reaction and Its Control With Surface Treatment. *Front Bioeng Biotechnol*. **2019**;7: 170.

26. **Bosshardt DD, Chappuis V, Buser D**. Osseointegration of titanium, titanium alloy and zirconia dental implants: current knowledge and open questions. *Periodontol 2000*. **2017**;73(1): 22-40.

27. **Neoh KG, Hu X, Zheng D, Kang ET**. Balancing osteoblast functions and bacterial adhesion on functionalized titanium surfaces. *Biomaterials*. **2012**;33(10): 2813-22.

28. **McCracken M**. Dental implant materials: commercially pure titanium and titanium alloys. *J Prosthodont*. **1999**;8(1): 40-3.

29. **Kim DG, Huja SS, Tee BC, Larsen PE, Kennedy KS, et al.** Bone ingrowth and initial stability of titanium and porous tantalum dental implants: a pilot canine study. *Implant Dent*. **2013**;22(4): 399-405.

30. **Kubasiewicz-Ross P, Dominiak M, Gedrange T, Botzenhart UU**. Zirconium: The material of the future in modern implantology. *Adv Clin Exp Med*. **2017**;26(3): 533-7.

31. **Shi Q, Qian Z, Liu D, Liu H**. Surface Modification of Dental Titanium Implant by Layer-by-Layer Electrostatic Self-Assembly. *Front Physiol*. **2017**;8: 574.

32. **Shah FA, Trobos M, Thomsen P, Palmquist A**. Commercially pure titanium (cp-Ti) versus titanium alloy (Ti6Al4V) materials as bone anchored implants - Is one truly better than the other? *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. **2016**;62: 960-6.

33. **Jebieshia TR, Kim JM, Kang JW, Son SW, Kim HD**. Microstructural and Very High Cycle Fatigue (VHCF) Behavior of Ti6Al4V-A Comparative Study. *Materials (Basel)*. **2020**;13(8): 1948.

34. **Anselme K**. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*. **2000**;21(7): 667-81.

35. **Rezaei NM, Hasegawa M, Ishijima M, Nakhaei K, Okubo T, et al.** Biological and osseointegration capabilities of hierarchically (meso-/micro-/nano-scale) roughened zirconia. *Int J Nanomedicine*. **2018**;13: 3381-95.

36. **Albrektsson T, Wennerberg A**. Oral implant surfaces: Part 2--review focusing on clinical knowledge of different surfaces. *Int J Prosthodont*. **2004**;17(5): 544-64.

37. **Esposito M, Coulthard P, Thomsen P, Worthington HV**. The role of implant surface modifications, shape and material on the success of osseointegrated dental implants. A Cochrane systematic review. *Eur J Prosthodont Restor Dent*. **2005**;13(1): 15-31.

38. **El-Ali J, Sorger PK, Jensen KF**. Cells on chips. *Nature*. **2006**;442(7101): 403-11.

39. **Li D, Ferguson SJ, Beutler T, Cochran DL, Sittig C, et al.** Biomechanical comparison of the sandblasted and acid-etched and the machined and acid-etched titanium surface for dental implants. *J Biomed Mater Res*. **2002**;60(2): 325-32.

40. **Klos A, Sedao X, Itina TE, Helfenstein-Didier C, Donnet C, et al.** Ultrafast Laser Processing of Nanostructured Patterns for the Control of Cell Adhesion and Migration on Titanium Alloy. *Nanomaterials (Basel)*. **2020**;10(5): 864

41. **Ogle OE**. Implant surface material, design, and osseointegration. *Dent Clin North Am*. **2015**;59(2): 505-20.

42. **Scacchi M, Merz BR, Schär AR**. The development of the ITI DENTAL IMPLANT SYSTEM. Part 2: 1998-2000: Steps into the next millennium. *Clin Oral Implants Res*. **2000**;11 Suppl 1: 22-32.

43. **Franchi M, Orsini E, Trire A, Quaranta M, Martini D, et al.** Osteogenesis and morphology of the peri-implant bone facing dental implants. *Sci World J*. **2004**;4: 1083-95.

44. **Wang XX, Yan W, Hayakawa S, Tsuru K, Osaka A**. Apatite deposition on thermally and anodically oxidized titanium surfaces in a simulated body fluid. *Biomaterials*. **2003**;24(25): 4631-7.

45. **Yang B, Uchida M, Kim HM, Zhang X, Kokubo T**. Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment. *Biomaterials*. **2004**;25(6): 1003-10.

46. **Schliephake H, Scharnweber D, Dard M, Sewing A, Aref A, et al.** Functionalization of dental implant surfaces using adhesion molecules. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. **2005**;73(1): 88-96.

47. **Stigter M, Bezemer J, de Groot K, Layrolle P**. Incorporation of different antibiotics into carbonated hydroxyapatite coatings on titanium implants, release and antibiotic efficacy. *J Control Release*. **2004**;99(1): 127-37.

48. **Palmquist A, Omar OM, Esposito M, Lausmaa J, Thomsen P**. Titanium oral implants: surface characteristics, interface biology and clinical outcome. *J R Soc Interface*. **2010**;7 Suppl 5(Suppl 5): S515-27.

49. **Strnad Z, Strnad J, Povýsil C, Urban K**. Effect of plasma-sprayed hydroxyapatite coating on the osteoconductivity of commercially pure titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2000**;15(4): 483-90.

50. **An N, Rausch-fan X, Wieland M, Matejka M, Andrukhov O, et al.** Initial attachment, subsequent cell proliferation/viability and gene expression of epithelial cells related to attachment and wound healing in response to different titanium surfaces. *Dent Mater*. **2012**;28(12): 1207-14.

51. **Wang X, Wang Y, Bosshardt DD, Miron RJ, Zhang Y**. The role of macrophage polarization on fibroblast behavior-an in vitro investigation on titanium surfaces. *Clin Oral Investig*. **2018**;22(2): 847-57.

52. **Zhang J, Liu J, Wang C, Chen F, Wang X, et al.** A comparative study of the osteogenic performance between the hierarchical micro/submicro-textured 3D-printed Ti6Al4V surface and the SLA surface. *Bioact Mater*. **2020**;5(1): 9-16.

53. **Ou KL, Hsu HJ, Yang TS, Lin YH, Chen CS, et al.** Osseointegration of titanium implants with SLAffinity treatment: a histological and biomechanical study in miniature pigs. *Clin Oral Investig*. **2016**;20(7): 1515-24.

54. **Chambrone L, Shibli JA, Mercúrio CE, Cardoso B, Preshaw PM**. Efficacy of standard (SLA) and modified sandblasted and acid-etched (SLActive) dental implants in promoting immediate and/or early occlusal loading protocols: a systematic review of prospective studies. *Clin Oral Implants Res*. **2015**;26(4): 359-70.

55. **Verardi S, Swoboda J, Rebaudi F, Rebaudi A**. Osteointegration of Tissue-Level Implants With Very Low Insertion Torque in Soft Bone: A Clinical Study on SLA Surface Treatment. *Implant Dent*. **2018**;27(1): 5-9.

56. **Hänggi MP, Hänggi DC, Schoolfield JD, Meyer J, Cochran DL, et al.** Crestal bone changes around titanium implants. Part I: A retrospective radiographic evaluation in humans comparing two non-submerged implant designs with different machined collar lengths. *J Periodontol*. **2005**;76(5): 791-802.

57. **Novaes AB, Jr., Souza SL, de Oliveira PT, Souza AM**. Histomorphometric analysis of the bone-implant contact obtained with 4 different implant surface treatments placed side by side in the dog mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2002**;17(3): 377-83.

58. **Wilson CJ, Clegg RE, Leavesley DI, Pearcy MJ**. Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: a review. *Tissue Eng*. **2005**;11(1-2): 1-18.

59. **Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E, Lang NP, Lindhe J**. Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. **2004**;15(4): 381-92.

60. **Giordano C, Sandrini E, Busini V, Chiesa R, Fumagalli G, et al.** A new chemical etching process to improve endosseous implant osseointegration: in vitro evaluation on human osteoblast-like cells. *Int J Artif Organs*. **2006**;29(8): 772-80.

61. **Lennerås M, Palmquist A, Norlindh B, Emanuelsson L, Thomsen P, et al.** Oxidized Titanium Implants Enhance Osseointegration via Mechanisms Involving RANK/RANKL/OPG Regulation. *Clin Implant Dent Relat Res*. **2015**;17 Suppl 2: e486-500.

62. **Thalji G, Cooper LF**. Molecular assessment of osseointegration in vitro: a review of current literature. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2014**;29(2): e171-99.

63. **Buenzli PR, Sims NA**. Quantifying the osteocyte network in the human skeleton. *Bone*. **2015**;75: 144-50.

64. **Barewal RM, Oates TW, Meredith N, Cochran DL**. Resonance frequency measurement of implant stability in vivo on implants with a sandblasted and acid-etched surface. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2003**;18(5): 641-51.

65. **West JD, Oates TW**. Identification of stability changes for immediately placed dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2007**;22(4): 623-30.

66. **Monje A, Ravidà A, Wang HL, Helms JA, Brunski JB**. Relationship Between Primary/Mechanical and Secondary/Biological Implant Stability. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2019**;34: s7-s23.

67. **Calvo-Guirado JL, Delgado Ruiz RA, Ramírez-Fernández MP, Abboud M, Janjic B, et al.** Histological and histomorphometric analyses of narrow implants, crestal and subcrestally placed in severe alveolar atrophy: a study in foxhound dogs. *Clin Oral Implants Res*. **2016**;27(4): 497-504.

68. **Gittens RA, Olivares-Navarrete R, Schwartz Z, Boyan BD**. Implant osseointegration and the role of microroughness and nanostructures: lessons for spine implants. *Acta Biomater*. **2014**;10(8): 3363-71.

69. **Andrukhov O, Behm C, Blufstein A, Wehner C, Gahn J, et al.** Effect of implant surface material and roughness to the susceptibility of primary gingival fibroblasts to inflammatory stimuli. *Dent Mater*. **2020**;36(6): e194-e205.

70. **Smeets R, Stadlinger B, Schwarz F, Beck-Broichsitter B, Jung O, et al.** Impact of Dental Implant Surface Modifications on Osseointegration. *Biomed Res Int*. **2016**;2016: 6285620.

71. **Hallab NJ, Jacobs JJ, Skipor A, Black J, Mikecz K, et al.** Systemic metal-protein binding associated with total joint replacement arthroplasty. *J Biomed Mater Res*. **2000**;49(3): 353-61.

72. **Amao Y, Yamada Y**. Near-IR light-sensitized voltaic conversion system using nanocrystalline TiO2 film by Zn chlorophyll derivative aggregate. *Langmuir*. **2005**;21(7): 3008-12.

73. **Diz P, Scully C, Sanz M**. Dental implants in the medically compromised patient. *J Dent*. **2013**;41(3): 195-206.

74. **Turri A, Rossetti PH, Canullo L, Grusovin MG, Dahlin C**. Prevalence of Peri-implantitis in Medically Compromised Patients and Smokers: A Systematic Review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2016**;31(1): 111-8.

75. **Chrcanovic BR, Albrektsson T, Wennerberg A**. Periodontally compromised vs. periodontally healthy patients and dental implants: a systematic review and meta-analysis. *J Dent*. **2014**;42(12): 1509-27.

76. **Ohba S, Hojo H, Chung UI**. Bioactive factors for tissue regeneration: state of the art. *Muscles Ligaments Tendons J*. **2012**;2(3): 193-203.

77. **Chicharro-Alcántara D, Rubio-Zaragoza M, Damiá-Giménez E, Carrillo-Poveda JM, Cuervo-Serrato B, et al.** Platelet Rich Plasma: New Insights for Cutaneous Wound Healing Management. *J Funct Biomater*. **2018**;9(1): 10.

78. **Xu J, Gou L, Zhang P, Li H, Qiu S**. Platelet-rich plasma and regenerative dentistry. *Aust Dent J*. **2020**;65(2): 131-42.

79. **Alves R, Grimalt R**. A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. *Skin Appendage Disord*. **2018**;4(1): 18-24.

80. **Andia I, Abate M**. Platelet-rich plasma: underlying biology and clinical correlates. *Regen Med*. **2013**;8(5): 645-58.

81. **Liao HT, Marra KG, Rubin JP**. Application of platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in fat grafting: basic science and literature review. *Tissue Eng Part B Rev*. **2014**;20(4): 267-76.

82. **Marx RE**. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. **2004**;62(4): 489-96.

83. **Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, et al.** Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. **1998**;85(6): 638-46.

84. **Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T**. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. **2009**;27(3): 158-67.

85. **Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, et al.** Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments Tendons J*. **2014**;4(1): 3-9.

86. **Bernardi S, Mummolo S, Tecco S, Continenza M, Marzo G**. Histological Characterization of Sacco's Concentrated Growth Factors Membrane. *Int J Morphol*. **2017**;35: 114-9.

87. **Lokwani BV, Gupta D, Agrawal RS, Mehta S, Nirmal NJ**. The use of concentrated growth factor in dental implantology: A systematic review. *J Indian Prosthodont Soc*. **2020**;20(1): 3-10.

88. **Pirpir C, Yilmaz O, Candirli C, Balaban E**. Evaluation of effectiveness of concentrated growth factor on osseointegration. *Int J Implant Dent*. **2017**;3(1): 7.

89. **Marrelli M, Tatullo M**. Influence of PRF in the healing of bone and gingival tissues. Clinical and histological evaluations. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. **2013**;17(14): 1958-62.

90. **Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, 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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. **2006**;101(3): 299-303.

91. **Varela HA, Souza JCM, Nascimento RM, Araújo RF, Jr., Vasconcelos RC, et al.** Injectable platelet rich fibrin: cell content, morphological, and protein characterization. *Clin Oral Investig*. **2019**;23(3): 1309-18.

92. **Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A**. Une opportunit?? en paro-implantologie: Le PRF. *Implantodontie*. **2001**;42: 55-62.

93. **Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, et al.** Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol*. **2014**;40(6): 679-89.

94. **Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, et al.** Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*. **1998**;93(2): 165-76.

95. **Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, et al.** Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. **1997**;89(2): 309-19.

96. **Boyce BF, Xing L**. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther*. **2007**;9 Suppl 1(Suppl 1): S1.

97. **Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, et al.** Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **1998**;95(7): 3597-602.

98. **Yücel G, Zhao Z, El-Battrawy I, Lan H, Lang S, et al.** Lipopolysaccharides induced inflammatory responses and electrophysiological dysfunctions in human-induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes. *Sci Rep*. **2017**;7(1): 2935.

99. **Wang N, Huang K, Zou H, Shi Y, Zhu J, et al.** No association found between the promoter variants of TNF-alpha and diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Curr Eye Res*. **2008**;33(4): 377-83.

100. **Weitzmann MN**. Bone and the Immune System. *Toxicol Pathol*. **2017**;45(7): 911-24.

101. **Capper D, Jones DTW, Sill M, Hovestadt V, Schrimpf D, et al.** DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. *Nature*. **2018**;555(7697): 469-74.

102. **El-Zayadi AR**. Heavy smoking and liver. *World J Gastroenterol*. **2006**;12(38): 6098-101.

103. **Faot F, Nascimento GG, Bielemann AM, Campão TD, Leite FR, et al.** Can peri-implant crevicular fluid assist in the diagnosis of peri-implantitis? A systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. **2015**;86(5): 631-45.

104. **Zitzmann NU, Berglundh T**. Definition and prevalence of peri-implant diseases. *J Clin Periodontol*. **2008**;35(8 Suppl): 286-91.

105. **Khosla S**. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology*. **2001**;142(12): 5050-5.

106. **Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, et al.** OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*. **1999**;397(6717): 315-23.

107. **Dursun E, Tözüm TF**. Peri-Implant Crevicular Fluid Analysis, Enzymes and Biomarkers: a Systemetic Review. *J Oral Maxillofac Res*. **2016**;7(3): e9.

108. **Belibasakis GN, Bostanci N**. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol*. **2012**;39(3): 239-48.

109. **Mizuno A, Kanno T, Hoshi M, Shibata O, Yano K, et al.** Transgenic mice overexpressing soluble osteoclast differentiation factor (sODF) exhibit severe osteoporosis. *J Bone Miner Metab*. **2002**;20(6): 337-44.

110. **Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, Kurata K, Oh-Hora M, et al.** Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med*. **2011**;17(10): 1231-4.

111. **Boyce BF, Xing L**. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*. **2008**;473(2): 139-46.

112. **Arikan F, Buduneli N, Lappin DF**. C-telopeptide pyridinoline crosslinks of type I collagen, soluble RANKL, and osteoprotegerin levels in crevicular fluid of dental implants with peri-implantitis: a case-control study. *The International journal of oral & maxillofacial implants*. **2011**;26(2): 282-9.

113. **Ilea A, Andrei V, Feurdean CN, Băbțan AM, Petrescu NB, et al.** Saliva, a Magic Biofluid Available for Multilevel Assessment and a Mirror of General Health-A Systematic Review. *Biosensors (Basel)*. **2019**;9(1): 27.

114. **Lovdal A, Arno A, Waerhaug J**. Incidence of clinical manifestations of periodontal disease in light of oral hygiene and calculus formation. *J Am Dent Assoc*. **1958**;56(1): 21-33.

115. **Attström R, Schroeder HE**. Effect of experimental neutropenia on initial gingivitis in dogs. *Scand J Dent Res*. **1979**;87(1): 7-23.

116. **Boynueğri D, Nemli SK, Kasko YA**. Significance of keratinized mucosa around dental implants: a prospective comparative study. *Clin Oral Implants Res*. **2013**;24(8): 928-33.

117. **Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T**. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000*. **2016**;70(1): 53-64.

118. **Yakar N, Guncu GN, Akman AC, Pınar A, Karabulut E, et al.** Evaluation of gingival crevicular fluid and peri-implant crevicular fluid levels of sclerostin, TWEAK, RANKL and OPG. *Cytokine*. **2019**;113: 433-9.

119. **Papagerakis P, Zheng L, Kim D, Said R, Ehlert AA, et al.** Saliva and Gingival Crevicular Fluid (GCF) Collection for Biomarker Screening. *Methods Mol Biol*. **2019**;1922: 549-62.

120. **Nazar Majeed Z, Philip K, Alabsi AM, Pushparajan S, Swaminathan D**. Identification of Gingival Crevicular Fluid Sampling, Analytical Methods, and Oral Biomarkers for the Diagnosis and Monitoring of Periodontal Diseases: A Systematic Review. *Dis Markers*. **2016**;2016: 1804727.

121. **Guentsch A, Kramesberger M, Sroka A, Pfister W, Potempa J, et al.** Comparison of gingival crevicular fluid sampling methods in patients with severe chronic periodontitis. *J Periodontol*. **2011**;82(7): 1051-60.

122. **Baltacıoğlu E, Kehribar MA, Yuva P, Alver A, Atagün OS, et al.** Total oxidant status and bone resorption biomarkers in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Periodontol*. **2014**;85(2): 317-26.

123. **Akram Z, Abduljabbar T, Abu Hassan MI, Javed F, Vohra F**. Cytokine Profile in Chronic Periodontitis Patients with and without Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dis Markers*. **2016**;2016: 4801418.

124. **Sanz M, Ceriello A, Buysschaert M, Chapple I, Demmer RT, et al.** Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *J Clin Periodontol*. **2018**;45(2): 138-49.

125. **Xiao CJ, Yu XJ, Xie JL, Liu S, Li S**. Protective effect and related mechanisms of curcumin in rat experimental periodontitis. *Head Face Med*. **2018**;14(1): 12.

126. **Lei L, Yu Y, Han J, Shi D, Sun W, et al.** Quantification of growth factors in advanced platelet-rich fibrin and concentrated growth factors and their clinical efficacy as adjunctive to the GTR procedure in periodontal intrabony defects. *J Periodontol*. **2020**;91(4): 462-72.

127. **Park HC, Kim SG, Oh JS, You JS, Kim JS, et al.** Early Bone Formation at a Femur Defect Using CGF and PRF Grafts in Adult Dogs: A Comparative Study. *Implant Dent*. **2016**;25(3): 387-93.

128. **Clark D, Rajendran Y, Paydar S, Ho S, Cox D, et al.** Advanced platelet-rich fibrin and freeze-dried bone allograft for ridge preservation: A randomized controlled clinical trial. *J Periodontol*. **2018**;89(4): 379-87.

129. **Bernabeu-Mira JC, Soto-Peñaloza D, Peñarrocha-Oltra S, Diago MP**. Regenerated Traumatic Bone Cyst With Platelet-Rich Fibrin in the Mandible: A Case Report. *Clin Adv Periodontics*. **2020**.(Baskıda)

130. **Yewale M, Bhat S, Kamath A, Tamrakar A, Patil V, et al.** Advanced platelet-rich fibrin plus and osseous bone graft for socket preservation and ridge augmentation - A randomized control clinical trial. *J Oral Biol Craniofac Res*. **2021**;11(2): 225-33.

131. **Jasmine S, Thangavelu A, Krishnamoorthy R, Alshuniaber MA, Alshatwi AA**. Cytokine Expression Pattern and Protein-Protein interaction network analysis of Leucocyte Rich Platelet Rich Fibrin and Injectable Form of Platelet Rich Fibrin. *Oral Maxillofac Surg*. **2020**.(Baskıda)

132. **Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, et al.** Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Res Tech*. **2011**;74(8): 772-7.

133. **Tsujino T, Masuki H, Nakamura M, Isobe K, Kawabata H, et al.** Striking Differences in Platelet Distribution between Advanced-Platelet-Rich Fibrin and Concentrated Growth Factors: Effects of Silica-Containing Plastic Tubes. *J Funct Biomater*. **2019**;10(3): 43.

134. **Löe H**. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J Periodontol*. **1967**;38(6): Suppl:610-6.

135. **Ainamo J, Bay I**. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. **1975**;25(4): 229-35.

136. **Ramfjord SP, Nissle RR, Shick RA, Cooper H, Jr.** Subgingival curettage versus surgical elimination of periodontal pockets. *J Periodontol*. **1968**;39(3): 167-75.

137. **Hujoel PP, DeRouen TA**. Validity issues in split-mouth trials. *J Clin Periodontol*. **1992**;19(9 Pt 1): 625-7.

138. **Hujoel PP, Loesche WJ**. Efficiency of split-mouth designs. *J Clin Periodontol*. **1990**;17(10): 722-8.

139. **Palm AM, Kirkegaard U, Poulsen S**. The wand versus traditional injection for mandibular nerve block in children and adolescents: perceived pain and time of onset. *Pediatr Dent*. **2004**;26(6): 481-4.

140. **Haukali G, Poulsen S**. Effect of a varnish containing chlorhexidine and thymol (Cervitec) on approximal caries in 13- to 16-year-old schoolchildren in a low caries area. *Caries Res*. **2003**;37(3): 185-9.

141. **Kanasi E, Ayilavarapu S, Jones J**. The aging population: demographics and the biology of aging. *Periodontol 2000*. **2016**;72(1): 13-8.

142. **Angleman SB, Santoni G, Von Strauss E, Fratiglioni L**. Temporal trends of functional dependence and survival among older adults from 1991 to 2010 in Sweden: toward a healthier aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. **2015**;70(6): 746-52.

143. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Trends in aging--United States and worldwide. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. **2003**;52(6): 101-6.

144. **Barzilai N, Bartke A**. Biological approaches to mechanistically understand the healthy life span extension achieved by calorie restriction and modulation of hormones. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. **2009**;64(2): 187-91.

145. **Müller F, Naharro M, Carlsson GE**. What are the prevalence and incidence of tooth loss in the adult and elderly population in Europe? *Clin Oral Implants Res*. **2007**;18 Suppl 3: 2-14.

146. **Smith SM, Zwart SR, Heer MA, Baecker N, Evans HJ, et al.** Effects of artificial gravity during bed rest on bone metabolism in humans. *J Appl Physiol (1985)*. **2009**;107(1): 47-53.

147. **Bikle DD, Halloran BP, Morey-Holton E**. Space flight and the skeleton: lessons for the earthbound. *Endocrinologist*. **1997**;7(1): 10-22.

148. **Smith SM, Abrams SA, Davis-Street JE, Heer M, O'Brien KO, et al.** Fifty years of human space travel: implications for bone and calcium research. *Annu Rev Nutr*. **2014**;34: 377-400.

149. **Lueken SA, Arnaud SB, Taylor AK, Baylink DJ**. Changes in markers of bone formation and resorption in a bed rest model of weightlessness. *J Bone Miner Res*. **1993**;8(12): 1433-8.

150. **Wang RE, Lang NP**. Ridge preservation after tooth extraction. *Clin Oral Implants Res*. **2012**;23 Suppl 6: 147-56.

151. **Pietrokovski J, Starinsky R, Arensburg B, Kaffe I**. Morphologic characteristics of bony edentulous jaws. *J Prosthodont*. **2007**;16(2): 141-7.

152. **Gehrke SA, Tavares da Silva Neto U**. Does the time of osseointegration in the maxilla and mandible differ? *J Craniofac Surg*. **2014**;25(6): 2117-20.

153. **Urban IA, Monje A, Lozada JL, Wang HL**. Long-term Evaluation of Peri-implant Bone Level after Reconstruction of Severely Atrophic Edentulous Maxilla via Vertical and Horizontal Guided Bone Regeneration in Combination with Sinus Augmentation: A Case Series with 1 to 15 Years of Loading. *Clin Implant Dent Relat Res*. **2017**;19(1): 46-55.

154. **Perrin D, Szmukler-Moncler S, Echikou C, Pointaire P, Bernard JP**. Bone response to alteration of surface topography and surface composition of sandblasted and acid etched (SLA) implants. *Clin Oral Implants Res*. **2002**;13(5): 465-9.

155. **Macedo JP, Pereira J, Vahey BR, Henriques B, Benfatti CAM, et al.** Morse taper dental implants and platform switching: The new paradigm in oral implantology. *Eur J Dent*. **2016**;10(1): 148-54.

156. **Gupta S, Sabharwal R, Nazeer J, Taneja L, Choudhury BK, et al.** Platform switching technique and crestal bone loss around the dental implants: A systematic review. *Ann Afr Med*. **2019**;18(1): 1-6.

157. **Hsu YT, Lin GH, Wang HL**. Effects of Platform-Switching on Peri-implant Soft and Hard Tissue Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2017**;32(1): e9-e24.

158. **Aslam A, Hassan SH, Aslam HM, Khan DA**. Effect of platform switching on peri-implant bone: A 3D finite element analysis. *J Prosthet Dent*. **2019**;121(6): 935-40.

159. **Lazzara RJ, Porter SS**. Platform switching: a new concept in implant dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels. *Int J Periodontics Restorative Dent*. **2006**;26(1): 9-17.

160. **Veis A, Parissis N, Tsirlis A, Papadeli C, Marinis G, et al.** Evaluation of peri-implant marginal bone loss using modified abutment connections at various crestal level placements. *Int J Periodontics Restorative Dent*. **2010**;30(6): 609-17.

161. **Qian J, Wennerberg A, Albrektsson T**. Reasons for marginal bone loss around oral implants. *Clin Implant Dent Relat Res*. **2012**;14(6): 792-807.

162. **Suárez-López Del Amo F, Lin GH, Monje A, Galindo-Moreno P, Wang HL**. Influence of Soft Tissue Thickness on Peri-Implant Marginal Bone Loss: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Periodontol*. **2016**;87(6): 690-9.

163. **Merheb J, Quirynen M, Teughels W**. Critical buccal bone dimensions along implants. *Periodontol 2000*. **2014**;66(1): 97-105.

164. **Testori T, Weinstein T, Scutellà F, Wang HL, Zucchelli G**. Implant placement in the esthetic area: criteria for positioning single and multiple implants. *Periodontol 2000*. **2018**;77(1): 176-96.

165. **Spray JR, Black CG, Morris HF, Ochi S**. The influence of bone thickness on facial marginal bone response: stage 1 placement through stage 2 uncovering. *Ann Periodontol*. **2000**;5(1): 119-28.

166. **van Eekeren PJ, Tahmaseb A, Wismeijer D**. Crestal Bone Changes Around Implants with Implant-Abutment Connections at Epicrestal Level or Above: Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2016**;31(1): 119-24.

167. **Linkevicius T, Puisys A, Steigmann M, Vindasiute E, Linkeviciene L**. Influence of Vertical Soft Tissue Thickness on Crestal Bone Changes Around Implants with Platform Switching: A Comparative Clinical Study. *Clin Implant Dent Relat Res*. **2015**;17(6): 1228-36.

168. **Bozkurt Doğan Ş, Öngöz Dede F, Ballı U, Atalay EN, Durmuşlar MC**. Concentrated growth factor in the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a split-mouth randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. **2015**;42(9): 868-75.

169. **Kuka S, Ipci SD, Cakar G, Yılmaz S**. Clinical evaluation of coronally advanced flap with or without platelet-rich fibrin for the treatment of multiple gingival recessions. *Clin Oral Investig*. **2018**;22(3): 1551-8.

170. **Öncü E**. The Use of Platelet-Rich Fibrin Versus Subepithelial Connective Tissue Graft in Treatment of Multiple Gingival Recessions: A Randomized Clinical Trial. *Int J Periodontics Restorative Dent*. **2017**;37(2): 265-71.

171. **López Roldán A, García Giménez JL, Alpiste Illueca F**. Impact of periodontal treatment on the RANKL/OPG ratio in crevicular fluid. *PLoS One*. **2020**;15(1): e0227757.

172. **Taylor JJ**. Cytokine regulation of immune responses to Porphyromonas gingivalis. *Periodontol 2000*. **2010**;54(1): 160-94.

173. **Dutta SR, Passi D, Singh P, Atri M, Mohan S, et al.** Risks and complications associated with dental implant failure: Critical update. *Natl J Maxillofac Surg*. **2020**;11(1): 14-9.

174. **Araujo MG, Lindhe J**. Peri-implant health. *J Periodontol*. **2018**;89 Suppl 1: S249-s56.

175. **Renvert S, Persson GR, Pirih FQ, Camargo PM**. Peri-implant health, peri-implant mucositis, and peri-implantitis: Case definitions and diagnostic considerations. *J Clin Periodontol*. **2018**;45 Suppl 20: S278-s85.

176. **Pellegrini G, Francetti L, Barbaro B, Del Fabbro M**. Novel surfaces and osseointegration in implant dentistry. *J Investig Clin Dent*. **2018**;9(4): e12349.

177. **Raghavendra S, Wood MC, Taylor TD**. Early wound healing around endosseous implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2005**;20(3): 425-31.

178. **Han J, Lulic M, Lang NP**. Factors influencing resonance frequency analysis assessed by Osstell mentor during implant tissue integration: II. Implant surface modifications and implant diameter. *Clin Oral Implants Res*. **2010**;21(6): 605-11.

179. **Cha JY, Pereira MD, Smith AA, Houschyar KS, Yin X, et al.** Multiscale analyses of the bone-implant interface. *J Dent Res*. **2015**;94(3): 482-90.

180. **Wang L, Wu Y, Perez KC, Hyman S, Brunski JB, et al.** Effects of Condensation on Peri-implant Bone Density and Remodeling. *J Dent Res*. **2017**;96(4): 413-20.

181. **Lozano-Carrascal N, Salomó-Coll O, Gilabert-Cerdà M, Farré-Pagés N, Gargallo-Albiol J, et al.** Effect of implant macro-design on primary stability: A prospective clinical study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. **2016**;21(2): e214-21.

182. **Aparicio C, Lang NP, Rangert B**. Validity and clinical significance of biomechanical testing of implant/bone interface. *Clin Oral Implants Res*. **2006**;17 Suppl 2: 2-7.

183. **Gultekin BA, Sirali A, Gultekin P, Ersanli S**. Clinical evaluation of the stability of implants placed at different supracrestal levels. *J Istanb Univ Fac Dent*. **2016**;50(3): 21-31.

184. **Di Stefano DA, Arosio P, Pagnutti S, Vinci R, Gherlone EF**. Distribution of Trabecular Bone Density in the Maxilla and Mandible. *Implant Dent*. **2019**;28(4): 340-8.

185. **Meffert RM**. Maxilla vs mandible: why use HA? *Compend Suppl*. **1993**;15): S533-8; quiz S65-6.

186. **Masuki H, Okudera T, Watanebe T, Suzuki M, Nishiyama K, 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) *Int J Implant Dent*. **2016**;2(1):19.

187. **Özveri Koyuncu B, İçpınar Çelik K, Özden Yüce M, Günbay T, Çömlekoğlu ME**. The role of concentrated growth factor on implant stability: A preliminary study. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. **2020**;121(4): 363-7.

188. **Fuster-Torres M, Peñarrocha-Diago M, Peñarrocha-Oltra D, Peñarrocha-Diago M**. Relationships between bone density values from cone beam computed tomography, maximum insertion torque, and resonance frequency analysis at implant placement: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **2011**;26(5): 1051-6.

189. **Oh JS, Kim SG**. Clinical study of the relationship between implant stability measurements using Periotest and Osstell mentor and bone quality assessment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. **2012**;113(3): e35-40.

190. **Kim IH, Son JS, Choi SH, Kim KH, Kwon TY.** Nano- and Micro-Scale Oxidative Patterning of Titanium Implant Surfaces for Improved Surface Wettability. J Nanosci Nanotechnol. **2016**;16(2):1883-6.

191. **Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV**. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury*. **2005**;36(12): 1392-404.

192. **Gravallese EM, Manning C, Tsay A, Naito A, Pan C, et al.** Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum*. **2000**;43(2): 250-8.

193. **Cochran DL**. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*. **2008**;79(8 Suppl): 1569-76.

194. **Kong YY, Boyle WJ, Penninger JM**. Osteoprotegerin ligand: a regulator of immune responses and bone physiology. *Immunol Today*. **2000**;21(10): 495-502.

195. **Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, et al.** Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J Bone Miner Res*. **2001**;16(6): 1004-14.

196. **Wang B, Jin H, Shu B, Mira RR, Chen D**. Chondrocytes-Specific Expression of Osteoprotegerin Modulates Osteoclast Formation in Metaphyseal Bone. *Sci Rep*. **2015**;5: 13667.

197. **Marsell R, Einhorn TA**. The biology of fracture healing. *Injury*. **2011**;42(6): 551-5.

198. **Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, et al.** The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev*. **2004**;15(6): 457-75.

199. **Ai-Aql ZS, Alagl AS, Graves DT, Gerstenfeld LC, Einhorn TA**. Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. *J Dent Res*. **2008**;87(2): 107-18.

200. **Haynes DR, Crotti TN, Zreiqat H**. Regulation of osteoclast activity in peri-implant tissues. *Biomaterials*. **2004**;25(20): 4877-85.

201. **Kim TH, Kim SH, Sándor GK, Kim YD**. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Arch Oral Biol*. **2014**;59(5): 550-8.

202. **Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. **2006**;101(3): e45-50.

203. **Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, et al.** Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Investig*. **2016**;20(9): 2353-60.

204. **Alhasyimi AA, Pudyani PP, Asmara W, Ana ID**. Enhancement of post-orthodontic tooth stability by carbonated hydroxyapatite-incorporated advanced platelet-rich fibrin in rabbits. *Orthod Craniofac Res*. **2018**;21(2): 112-8.

205. **Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, et al.** Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clin Oral Investig*. **2017**;21(6): 1913-27.

206. **Isobe K, Watanebe T, Kawabata H, Kitamura Y, Okudera T, et al.** Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor plasma-derived fibrin (PPTF). *Int J Implant Dent*. **2017**;3(1): 17.

207. **Takahashi A, Tsujino T, Yamaguchi S, Isobe K, Watanabe T, et al.** Distribution of platelets, transforming growth factor-β1, platelet-derived growth factor-BB, vascular endothelial growth factor and matrix metalloprotease-9 in advanced platelet-rich fibrin and concentrated growth factor matrices. *J Investig Clin Dent*. **2019**;10(4): e12458.

208. **Sato A, Kawabata H, Aizawa H, Tsujino T, Isobe K, et al.** Distribution and quantification of activated platelets in platelet-rich fibrin matrices. *Platelets*. **2020**;1-6.

209. **Aizawa H, Tsujino T, Watanabe T, Isobe K, Kitamura Y, et al.** Quantitative Near-Infrared Imaging of Platelets in Platelet-Rich Fibrin (PRF) Matrices: Comparative Analysis of Bio-PRF, Leukocyte-Rich PRF, Advanced-PRF and Concentrated Growth Factors. *Int J Mol Sci*. **2020**;21(12): 4426.

210. **Insua A, Monje A, Wang HL, Miron RJ**. Basis of bone metabolism around dental implants during osseointegration and peri-implant bone loss. *J Biomed Mater Res A*. **2017**;105(7): 2075-89.

211. **Chan JK, Glass GE, Ersek A, Freidin A, Williams GA, et al.** Low-dose TNF augments fracture healing in normal and osteoporotic bone by up-regulating the innate immune response. *EMBO Mol Med*. **2015**;7(5): 547-61.

212. **Kargarpour Z, Nasirzade J, Strauss FJ, Di Summa F, Hasannia S, et al.** Platelet-rich fibrin suppresses in vitro osteoclastogenesis. *J Periodontol*. **2020**;91(3): 413-21.

213. **Chen X, Garner SC, Quarles LD, Anderson JJ**. Effects of genistein on expression of bone markers during MC3T3-E1 osteoblastic cell differentiation. *J Nutr Biochem*. **2003**;14(6): 342-9.

214. **Clark RA**. Fibrin and wound healing. *Ann N Y Acad Sci*. **2001**;936: 355-67.

215. **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.

216. **Sumida R, Maeda T, Kawahara I, Yusa J, Kato Y**. Platelet-rich fibrin increases the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-κB ligand ratio in osteoblasts. *Exp Ther Med*. **2019**;18(1): 358-65.

217. **Liang ZJ, Lu X, Li DQ, Liang YD, Zhu DD, et al.** Precise Intradermal Injection of Nanofat-Derived Stromal Cells Combined with Platelet-Rich Fibrin Improves the Efficacy of Facial Skin Rejuvenation. *Cell Physiol Biochem*. **2018**;47(1): 316-29.

218. **Nasirzade J, Kargarpour Z, Hasannia S, Strauss FJ, Gruber R**. Platelet-rich fibrin elicits an anti-inflammatory response in macrophages in vitro. *J Periodontol*. **2020**;91(2): 244-52.

219. **Zhuang Z, Yoshizawa-Smith S, Glowacki A, Maltos K, Pacheco C, et al.** Induction of M2 Macrophages Prevents Bone Loss in Murine Periodontitis Models. *J Dent Res*. **2019**;98(2): 200-8.

220. **Marahleh A, Kitaura H, Ohori F, Kishikawa A, Ogawa S, et al.** TNF-α Directly Enhances Osteocyte RANKL Expression and Promotes Osteoclast Formation. *Front Immunol*. **2019**;10: 2925.

EKLER

EK 1. Aydınlatılmış Onam Formu

T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ ETİK KURULU
Gönüllülerin Bilgilendirilmiş Olur / (Rıza) Formu

Araştırmanın Konusu: Geliştirilmiş trombositten zengin fibrin ve konsantre büyüme faktörü sıvılarının dental implant osseointegrasyonu üzerine olan etkilerinin incelenmesi
Araştırmanın Amacı: Aynı ağızda iki farklı yöntem ile uygulanan dental implantların osteointegrasyon belirteçlerini hem klinik hem de biyokimyasal düzeyde incelemek
Araştırmaya Katılma Süresi: 18 ay
Araştırmaya Katılacak Yaklaşık Gönüllü Sayısı: 40

Sayın Gönüllü;

Bu çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız. Periodontoloji Anabilim Dalı'nda dental implant uygulanan hastalarda kandan elde edilen konsantre büyüme faktörü (CGF) veya geliştirilmiş trombositten zengin plazma (A-PRF) sıvılarının dental implant yüzeyi ve soketine uygulanmasıyla implant başarısı üzerine olan etkileri araştırılacaktır. Bu iki yöntemden hangisinin uygulanacağı kura ile belirlenecektir. Seçilen yöntemlerden biri ile çenenizdeki eksik dişin yerine bir implant yerleştirilirken diğer tarafa ise implant yüzeyi ve implant yuvasına dokunmadan ve herhangi bir materyal uygulaması yapılmadan standart teknik ile bir implant yerleştirilecektir. Uygulanacak her iki yöntem için sağ veya sol kolunuzdaki damardan bir tüp (yaklaşık 10 ml) kan alınacaktır. Cerrahi operasyonu takiben 2. hafta, 4. hafta ve 3. ay kontrollerinizde implantların çevresindeki fırçalama durumunuz, dişeti sağlığınıza ilişkin ölçümler yapılacak, implantın kemik ile olan iyileşme durumunu analiz etmek için kağıt materyaller ile implant çevresinden sızan sıvı örnekleri alınacaktır. Ayrıca kemik ile implant bağlantısını 3. ayda alınacak bir radyografi ile muayene edeceğiz.

Yapılacak ölçümlerin getireceği herhangi bir risk bulunmamaktadır. Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz, reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına sahipsiniz ve çalışmadan ayrılabilirsiniz. Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak

çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir.

Yukarıdaki, araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri içeren metni okudum. Bana, tanık huzurunda aşağıda konusu belirtilen araştırmayla ilgili yazılı ve sözlü açıklama yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı ve katılmama hakkımın olduğunu, araştırma başladıktan sonra devam etmeyi istememe hakkına sahip olduğum gibi kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Bu koşullarda söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, kendi rızam ile katılmayı kabul ediyorum

GÖNÜLLÜ	
Adı Soyadı: Adresi:	Telefon :(0) Faks : (0)
Bilgi Verebilecek Kişi:	İmza
VELİ, VASİ VEYA VEKİL (18 yaşından küçük olanlar için)	
Adı Soyadı: Adresi:	Telefon : (0) Faks : (0)
Yakınlığı:	İmza:
ARAŞTIRMACI	
Adı Soyadı: Muhammet ATILGAN Adresi: Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı	Telefon : Faks : İmza
GEREKTİĞİNDE GÖNÜLLÜ VEYA YAKININ BAŞVURABİLECEĞİ KİŞİ:	
Adı Soyadı: Osman Fatih ARPAĞ Adresi: Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı	Telefon : Faks : İmza
TANIK:	
Adı Soyadı: Görevi Adresi:	Telefon : (0) Faks :(0) İmza

EK 2. Çalışma Takip Formu

ÇALIŞMA TAKİP FORMU

Hastanın Adı-Soyadı: Sıra No:

Cinsiyeti

Yaşı:

Tarih:

İmplant bölgesi (çap-boy ve çalışma grubu ile birlikte)

……Grubu							…… Grubu						
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

CEP DERİNLİĞİ

Bölge	**Sağ**		**Sol**		**Sağ**	**Sol**
Ziyaret	mb	db	mb	db	Ortalama	Ortalama
2. hf						
4. hf						
3. ay						
Ziyaret	ml	dl	ml	dl		

(ml;mesiolingual, mb; mesiobukkal, db; distobukkal, dl;distolingual)

PLAK İNDEKSİ

Ziyaret	Sağ	Sol
2. hf		
4. hf		
3. ay		

GİNGİVAL İNDEKS

Ziyaret	Sağ	Sol
2. hf		
4. hf		
3. ay		

(Plak ve gingival indeks için implantın 4 yüzeyinden elde edilen değerler toplamı yazılacaktır)

GİNGİVAL KANAMA İNDEKSİ

Ziyaret	Sağ	Sol
2. hf		
4. hf		
3. ay		

(kanama varsa +, yoksa -)

MARJİNAL KEMİK KAYBI

Yönü	Sağ	Sol
Mezial		
Distal		

DOS PERİOTRON DEĞERLERİ

Ziyaret	Sağ		Sol	
	M	D	M	D
2. hf				
4. hf				
3. ay				

(mezial ve distalden alınan iki örneğin ortalama değeri hemen altına kaydedilecektir)

ÇALIŞMANIN İŞLEYİŞİ

- Hasta bilgileri kaydedilecektir
- Örnekleme yapılacak implant bölgesinin izolasyonu sağlanacak ve mezial ve distal açıdan birer adet olmak üzere periopaper stripler ile 30 sn boyunca dişeti oluğu sıvısı elde edilecektir.
- Ayrı ayrı elde edilen DOS emdirilmiş kâğıtlar Periotron 8010 cihazında değerlendirilecek ve vakit kaybetmeden boş eppendorf tüplerine konulacak ve -80 ^{o}C'de dondurulacaktır. (Her bir hasta için iki adet eppendorf muhafaza edilecektir. Kodlama yaparken hastanın sıra numarası ve çalışma grubu harfleri kullanılacaktır. Örneğin; hasta sıra numarası 1 olduğunu varsayalım. Kontrol grubu için "K", CGF grubu için "C", A-PRF grubu için "A" kısaltmaları kullanılacaktır. Zaman aralıklarına göre 2. hafta ölçümü için 1, 4. hafta ölçümü için 2, 3. ay ölçümü için 3 rakamı kullanılacaktır. Bu nedenle ilk kez ölçüme gelen bir hastanın kontrol bölgesinden alınan örneklerin muhafaza edildiği eppendorf tüp üzerine $1K_1$ yazılacaktır)
- Örnekleme işlemi bittikten sonra periodontal sonda yardımı ile cep derinliği, plak indeksi, kanama indeksi ve gingival indeks skorları kaydedilecektir.
- 3 ay sonra radyografik olarak implantın koronal kısmından krestal kemiğe kadar mezial ve distal yönden yükseklik ölçümü yapılacaktır.

EK 3. Etik Kurul Onayı

HATAY MKÜ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Dental implantların geliştirilmiş trombositten zengin fibrin ve konsantre büyüme faktörü sıvıları ile kombine uygulamasının dişeti oluğu sıvısındaki RANKL, OPG, sclerostin ve TNF-alfa düzeyleri üzerine olan etkilerinin incelenmesi
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	**2019/119**

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	03/10/2019-135	1	Türkçe ✓ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU		1	Türkçe ✓ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	SİGORTA	☐	
		☐	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: 04**	**Tarih: 03/10/2019**	
	KARAR 04- Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Dr.Öğr. Üyesi Osman Fatih ARPAĞ'ın "Dental implantların geliştirilmiş trombositten zengin fibrin ve konsantre büyüme faktörü sıvıları ile kombine uygulamasının dişeti oluğu sıvısındaki RANKL, OPG, sclerostin ve TNF-alfa düzeyleri üzerine olan etkilerinin incelenmesi" isimli çalışmasının görüşülmesi; isimli çalışması görüşülmüş olup; çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve etik kurallara uygun bulunmuş olup; çalışmanın finans kaynağı olarak gösterilen, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nden (BAP) çalışmanın maddi olarak desteklendiğine dair alınan belgelerin Kurulumuza ulaştıktan sonra Çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.		

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	**PROF.DR.NAZAN SAVAŞ**

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım		İmza
Prof.Dr..Nazan SAVAŞ	Halk Sağlığı	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E ☐	K ✓	E ☐	H ✓	E ✓	H ☐	
Prof.Dr.Aydıner KALACI	Ortopedi ve Travmatoloji	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E ✓	K ☐	E ☐	H ✓	E ✓	H ☐	
Prof.Dr.Burçin ÖZER	Tıbbi Mikrobiyoloji	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E ☐	K ✓	E ☐	H ✓	E ✓	H ☐	
Prof.Dr.Taşkın DUMAN	Nöroloji Anabilim Dalı	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E ✓	K ✓	E ☐	H ✓	E ☐	H ✓	Katılmadı

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı Prof.Dr.Nazan SAVAŞ
İmza:

ASLI GİBİDİR
Üyer Sedat BORAZAN
Etik Kurul Sekreteri

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

ÖZGEÇMİŞ