

T.C
ORDU ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ



**PERİODONTAL HASTALIĞA SEBEP OLAN
PERİODONTAL PATOJENLERİN KlorHEKZİDİN
KARBON DOT BAĞLI KİTOSAN NANOPARTİKÜLLER
İLE ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

KUDRET SARI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Varol ÇANAKÇI

ORDU-2023

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

**PERİODONTAL HASTALIĞA SEBEP OLAN PERİODONTAL
PATOJENLERİN KLOORHEKZİDİN KARBON DOT BAĞLI
KİTOSAN NANOPARTİKÜLLER İLE ANTİBAKTERİYEL
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

Araş.Gör.Dt. Kudret SARI

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 23.05.2023

Jüri Üyesi (Tez Danışmanı) : Prof. Dr. Varol ÇANAKÇI

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Figen ÖNGÖZ DEDE

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Ceren GÖKMENOĞLU

Dekan : Prof. Dr. Varol ÇANAKÇI

ORDU-2023

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Araş.Gör.Dt. Kudret SARI

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin her aşamasında ilgi ve desteğini esirgmeden yanımda olan tez danışmanım ve değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Varol ÇANAKÇI**'ya,

Klinik ve akademik birikimleri ile uzmanlık eğitimime yön veren, bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman paylaşmaktan çekinmeyen değerli hocam Sayın **Doç. Dr. Figen ÖNGÖZ DEDE**'ye,

Uzmanlık eğitimim boyunca, derin bilgi ve tecrübesini her daim paylaşarak bana yol gösteren değerli hocam Sayın **Doç. Dr. Ceren GÖKMENOĞLU**'na,

Tez yazma sürecinde gerek bilgisini gerek emeğini gerekse samimiyetini benden esirgemeyen Sayın **Dr. Hasan İLHAN**'a

Bilgisi, tecrübesi ve emeği ile yanımda olan Sayın **Prof. Dr. Ülkü KARAMAN**'a

Beraber girdiğimiz bu yolda bana kader arkadaşı olan, gerek klinik gerek akademik hayatımda bilgi ve tecrübesi ile yanımda olan, bana ilham ve motivasyon veren değerli arkadaşım **Büşra HACISALİHOĞLU**'na

Tanıdığım günden itibaren ihtiyacım olduğunda ya da olmadığında bana her türlü desteğini ve arkadaşlığını esirgemeyen arkadaşım **Arş. Gör. Dt. Ramazan BULUT**'a,

Çalışmalarımın yürütülmesinde bana destek olan, yardımlarını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm Periodontoloji Anabilim Dalı Asistanları ve çalışanlarına,

Hayatım boyunca beni her alanda maddi ve manevi olarak destekleyen aileme ve tezimin hazırlanması sırasında emeği geçen herkese,

EN İÇTEN TEŞEKKÜRLERİMLE...

ÖZET

PERİODONTAL HASTALIĞA SEBEP OLAN PERİODONTAL PATOJENLERİN KLORHEKSİDİN KARBON DOT BAĞLI KİTOSAN NANOPARTİKÜLLER İLE ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ

Amaç: Periodontitis, halk sağlığını tehdit eden yaygın bir oral enfeksiyon hastalığıdır. Gerek mekanik tedavi gerekse mekanik tedaviye ek olarak uygulanan yardımcı tedavi yöntemleri ile periodontitis hastaları tedavi edilmeye çalışılmakta olmasına rağmen mevcut durum henüz net bir başarı sağlama noktasına varmaktan uzaktır.

Altın standart olan mekanik tedaviye ek olarak bugüne kadar sistemik antibiyotikler, antiseptik gargaralar, lokal antimikrobiyal ajanlar, konak modülasyon yöntemleri gibi birçok tedavi yöntemi üzerinde durulmuş ve bunlardan belirli ölçülerde yarar sağlanmıştır. Ancak hem bazı tedavi yöntemlerinin istenmeyen yan etkilere neden olması hem de başka etkenlerden dolayı istenen antimikrobiyal etkinlik seviyesine çıkılamaması, günümüzde yeni tedavi yöntemi arayışına sebep olmuştur.

Birçok alanda olduğu gibi nanoteknoloji, diş hekimliği ve özellikle periodontitis ile mücadele alanında da artık kendisine oldukça büyük bir yer bulmaya başlamıştır. Klasik medikamanların bakteriye direnç gelişimi, istenmeyen sistemik etkiler, ilacın hedef bölgede yeterli konsantrasyona ulaşamaması gibi bilinen birçok dezavantajı, nanopartiküller ile uygulanan tedavilerde ortadan kalkmış durumdadır.

Biz yaptığımız bu çalışma ile nano düzeyde sentezlemiş olduğumuz Klorheksidin Karbon Dot bağlı Kitosan nanopartiküllerini, periodontal yıkımlara sebep olan mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ajan olarak kullanmayı, bu sayede klasik medikamanların zayıf terapötik etki, istenmeyen yan gibi dezavantajlarını devre dışı bırakmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Öncelikle nihahi antibakteriyel ajanımız olan Klorheksidin Karbon Dot bağlı Kitosan Nanopartikül sentezi gerçekleştirildi.

Bunun için ilk olarak %0,02 gr Klorheksidin Glukonat ve 0,2 g Sodyum Sitrik Asit, belirli işlemlere tabi tutularak Klorheksidin Karbon Dot sentezi gerçekleştirildi.

Kitosan nanopartiküllerin bottom-up sentezi, daha önce Calvo ve arkadaşları (Calvo ve ark.. 1997) tarafından tarif edildiği gibi iyonik jelleşme yöntemi kullanılarak ancak üzerinde küçük modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirildi. Kitosan nanoparçacıkları, iyonotropik jelleşme yönteminde bir iyonik çapraz bağlayıcı kullanılarak tasarlandı. Genel olarak, iyonik çapraz bağlayıcı olarak tripolifosfat (TPP) kullanıldı. Bu işlem yapılırken ortama daha önce sentezlenmiş olan Klorheksidin Karbon Dot bileşeni de koyuldu ve Kitosanın nano boyuta geçerken Klorheksidin Karbon Dot bileşiklerini de içinde ya da yüzeyinde hapsedmesi sağlandı. Böylece Klorheksidin Karbon Dot bağlı Kitosan (CHX-CD/CS) nanopartiküller sentezlenmiş oldu.

Ardından *Streptococcus salivarius* ATCC 13419, *Streptococcus mutants* ATCC 35668: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* DSM 111263, *Provetella intermedia* DMS 20706 izolatları kullanıldı. Standart bakteri izolatları derin dondurucudan çıkartılarak oda ısısında bekletilerek çözüldü. Kanlı agar (Merck) ve Eosin Methylene Blue Agar (EMB, Merck) besiyerleri kullanılarak 37°C’de bir gece inkübe edilerek bakteriler canlandırıldı ve saflık kontrolleri yapıldı.

Sentezlemiş olduğumuz CHX-CD/CS nanopartiküllerinin, bu bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinliğini ve her bir bakteri için Minimum İnhibitör Konsantrasyon değerlerini öğrenmek için Muller–Hinton Broth (MHB, Merck,) sıvı besiyeri kullanılarak çift kat seri sulandırım mikrodilüsyon sıvı test metodu (Broth Mikrodilüsyon Yöntemi) kullanıldı.

Bulgular: CHX-CD/CS nanopartiküllerin karakterizasyon analiz bulgularına erişmek için öncelikle nanopartiküllerin karakteristik UV-vis spektrumlarına bakılmıştır. Hem CHX-CD hem de CHX-CD/CS nanopartiküllerinin ayrı ayrı UV-vis absorpsiyon spektrumları karşılaştırılmış ve elde edilen sonuçlar nano malzememizin,

iki malzemenin karışımı olan tek dağılımlı bütün bir nanomalzeme olduğunu göstermiştir.

Malzememizin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) analiz sonuçları elde edilmiş ve ilgili verilerle SEM-EDX Element analizi ve SEM Elemental Haritalandırma yapılmıştır. Bu teknikler ile malzememizde bulunan C,O,N,Cl elementlerinin oran ve dağılım bulguları elde edilmiştir.

Geçirmeli Elektron mikroskobuna (TEM) göre, esas olarak tek dağılmış CHX-CD/CS nanopartiküllerinin küresel yapıda oldukları ve çaplarının 20-30 nm arasında olduğu görülmüştür. Sonuç olarak sentezlenen nanopartiküllerin nano boyutta başarılı bir şekilde sentezlendiği doğrulanmıştır.

Sonuç: Streptococcus Salivarius, Streptococcus Mutans ve Prevotella İntermedia bakterilerinin bulunduğu oyuntu sıralarında, oyuntulara uygulanan CHX-CD/CS nanopartikül solüsyon konsantrasyonları 10. oyuntudan 1. oyuntuya doğru düzenli olarak artmış olmasına rağmen, ancak 2. oyuntuda MİK değerine ulaşılabilmiştir.

Bu üç bakteri için, bizim sentezlemiş olduğumuz CHX-CD/CS nanopartiküler antibakteriyel ajanın MİK değeri 2500 µg/ml olarak bulunmuştur.

Aggregatibacter Actinomyhetemcomitans (A.a) bakterisinin bulunduğu sırada ise MİK değeri 19,5 µg/ml olarak saptanmıştır.

Elde edilen bulgular, nano düzeyde sentezlemiş olduğumuz terapötik ajanımızın Aggregatibacter Actinomyhetemcomitans bakterisine karşı oldukça etkili olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: periodontitis, periodontal patojen bakteriler, periodontal tedavi, klorheksidin, nano partikül, karbon dot nanopartikül, kitosan nanopartikül

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS OF CHLORHEXIDIN CARBON DOT LOADED CHITOSAN NANOPARTICLES AGAINST PERIODONTAL PATHOGENS TO CAUSE PERIODONTAL DISEASE

Aim: Periodontitis is a common oral infectious disease that threatens public health. Although efforts are being made to treat periodontitis patients with both mechanical treatment and auxiliary treatment methods applied in addition to mechanical treatment, the current situation is far from achieving a clear success.

In addition to the gold standard mechanical treatment, many treatment methods such as systemic antibiotics, antiseptic mouthwashes, local antimicrobial agents, and host modulation methods have been discussed and some benefit has been obtained from them. However, the fact that some treatment methods cause undesirable side effects and that the desired antimicrobial activity level cannot be reached due to other factors has led to the search for new treatment methods today.

As in many fields, nanotechnology has started to find a place for itself in dentistry and especially in the fight against periodontitis. Many of the known disadvantages of classical medicaments, such as the development of bacterial resistance, undesirable systemic effects, and the inability of the drug to reach sufficient concentration in the target region, have disappeared in the treatments applied with nanoparticles.

In this study, we aimed to use Chlorhexidine Carbon Dot-linked Chitosan nanoparticles, which we synthesized at the nano level, as an antibacterial agent against microorganisms that cause periodontal destruction, thus eliminating the disadvantages of classical medicaments such as weak therapeutic effect and undesirable side effects.

Material and Methods: First of all, our final antibacterial agent Chlorhexidine Carbon Dot loaded Chitosan Nanoparticle synthesis was performed.

For this, firstly, 0.02% g Chlorhexidine Gluconate and 0.2 g Sodium Citric Acid were subjected to certain processes and Chlorhexidine Carbon Dot synthesis was carried out.

Bottom-up synthesis of chitosan nanoparticles was performed using the ionic gelation method as previously described by Calvo et al. (Calvo et al. 1997), but with minor modifications. Chitosan nanoparticles were designed using an ionic crosslinker in the ionotropic gelation method. Generally, tripolyphosphate (TPP) was used as the ionic crosslinker. While this process was being done, the previously synthesized Chlorhexidine Carbon Dot component was also added to the environment and it was ensured that the Chlorhexidine Carbon Dot compounds were trapped inside or on the surface while Chitosan went to nano size. In this way, Chlorhexidine Carbon Dot loaded Chitosan (CHX-CD/CS) nanoparticles were synthesized.

Then, isolates of *Streptococcus salivarius* ATCC 13419, *Streptococcus mutans* ATCC 35668, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* DSM 111263, *Prevotella intermedia* DMS 20706 were used. Standard bacterial isolates were removed from the freezer and thawed at room temperature. Bacteria were revived and purity controls were made by incubating overnight at 37°C using blood agar (Merck) and Eosin Methylene Blue Agar (EMB, Merck) media.

In order to learn the antibacterial activity of the CHX-CD/CS nanoparticles we synthesized on these bacteria and the Minimum Inhibitory Concentration values for each bacteria, a double-layer serial dilution microdilution liquid test method using Muller–Hinton Broth (MHB, Merck,) broth (Broth Microdilution Method)) was used.

Results: In order to reach the characterization analysis findings of CHX-CD/CS nanoparticles, the characteristic UV-vis spectra of the nanoparticles were examined first. The UV-vis absorption spectra of both CHX-CD and CHX-CD/CS nanoparticles were compared and the results showed that our nanomaterial is a monodisperse whole nanomaterial that is a mixture of two materials.

Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis results of our material were obtained and SEM-EDX Elemental Analysis and SEM Elemental Mapping were performed with the relevant data. With these techniques, the ratio and distribution findings of C,O,N,Cl elements in our material were obtained.

According to the Transmission Electron Microscopy (TEM), it was observed that mainly monodispersed CHX-CD/CS nanoparticles were spherical in shape and their diameters were between 20-30 nm. As a result, it was confirmed that the synthesized nanoparticles were successfully synthesized at the nanoscale.

Conclusions: Although the concentrations of CHX-CD/CS nanoparticle solution applied to the grooves in the gully lines where *Streptococcus Salivarius*, *Streptococcus Mutans* and *Prevotella Intemedia* bacteria were found regularly increased from the 10th to the 1st gully, the MIC value could only be reached in the 2nd gully.

For these three bacteria, the MIC value of the CHX-CD/CS nanoparticulate antibacterial agent we synthesized was found to be 2500 µg/ml.

The MIC value of *Aggregatibacter Actinomyhetemcomitans* (A.a) bacteria was determined as 19.5 µg/ml.

The findings show that our therapeutic agent, which we have synthesized at nano level, is highly effective against *Aggregatibacter Actinomyhetemcomitans* bacteria.

Keywords: periodontitis, periodontal pathogenic bacteria, periodontal therapy, chlorhexidine, nanoparticle, carbon dot nanoparticle, chitosan nanoparticles

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY.....	
TEZ BİLDİRİMİ.....	I
TEŞEKKÜR	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIII
TABLolar DİZİNİ	XVI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XVII
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1.Gingivitis.....	5
2.2.Periodontitis	5
2.2.1.Periodontal Hastalık Sınıflaması.....	6
2.2.1.1.Evrelleme ve Derecelendirme	8
2.3. Dental Biofilm ve Oluşumu	11
2.3.1. Non-Spesifik, Spesifik ve Ekolojik Plak Teorileri.....	14
2.3.1.1. Non-Spesifik Plak Teorisi	14
2.3.1.2. Spesifik Plak Teorisi	14
2.3.1.3. Ekolojik Plak Teorisi	14
2.4. Diş Taşı ve Oluşumu	15
2.5. Dental Plaktaki Önemli Patojen Bakteriler	17
2.5.1. Porphyromonas Gingivalis.....	17
2.5.2. Aggregatibacter Actinomycetemcomitans	20
2.5.2.1. Virulans Faktörleri	21
2.5.2.1.1. Demir Elde Etme.....	21
2.5.2.1.2. Adezyon	21
2.5.2.1.3. İnvazyon.....	22
2.5.2.1.4. Toksinler	23
2.5.2.1.5. Hücresel Mekanizmalar	25
2.5.3. Prevotella Intermedia	26
2.5.3.1. Virulans Faktörleri	26

2.5.3.1.1. İnterpain A	26
2.5.3.1.2. Nötrofil Oluşum ve Fonksiyon Bozukluğu	27
2.5.3.2. Solunum Sistemi Patolojileri.....	27
2.5.3.3. Ankilozan Spondilit	27
2.5.3.4. Prematüre Bebek ve Düşük Doğum Ağırlığı	28
2.5.4. Streptococcus Mutans	29
2.5.5. Streptococcus Salivarius	32
2.6. Periodontal Tedavi	34
2.6.1. Faz 1 Periodontal Tedavi	34
2.6.1.1. Oral Hijyen Eğitimi ve Risk Faktörlerinin Ortadan Kaldırılması.....	35
2.6.1.2. Mekanik Periodontal Tedavi	35
2.6.1.2.1. Supragingival Debridman	36
2.6.1.2.2. Subgingival Debridman	36
2.6.1.2.3. Sonik ve Ultrasonik Aletler.....	38
2.6.1.2.4. Air Polishing İşlemi	38
2.6.1.3. Mekanik Tedavide Nihai Hedef	39
2.6.1.3. Kemoterapötik Uygulamalar	39
2.6.1.3.1. Sistemik Antibiyotik Tedavisi	39
2.6.1.3.2. Lokal Antimikrobiyal Tedaviler	42
2.6.1.3.2.1. Ağız İrrigasyonu.....	45
2.6.1.3.2.2. Fiberler	45
2.6.1.3.2.2.1. Tetrasiklin Fiber	45
2.6.1.3.2.3. Matris Dağıtım Sistemi—Filmler, Şeritler ve Chipler.....	46
2.6.1.3.2.3.1. PerioChip	46
2.6.1.3.2.4. Jeller	48
2.6.1.3.2.4.1. Atridox	50
2.6.1.3.2.5. Mikropartikül Sistemler	51
2.6.1.3.2.5.1. Arestin.....	51
2.6.1.3.2.6. Gargaralar.....	52
2.6.1.3.2.6.1. Klorheksidin.....	52
2.6.1.3.3. İmmünmodülatör Tedaviler	54
2.6.1.3.4. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi	56
2.7. Nanopartiküller	58
2.7.1. Nanopartikül Tanımı	59

2.7.2. Günlük Hayatta Nanoteknoloji	59
2.7.3. Diş Hekimliğinde Nanopartikül Kullanımı.....	59
2.7.4. Periodontal Tedavide Nanopartiküller	60
2.7.4.1. İlaç Taşıyıcı Olarak Nanopartiküller.....	60
2.7.4.2. Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etkisi.....	64
2.7.5. Nanopartikül Şekil, Yük, Yüzey, Boyut, pH Özellikleri ve Etki Durumları	66
2.7.5.1. Boyut Avantajları.....	66
2.7.5.2. Elektriksel Yük ve Suda Çözünme Avantajları	67
2.7.5.3. pH Seçiciliği Avantajları.....	67
2.7.5.4. Yüzey Modifikasyonu Avantajları.....	67
2.7.6. Nanopartiküller ve Konak Toksisitesi.....	70
2.7.7. Kitosan Nanopartikül	73
2.7.7.1. Kitosanın Antibakteriyel Özellikleri	74
2.7.7.1.1. Bakteri Türüne Göre Antibakteriyel Etki.....	76
2.7.7.1.2. Kitosan Molekülüne Bağlı Faktörler ve Antibakteriyel Etkiler. 77	
2.7.7.1.2.1. Molekül Yükü ve Antibakteriyel Etki.....	77
2.7.7.1.2.2. Molekül Ağırlığı, Asetilasyon Derecesi ve Antibakteriyel Etki	78
2.7.7.1.2.3. Suda Çözünme ve Antibakteriyel Etki.....	79
2.7.7.1.2.4. Şelat Oluşturma ve Antibakteriyel Etki	79
2.7.7.1.3. Ortam pH'si ve Antibakteriyel Etki	80
2.7.7.2. Kitosanın İlaç Taşıyıcı Özellikleri	81
2.7.8. Karbon Dots (Karbon Quantum Dots) Nanopartikül	87
2.7.8.1. Antimikrobiyal Etkileri	88
2.7.8.2. Yüzey Modifikasyonları/İşlevselleştirilmeleri.....	91
2.7.8.3. Diğer Antimikrobiyal Ajanlar ile Hibrit Modifikasyonları.....	92
2.7.8.4. Biyouyumlulukları	94
3. GEREÇ VE YÖNTEM	95
3.1. Klorheksidin (CHX) Karbon Nano Dot (CD) Sentezi	95
3.2. CHX-CD Bağlı Kitosan Nanopartikül (CS-NP) Sentezi	96
3.3. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	97
3.3.1. UV-vis Spektrum Analizi.....	97
3.3.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi	97

3.3.3. Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi.....	97
3.3.4. FT-IR Analizi	97
3.4. CHX-CD/CS Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etkinliğinin İncelenmesi	97
3.4.1. Standart Bakteri İzolatlarının Hazırlanması.....	98
3.4.2. Antibakteriyel Aktivite Test Yöntemi.....	99
3.4.3. Antimikrobiyal Aktiviteye Bağlı MİK Değerinin Belirlenmesi	99
4. BULGULAR	102
4.1. Klorheksidin Karbon Nanodot UV-vis Spektrum Değerlendirmesi	102
4.3. CHX-CDot/CS Nanopartiküllerin SEM Analizi	104
4.3.1. SEM-EDS/EDX Element Analizi	104
4.3.2. SEM Elemental Haritalandırma	105
4.4. CHX-CDot/CS Nanopartiküllerin Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi	107
4.5. CHX-CD/CS Nanopartikül FTIR İncelemesi	107
4.6. CHX-CD/CS Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etkinlik Analizi	109
5. TARTIŞMA	111
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	122
KAYNAKÇA	123
ÖZGEÇMİŞ.....	159

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA NO

Şekil 2.1. Dental biyofilm oluşumu.....	13
Şekil 2.2. At kanlı agarda periodontopatojen <i>P. gingivalis</i> 'in siyah pigmentli kolonileri.....	18
Şekil 2.3. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> 'ın, sulkular/bağlantı epitel hücrelerine yapışıp, epitel tabakalardan bağ doku içine invaze olup dokuyu kolonize etmesi.....	22
Şekil 2.4. <i>A. actinomycetemcomitans</i> lökotoksinleri.....	24
Şekil 2.5. Gram negatif hücre duvarı yapısı.....	26
Şekil 2.6. Bakteriler ve inflamatuvar mediatörlerin intrauterin etkisi.....	29
Şekil 2.7. Periodontolojide lokal antimikrobiyal ajan uygulamalarının şematik gösterimi.....	44
Şekil 2.8. Klorheksidin içeren çip ile lokal uygulama tedavisi.....	48
Şekil 2.9. Fotodinamik reaksiyon ve fotodinamik terapinin şematik gösterimi.....	58
Şekil 2.10. PLGA, Kitosan ve Fibroin polimerlerinin moleküler yapısı.....	63
Şekil 2.11. Farklı yüzey yüküne sahip nanopartiküllerin, hücre içine invaze olabilme farklılıklarının şematik gösterimi.....	68
Şekil 2.12. İlaç moleküllerini taşıyan poli(N-izopropilakrilamid) (pNIPAAm) polimeri.....	69
Şekil 2.13. Nanoparçacık özellikleri, anti-biyofilm stratejilerinde kullanım farklılıkları.....	70

Şekil 2.14. Kitosan molekülü şematik gösterim.....	74
Şekil 2.15. Polimerik mikro veya nanokapsül ile mikro veya nanopartikül ilaç dağıtım sistemleri arasındaki şematik fark.....	83
Şekil 2.16. İyonik çapraz bağlama.....	84
Şekil 2.17. Kitosanın NH ₂ grubu ile TPP'nin negatif yükü arasındaki elektrostatik etkileşim.....	85
Şekil 2.18. kitosan nanoparçacıklarının (A) iyonotropik jelleşme ile üretimi.....	86
Şekil 2.19. CDot'ların yapıları.....	87
Şekil 2.20. CDots'un fotoaktif edilmiş antibakteriyel aktivitelerinin etki mekanizmasına ilişkin karikatür çizimi.....	90
Şekil 3.1. s-CHX-CD'lerin, m-CGCD'lerin ve l-CGCD'lerin hazırlanması için kullanılan stratejinin şematik gösterimi.....	95
Şekil 3.2. Kanlı agar (Merck) ve Eosin Methylene Blue Agar (EMB, Merck) besiyerlerine ekimi gerçekleştirilip çoğaltılması.....	98
Şekil 3.3. Steril kuyucuklu mikroplyt.....	99
Şekil 3.4. Bileşiklerin kuyucuklara eklenmesi.....	100
Şekil 3.5. CHX-CD/CS'ın, patojenler üzerindeki MİK değerini veren tüp dilüsyon yöntemi.....	101
Şekil.4.1. Klorheksidin Karbon Nanodot UV-vis Spektrumu.....	102
Şekil 4.2. Klorheksidin Karbon Nanodot Bağlı Kitosan Nanopartikül UV-vis Spektrumu.....	103
Resim 4.3. CHX-CD/CS nanopartiküllerinin toplam SEM elemental haritalandırılması.....	105

Şekil 4.4. CHX-CD/CS nanopartiküllerin içeriğindeki atomların SEM haritanlandırma görüntüleri.....	106
Şekil 4.5. CHX-CD/CS nanopartiküllerin TEM görüntüsü.....	107
Şekil 4.6. CHX-CD yüklü CS NP'nin FTIR spektrumu.....	108
Şekil 4.7. CHX-CD/CS'ın, patojenler üzerindeki MİK değerini veren tüp dilüsyon testi sonucu.....	109



TABLÖLAR DİZİNİ

SAYFA NO

Tablo 2.1. Periodontitis evre sınıflaması.....	9
Tablo 2.2. Periodontitis derece sınıflaması.....	10
Tablo 4.1. CHX-CD yüklü CS NP'nin SEM-EDS/EDX element analizi.....	105
Tablo 4.2. Deneye tabi tutulan bakteriler.....	109



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

aPDT	: Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi
Ark	: Arkadaşları
BOP	: Sondalamada Kanama
CAL	: Klinik Ataçman Kaybı
CDot	: Karbon Dot
CDT	: Sitoletal Distansiyon Toksini
CFU	: Koloni Oluşturan Birim
CHX	: Klorheksidin
CHX-CD	: Klorheksidin Karbon Dot Kompleksi
CHX-CD/CS	: Klorheksidin Karbon Dot Bağlı Kitosan Nanopartikül
CQDot	: Karbon Quantum Dot
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CP	: Kronik Periodontitis
CS	: Kitosan Nanopartikül
DOX	: Doksisisiklin
EPS	: Ekstraselüler Polimerik Substans
Fe	: Demir
HBA1C	: Hemoglobin A1c
IL	: İntelökin
Inp A	: İnterpain A
kDa	: Kilodalton
QS	: Kuorum Sensing
L	: Litre

Mg	: Miligram
MIK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
Mm	: Milimetre
mL	: Mililitre
NP	: Nanopartikül
PLGA	: Polilaktik ko Glikolik Asit
PMN	: Polimorfonükleer Lökosit
ROS	: Reaktif Oksijen Bileşenleri
Vb	: Ve benzeri
VSC	: Valotil Sülfür Bileşenleri
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
TPP	: Tri Poli Fosfat

1.GİRİŞ

En yaygın diş çevresi doku hastalıklarından biri olan periodontitis, periodontal dokuları etkileyen inflamatuvar bir süreçten kaynaklanır ve periodontal yumuşak doku enflamasyonu ve periodontal ligamentin ve alveol kemiğinin ilerleyici kaybı ile kendini gösterir (Yang ve ark.. 2021). Periodontal inflamasyon, mikrobiyal disbiyozdan başlar, ancak genetik faktörlerin, immün yanıtın ve uygun olmayan ağız hijyeninin hastalığın başlangıcına ve şiddetine katkıda bulunabileceği çok faktörlü bir hastalık olarak düşünülmelidir (Grassi ve ark.. 2022).

Dental plakta bulunan mikroorganizmalar ile konak immün yanıtı arasındaki etkileşim, periodontal hastalığın ilerlemesi ve klinik belirtilerinin ortaya çıkmasının ana belirleyicisidir (Kaur ve ark.. 2018). Kronik periodontitise (CP) neden olan spesifik bakteri türleri tanımlanmıştır; bunlar genel olarak kommensaller ve Gram-negatif anaerobları içerirler (Divaris ve ark.. 2012).

İnsan ağız boşluğunda 700'den fazla bakteri türü yaşamaktadır. Bu bakteriler diş yüzeyi, sert ve yumuşak damak, yanak mukozası ve diş eti dahil olmak üzere çeşitli yerlerde biofilmler oluştururlar (Sotozono ve ark.. 2021). Biyofilmler, hücre dışı bir polimerik madde (EPS) matris içinde korunan, yüzey yapışma özelliği bulunan mikroorganizmalar topluluğudur. EPS, çoğunlukla polisakkaritler, proteinler, lipitler ve nükleik asitlerden oluşur ve bunlar EPS'ye üç boyutlu bir iskelet ve yüzeylere yapışma özelliği kazandırır (Zea ve ark.. 2020).

Biofilm, içerisindeki bakterilere planktonik durumlarından tamamen farklı bir yaşam tarzı sağlar (Flemming and Wingender 2010). EPS, biyofilm hücrelerini hareketsizleştirir ve onları birbirine yakın mesafede tutar, böylece hücre-hücre iletişimi ve sinerjistik mikro konsorsiyum oluşumu dahil olmak üzere yoğun etkileşimlere izin verir (Flemming and Wingender 2010). EPS, hücre dışı enzimlerini tutması sayesinde, çözünmüş ve partikül halindeki besin maddelerini su fazından ayıran ve besin ve enerji kaynağı olarak kullanılmalarını sağlayan çok yönlü bir dış sindirim sistemi oluşturur.

Bugüne kadar plak oluşumuna dair farklı teoriler öne sürülmüştür. On dokuzuncu yüzyılın sonunda, dental enfeksiyonlar hakkındaki en yaygın fikir, bunların diş plağındaki tüm bakterilerin spesifik olmayan aşırı çoğalmalarından kaynaklandığıydı ve bu fikir “Non-Spesifik plak hipotezi” olarak adlandırılır (Rosier ve ark.. 2014). 1970 lerde ortaya atılan spesifik plak hipotezine göre ise periodontal inflamatuvar hastalıklar, spesifik periopatojenlerin neden olduğu patolojilerdir ve ilgili bakteriyel türe uygun antibiyotik medikasyonu, hastalık tedavisinde etkili olmaktadır (Rosier ve ark.. 2014). Ekolojik plak hipotezinin tanımlanmasından bu yana ise temelde simbiyotik bir diş plağı oluşumunun neden disbiyotik hale geldiği sorusu ortaya çıktı. Simbiyotik bir bakteri topluluğunu patojenik bir disbiyotik topluluğa dönüştürmek için yalnızca patojenik bakterilerin ortaya çıkması değil, aynı zamanda pH değerleri, sıcaklık, besinler ve yerel atmosferik değişimler gibi önemli ekolojik kaymalar da gereklidir (Bartha ve ark.. 2022).

Başarılı periodontal tedavi, diş yüzeyi ile ilişkili diş plağında ve ağız boşluğundaki diğer nişlerde bulunan patojenik organizmaları ortadan kaldırmayı amaçlayan antienfektif prosedürlere bağlıdır. Antienfektif tedavi, diş eti iltihabı ve periodontitisin birincil etiyolojisi olan mikrobiyal biyofilmi (bakteriyel plak) en aza indirmek veya ortadan kaldırmak için hem mekanik hem de kemoterapötik yaklaşımları içerir (Drisko 2001). Mekanik diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme veya cerrahi gibi mekanik araçlarla tedavi, genellikle önemli klinik iyileşme ile sonuçlanır, ancak hastalığın ilerlemesini veya nüksünü engelleyemeyebilir. Birçok çalışma, mekanik tedavi ile progresif ataçman kaybı ve kemik kaybının engellenebilmesinin ve kalıcı stabilite elde etme olasılığının, büyük ölçüde, patojenik mikroorganizmaların yerel subgingival bölgelerde hala mevcut olup olmadığına bağlı olduğunu göstermiştir.

Bu nedenle günümüzde çoğu vakada mekanik tedavi, çeşitli antimikrobiyallerin sistemik ya da lokal uygulanması ile desteklenmektedir. Ancak bilinçsiz sistemik antibiyotik tedavisi uygulanması, genellikle sindirim sistemi ve genitoüriner yolu içeren istenmeyen yan etkiler ve bakteriyel direnç gelişimine neden olur (Skurska ve ark.. 2015). Ayrıca anti-mikrobiyal ilaçları doğrudan periodontal ceplere ileten birkaç yavaş salınımlı lokal tedavi yöntemi geliştirilmiştir ve şu anda piyasada bulunmaktadır. Bu yöntemlerin kullanımı, uzun süreli, yüksek konsantrasyonlarda

doksisiklin (Atridox), minosiklin (Arestin) ve klorheksidinin (PerioChip) doğrudan periodontal ceplere lokal olarak verilmesine izin verir (Page 2004). Ancak bu yöntemlerin de hedef alanda uzun süre kalamama, biofilm kalıntılarından negatif etkilenme gibi birçok eksik yönü vardır.

Başka bir yardımcı medikaman grubu ise ağız gargaralarıdır. Ağız gargaraları, plak önleyici ajanların en yaygın ve kolay uygulananıdır. Bunlardan en önemlisi olan Klorheksidin (CHX), gram-pozitif ve gram-negatif organizmalara, fakültatif anaeroblara, aeroblara ve mayalara karşı aktif olan katyonik bir bisbiguaniddir (Vyas ve ark.. 2021). Klorheksidin, diğer biyositlere kıyasla uzun süreli aktivite gösteren geniş spektrumlu bir biyositir (Macias ve ark.. 2016). Ancak zarfsız virüslere karşı zayıf aktivite gösterir ve bakteri sporlarına karşı etkisizdir (McDonnell and Russell 1999). Mikobakteriler gibi bazı bakteri türleri, dış zarları klorheksidinin geçemeyeceği geçirimsiz bir bariyer oluşturduğundan, klorheksidine doğal olarak dirençlidir. Biyofilm ve spor oluşumu ayrıca bazı bakteri türlerinin klorheksidin varlığında hayatta kalmasını sağlar (Williamson, Carter, and Howden 2017).

Ne yazık ki, CHX insan hücreleri üzerinde sitotoksik aktivite gösterir, diş ve dolgularda renklenmeye neden olabilir ve aktivitesi ortamın pH'ına ve organik maddelerin varlığına bağlıdır (Karpiński and Szkaradkiewicz 2015). Yani dişlerde ve dilde renk değişikliği, tat algısında geçici bir değişiklik, diş taşı birikintilerinde artış, yanma hissi ve bukkal epitel hücrelerinin genotoksitesisi kabaca yan etkileridir (Pandiyan ve ark.. 2022).

Metal ve organik nanopartiküller, geniş spektrumlu bakterisidal özelliklerinden dolayı diş hekimliğinin çeşitli alanlarında uygulanmaktadır (Song and Ge 2019). Nanopartikül hazırlamanın kimyasal esnekliği ve göreceli kolaylığı, benzersiz biyofilm tedavilerinin geliştirilmesine izin verir (Wang, Gupta, and Rotello 2016).

Nanopartiküller, ilaç moleküllerini kapsüllemek ve periodontal hastalıktan etkilenen lokalize bölgelere teslimatını sağlamak için kullanılabilir. Bu yaklaşım, ilacın kontrollü miktarını ilgili alanın yakınında seçici olarak biriktirerek doza bağlı yan etkileri azaltabilir (Verma, Chevvuri, and Sharma 2018).

Ayrıca nanopartiküller kendileri de antibakteriyel özelliklere sahiptir. Nanopartiküllerin geniş yüzey alanı ve yüksek yük yoğunluğu, bakteri hücrelerinin negatif yüklü yüzeyi ile daha büyük ölçüde etkileşime girerek antimikrobiyal aktivitenin artmasını sağlar (Cao ve ark.. 2018). Ayrıca, polimerlerle birleştirilmiş veya biyomateryal yüzeyler üzerine kaplanmış nanopartiküllerin ağız boşluğunda üstün antimikrobiyal özellikler sergilediği bulunmuştur (Saafan ve ark.. 2018). Metal ve organik nanopartiküller, geniş spektrumlu bakterisidal özelliklerinden dolayı diş hekimliğinin çeşitli alanlarında uygulanmaktadır (Magalhães ve ark.. 2016)

Biz de bu nedenlerden ötürü periodontal patojenlerle daha etkili bir mücadele vermek adına Klorheksidin-Karbon Dot bağlı Kitosan nanopartiküller sentezledik. Bu sayede patojenlerle daha etkin bir şekilde mücadele etmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Gingivitis

Periodontal dokular dişlere bitişiktir ve dişlerin bakımı için çok önemli yapılardır. Dişlerin üzerinde sürekli olarak bir dental biofilm birikimi mevcuttur ve günlük diş fırçalama yoluyla uzaklaştırılmazsa, bu biyofilm, dişin etrafını saran dişeti dokularında plak kaynaklı iltihaplanmaya neden olur(Roberts ve ark.. 2022). Gingivitis, lokalize kızarıklık ve şişlik ile karakterizedir, ancak periodontal ataçman kaybı görülmez(Roberts ve ark.. 2022).

2.2.Periodontitis

En yaygın diş çevresi doku hastalıklarından biri olan periodontitis, periodontal dokuları etkileyen inflamatuvar bir süreçten kaynaklanır ve periodontal yumuşak doku enflamasyonu ve periodontal ligamentin ve alveol kemiğinin ilerleyici kaybı ile kendini gösterir (Yang ve ark.. 2021). Periodontal inflamasyon, mikrobiyal disbiyozdan başlar, ancak genetik faktörlerin, immün yanıtın ve uygun olmayan ağız hijyeninin hastalığın başlangıcına ve şiddetine katkıda bulunabileceği çok faktörlü bir hastalık olarak düşünülmelidir (Grassi ve ark.. 2022). Bazı bakteri türleri, simbiyotik bir popülasyondan disbiyotik bir popülasyona geçişi destekleyerek bağışıklık tepkisini modüle edebilir. Porphyromonas gingivalis bu anlamda önemli bir türdür. Gingipain kompleksi olarak adlandırılan lizin ve sistein (sırasıyla Rgp ve Kgp) için spesifik proteazlar, IgG1'i parçalayabildikleri ve kompleman sistemi ve bazı sitokinlerle etkileşime girebildikleri için bu mekanizmada yer alan önemli virülans faktörleridir (Grassi ve ark.. 2022).

Periodontitis, eğer tedavi edilmezse, sonunda diş kaybına neden olabilir(Huang ve ark.. 2021). Ayrıca, şiddetli periodontitis yüz çökmesine, çiğneme bozukluğuna ve sindirim sistemi üzerinde etkilere yol açabilir. Bunun yanı sıra diyabet, kardiyovasküler hastalık, romatoid artrit, metabolik sendrom ve Alzheimer hastalığı dahil olmak üzere çeşitli sistemik ve inflamatuvar hastalıklarla da ilişkilidir(Yang ve ark.. 2021).

Periodontitis, klinik olarak periodontal dokuların diş köküne tutunma seviyesi ve kemik kaybının radyografik görüntüsü ölçülerek teşhis edilir(Abusleme ve ark.. 2013). Periodontal yıkımı ölçmek için periodontal ceplerin derinliğini belirlemenin yanı sıra, klinisyenler aynı zamanda periodontal inflamasyonun ana klinik göstergesi olarak kabul edilen cep içi kanama olup olmadığını da değerlendirirler(Abusleme ve ark.. 2013).

Sondlamada kanama (BoP) varlığı, komşu dişeti dokularındaki inflamatuvar infiltratın boyutu, periodontitis ilerlemesi riski, interlökin-1 β , interlökin-8 gibi proinflamatuvar mediatörler ve matris metalloproteinaz 8 gibi doku yıkım belirteçlerinin dişeti eksudalarındaki seviyeleri ile pozitif korelasyon gösterir (Abusleme ve ark.. 2013).

Periodontitis, lokal, sistemik, çevresel ve genetik faktörleri içeren çok faktörlü etiyolojik faktörlere sahiptir. Dental plakta bulunan mikroorganizmalar ile konak immün yanıtı arasındaki etkileşim, periodontal hastalığın ilerlemesi ve klinik belirtilerinin ortaya çıkmasının ana belirleyicisidir (Kaur ve ark.. 2018). Kronik periodontitise (CP) neden olan spesifik bakteri türleri tanımlanmıştır; bunlar genel olarak kommensaldirler ve Gram-negatif anaerobları içerirler (Divaris ve ark.. 2012). İlginç bir şekilde, periodontal patojenler neredeyse evrensel olarak popülasyonun tamamında görülse de bireylerin yalnızca küçük bir kısmı şiddetli kronik periodontitis formları geliştirir (Divaris ve ark.. 2012). Ancak yine de dental plak biyofilmleri, periodontitisin birincil etiyolojik faktörüdür (Huang ve ark.. 2021). Dental biyofilmde bulunan yerleşik mikrobiyota bileşenleri arasında var olan karşılıklı bağımlılıklar ve patojenik mikroorganizmalar ile konakçı arasındaki etkileşim, periodontitisin ortaya çıkmasına ve ilerlemesine yol açar (Huang ve ark.. 2021).

2.2.1.Periodontal Hastalık Sınıflaması

Son 30 yılda, periodontitis sınıflandırması, onu ortaya çıkaran bilimsel kanıtlarla uyumlu hale getirmek amacıyla defalarca değiştirildi. Son periodontoloji çalıştayında, patofizyoloji hakkındaki mevcut bilgilerle tutarlı olarak, periodontitisin üç formunun tanımlanabileceği konusunda fikir birliğine varılmıştır. Bunlar : nekrotizan periodontitis, sistemik hastalığın bir tezahürü olarak periodontitis ve daha önce kronik

ve agresif olarak tanınan hastalık formlarının tek bir kategori altında toplandığı periodontitistir. Sınıflandırmayı gözden geçiren çalıştay, yeni kanıtlar ortaya çıktıkça zaman içinde uyarlanabilecek çok boyutlu bir evreleme ve derecelendirme sistemine dayalı olarak daha iyi karakterize edilen periodontitis için bir sınıflandırma çerçevesi üzerinde anlaşmıştır (Caton ve ark.. 2018).

Daha önce "kronik" veya "agresif" olarak tanınan hastalık formlarının artık tek bir kategori ("periodontitis") altında gruplandırıldığı ve çok boyutlu bir evreleme ve derecelendirmeye dayalı olarak daha da karakterize edildiği yeni bir periodontitis sınıflandırma şemasının benimsendiği bu yeni sınıflandırmada, evreleme, büyük ölçüde hastalığın ortaya çıkıştaki ciddiyetine ve hastalık yönetiminin karmaşıklığına bağlıdır; derecelendirme ise, periodontitis ilerleme oranının geçmişe dayalı bir analizi de dahil olmak üzere hastalığın biyolojik özellikleri hakkındaki ek bilgileri; daha fazla ilerleme riskini; tedavinin olası kötü sonuçlarının analizini; ve hastalığın veya tedavisinin hastanın genel sağlığını olumsuz etkileme riskini değerlendirmektedir (Papapanou ve ark.. 2018). Bu evreleme ve derecelendirme sisteminin amacı, periodontitisli hastaların tedavi planlamasında klinisyenlere rehberlik etmek ve hastalığın ilerlemesi açısından yüksek risk taşıyan ve/veya standart periodontal tedaviye öngörülebilir şekilde yanıt verme olasılığı daha düşük olan hastaların saptanmasında onlara destek olmaktır (Abrahamian ve ark.. 2022).

Şu belirtilerin görüldüğü hasta, klinik bağlamda bir periodontitis olgusu olarak kabul edilir:

1. Komşu olmayan iki dişte interdental klinik ataçman kaybının (CAL) ≥ 2 mm tespit edilebilmesi.
2. İki veya daha fazla dişte bukkal veya oral bölgelerde cep derinliği >3 mm veya CAL ≥ 3 mm olması.

Ancak bazı durumlarda ilgili parametreler sağlansa bile hastalığa periodontitis teşhisi konamaz. Bunlar:

- 1) travmatik kökenli dişeti çekilmesi;

- 2) dişin servikal bölgesinde uzanan diş çürüğü;
- 3) ikinci moların distal tarafında, üçüncü moların yanlış pozisyonu veya çekimi ile ilişkili CAL'nin varlığı.
- 4) marjinal periodonsiyumdan drene olan bir endodontik lezyon varlığı.
- 5) dikey bir kök kırığının oluşması (Tonetti, Greenwell, and Kornman 2018).

2.2.1.1.Evreleme ve Derecelendirme

Evreleme, periodontitisin neden olduğu doku yıkımının miktarına ve spesifik faktörlere, en büyük kaybın olduğu bölgedeki interdental klinik ataçman kaybına, radyografik kemik kaybına (yüzde olarak ifade edilir), cep derinliğine, kemik kaybı paternine (yatay/dikey), furkasyon tutulumuna, alveol kret defekt formuna, çiğneme disfonksiyonuna, sekonder okluzal travmaya, periodontitis kaynaklı kaybedilen diş sayısına, diş migrasyonlarına ve ısırma kolapslarına dayalı olarak periodontitisin derecesini ve ciddiyetini ve yönetiminin karmaşıklığını belirlemeyi amaçlar (Ertaş ve ark.. 2023).

Derecelendirme ise sınıflandırmaya başka bir boyut ekler ve ilerleme hızının dikkate alınmasına izin verir. Derecelendirme yapılırken kullanılan direkt bulgular, örneğin daha eski teşhis kalitesinde radyografiler şeklinde mevcut olan longitudinal gözlemlere dayanırken; dolaylı kanıtlar ise dişlenme dönemindeki en kötü etkilenen dişteki kemik kaybının yaşı bir fonksiyonu olarak değerlendirilmesine dayanır (kök uzunluğunun radyografik kemik kaybı yüzdesi olarak deneğin yaşına bölümü olarak ölçülür). Periodontitis derecesi daha sonra risk faktörlerinin varlığı ile değiştirilebilir. Hasta, daha fazla hastalık ilerlemesi veya antibakteriyel tedavilere daha az yanıt verme ile ilişkilendirilen risk faktörlerine sahipse, risk faktörü bilgisi, hastanın gelecekteki hastalık seyri tahminini değiştirmek için kullanılabilir. Bu nedenle bir risk faktörü, derece puanını, ilerleme hızıyla temsil edilen birincil kriterden bağımsız olarak daha yüksek bir değere kaydırmalıdır. Örneğin, bir vakada, kemik kaybı hızı gözetilerek oluşturulmuş bir orta seviye ilerleme hızı (derece B), kötü kontrol edilen Tip II diyabetin varlığıyla modifiye edilir ve derece B olarak saptanan mevcut sınıflama, derece C olarak yeniden güncellenir (Tonetti, Greenwell, and Kornman 2018).

Periodontitis Evre		Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4
Hastalık Şiddeti	En fazla kayıp olan bölgede interdental klinik ataçman kaybı	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Radyografik kemik kaybı	Koronal üçlüde < %15	Koronal üçlüde %15-%33	Kökün ortasına veya apikaline uzanan kemik kaybı	Kökün ortasına veya apikaline uzanan kemik kaybı
	Periodontitise bağlı diş kaybı	Yok	Yok	≤4	≥5
Karmaşıklık	lokal	Maksimum sondlama derinliği ≤4 Horizontal kemik kaybı	Maksimum sondlama derinliği ≤5 Horizontal kemik kaybı	Sondlama derinliği ≥6 Sınıf 2 veya 3 furkasyon defekti Vertikal kemik kaybı ≥3 Orta derece kret defekti	Evre 3'e ek olarak; Sekonder okluzal travma Çiğneme disfonksiyonu Şiddetli kret defekti Kapanış bozukluğu Dişlerde sürüklenme ve açılma 20'den az diş
Kapsam ve Dağılım	Tanımlayıcı olarak evreye eklenir	Her bir evre için, lokalize (≤%30), generalize (>%30) ve molar kesici diş paterni			

Tablo 2.1. Periodontitis evre sınıflaması (Bu tablo 'Tonetti ve ark. 2018' isimli kaynaktan alınmıştır.)

Periodontitis Derecesi			Derece-A (Yavaş İlerleyen)	Derece-B (Orta Hızla ilerleyen)	Derece-C (Hızlı İlerleyen)
Primer Kriter	İlerlemenin doğrudan kanıtları	Radyografik kemik kaybı veya klinik ataçman kaybı	5 yıl takipte kemik kaybı yok	5 yıl takipte <2 mm kemik kaybı	5 yıl takipte ≥2 mm kemik kaybı
	İlerlemenin dolaylı kanıtları	Kemik kaybı yaş oranı yüzdesi	<0,25	0,25-1	>1
		Vaka fenotipi	Biofilm miktarına göre periodontal dokularda düşük yıkım	Periodontal dokularda biofilm miktarı ile uyumlu yıkım	Biofilm miktarına göre periodontal dokularda fazla yıkım
Derece Belirleyicisi	Risk faktörleri	Sigara	Sigara kullanmayan hasta	Sigara <10/gün	Sigara ≥10/gün
		Diyabet	Normoglisemik	HbA1C < % 7	HbA1C ≥ %7
Periodontitisin Sistemik Etki Riski	Enflamatuar yük	hsCRP	<1 mg/L	1-3 mg/L	>3 mg/L
Biyobelirteçler	Klinik taçman kaybı/Kemik kaybı göstergeleri	Salya, DOS, Serum	?	?	?

Tablo 2.2. Periodontitis derece sınıflaması (Bu tablo ‘ Tonetti ve ark. 2018’ isimli kaynaktan alınmıştır.)

2.3. Dental Biofilm ve Oluşumu

İnsan vücudunda cilt, hava yolları, bağırsak, vajina ve ağız boşluğu gibi habitatlarda, biyofilm olarak bilinen bir yapı oluşturan çok sayıda bakteri bulunur. İnsan ağız boşluğunda 700'den fazla bakteri türü yaşamaktadır. Bu bakteriler diş yüzeyi, sert ve yumuşak damak, yanak mukozası ve diş eti dahil olmak üzere çeşitli yerlerde biyofilmler oluştururlar (Sotozono ve ark.. 2021). Tükürük ve dental plak mikrobiyomunun çeşitliliği bireyler arasında büyük farklılıklar gösterir. Ağız boşluğu, insan sindirim sistemine birincil giriş görevi gördüğünden, diş fırçalama ve ağız yıkama gibi konakçı davranışlarından etkilenme eğilimindedir. Ek olarak, ağız boşluğundaki mikrobiyom tükürük pH'ı, enzimler, konak bağışıklığı ve antibakteriyel ajanlar dahil olmak üzere birçok başka faktörden de etkilenir (Sotozono ve ark.. 2021). İnsan ağız boşluğu, bakteri biyofilmleri için epitelyal mukozalar, dil sırtının papiller yüzeyi, dişin supragingival ve subgingival yüzeyleri vb. gibi birçok farklı habitat ortamı içerir (Valm 2019).

Biyofilmler, hücre dışı bir polimerik madde (EPS) matris içinde korunan, yüzey yapışma özelliği bulunan mikroorganizmalar topluluğudur. EPS, çoğunlukla polisakkaritler, proteinler, lipidler ve nükleik asitlerden oluşur ve bunlar EPS'ye üç boyutlu bir iskelet ve yüzeylere yapışma özelliği kazandırır (Zea ve ark.. 2020). Diş yüzeyinde oluşan dental biyofilmin, dünya çapında oldukça yaygın olan diş çürüğü ve periodontitis gibi kronik bulaşıcı enfeksiyöz hastalıklar ile doğrudan ilişkili olduğu düşünülmektedir (Sotozono ve ark.. 2021). Çoğu biyofilimde, mikroorganizmalar kuru kütlelerin %10'undan daha azını oluştururken, matriks %90'ın üzerinde olabilir. Bu matris, biyofilm hücrelerinin gömüldüğü, çoğunlukla biofilm içindeki organizmaların kendileri tarafından üretilen hücre dışı malzemedir. Biofilm, içerisindeki bakterilere planktonik durumlarından tamamen farklı bir yaşam tarzı sağlar (Flemming and Wingender 2010). EPS, biyofilm hücrelerini hareketsizleştirir ve onları birbirine yakın mesafede tutar, böylece hücre-hücre iletişimi ve sinerjistik mikro konsorsiyum oluşumu dahil olmak üzere yoğun etkileşimlere izin verir (Flemming and Wingender 2010). EPS, hücre dışı enzimlerini tutması sayesinde, çözünmüş ve partikül halindeki besin maddelerini su fazından ayıran ve besin ve enerji kaynağı olarak kullanılmalarını

sağlayan çok yönlü bir dış sindirim sistemi oluşturur. Matris aynı zamanda parçalanmış hücrelerin tüm bileşenlerini hazır tutarak bir geri dönüşüm merkezi görevi de görür(Flemming and Wingender 2010). Matris, organizmaları oksitleyici veya yüklü biyositlere, bazı antibiyotiklere, metalik katyonlara, ultraviyole radyasyona, çoğu (ama hepsi değil) protozoanlara ve konak bağışıklığına karşı korur(Flemming and Wingender 2010).

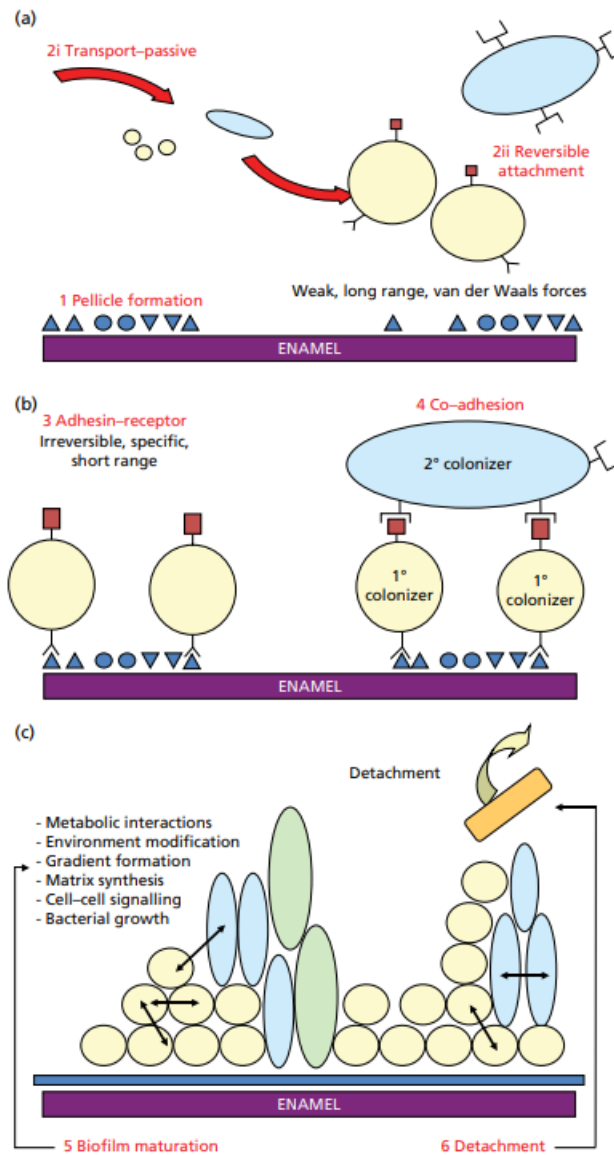
Periodontitis gibi daha ileri hastalık durumlarında, periodontal mikrobiyotanın çeşitliliği daha da artar. Supragingivalde, yoğun filament içeren plaktan oluşurken, subgingival ortamda çevredeki ortamda bulunan oksijenin azalması nedeniyle plak, esas olarak kamçılı bakteriler, spiroketler ve Gram-negatif bakterilerden oluşur.

Biyofilm oluşumunu başlatan erken kolonizörler, esas olarak Gram-pozitif ve *Streptococcus* ve *Actinomyces* cinslerine aittir. Bunlar, subgingival biyofilmin *Fusobacterium nucleatum* gibi sekonder kolonizörler için uygun hale gelmesini sağlar. *Fusobacterium nucleatum* bir “köprü türü” görevi görür ve koagregasyon yoluyla *Porphyromonas gingivalis* gibi periodontal patojenlerin, kolonizasyonun geç safhasında biofilme tutunmasını sağlar (Elnagdy ve ark.. 2021).

Diş plağı oluşumu, öncü kolonizörlerin diş yüzeyine tutunmasıyla başlar. *S. gordonii*, *S. sanguinis*, *S. oralis* ve *S. mitis* dahil olmak üzere oral streptokoklar, tükürük pelikülündeki konak reseptörlerini tanıyan çok sayıda hücre yüzeyi adezin proteini ve glikoprotein ürettikleri için diş yüzeylerinin ilk kolonizasyonu için özellikle iyi adapte olmuşlardır. Bu adezinlerin çoğu, diğer oral bakterilerle koagregasyon olarak bilinen hücre-hücre bağlanmasına aracılık ederek diş plağının sonraki gelişimine de katkıda bulunur (Robinson ve ark.. 2018). Bu nedenle oral streptokoklar, ağız boşluğunun öncü kolonizörleridir ve diş plağında bol miktarda bulunurlar. Yeni sürmüş diş kolonize eden ve yeni temizlenmiş dişlerde oluşan tükürük pelikülüne yapışan ilk türler arasındadırlar. Bu bakteriler dental biyofilmin diğer türler tarafından kolonizasyonunu kolaylaştırır (Nikitkova, Haase, and Scannapieco 2013).

Dental biyofilmin olgunlaşması, hücre dışı polimerik maddeler (EPS) oluşumu ile aktive edilir ve bu olgunlaşmaya erken dönem kolonizörler olan streptokoklar ile geç

dönem kolonizörler olan zorunlu anaeroblar arasında köprü görevi gören Gram-negatif anaerob bir bakteri olan *Fusobacterium nucleatum* aracılık eder (Thurnheer ve ark.. 2019). *Fusobacterium nucleatum*, deneysel ve klinik biyofilm modellerinde ortaya çıktığı gibi, oral biyofilm yapısı ve ekolojisinde çok önemli bir role sahiptir (Thurnheer ve ark.. 2019). Streptokokların ilk 6-48 saatte hakim olduğu bulunurken, *F. nucleatum* aracılı koagregasyon, oral biyofilm oluşumunun ilk 48 saatinden sonra gerçekleşir (Dige ve ark.. 2007).



Şekil 2.1. Dental biyofilm oluşumundaki farklı aşamaların şematik gösterimi
(Kaynak: Lindhe Clinical Periodontology and Implant Dentistry).

İlk kolonizasyondan sonra ortaya çıkan biyofilm, daha düşük oksijen konsantrasyonlarına sahip bölgeler oluşturarak ikincil kolonizörlerin dahil edilmesine izin verir. Bu kolonizörler, erken kolonizörler tarafından üretilen laktatı özel olarak metabolize eden *Veillonella parvula* (mor kompleks) ve diğer birçok kolonizör ile koagregasyon yapma yeteneği ile iyi bilinen bir tür olan *Fusobacterium nucleatum*'u (turuncu kompleks) içerir. Son olarak, *Porphyromonas gingivalis* (kırmızı kompleks) gibi tipik olarak daha yavaş büyüyen, zorunlu anaeroblardan oluşan geç kolonizörler, sonunda oral biyofilmin bir parçası haline gelebilir (Siddiqui ve ark.. 2022).

2.3.1. Non-Spesifik, Spesifik ve Ekolojik Plak Teorileri

2.3.1.1. Non-Spesifik Plak Teorisi

On dokuzuncu yüzyılın sonunda, dental enfeksiyonlar hakkındaki en yaygın fikir, bunların diş plağındaki tüm bakterilerin spesifik olmayan aşırı çoğalmalarından kaynaklandığıydı ve bu fikir “Non-Spesifik plak hipotezi” olarak adlandırılır (Rosier ve ark.. 2014).

2.3.1.2. Spesifik Plak Teorisi

1970'lerde, zorunlu anaerobik türlerin yetiştirilmesi olanak kazandı. Bu sayede, Spesifik Plak Hipotezi fikri doğmuş oldu. Bu hipoteze göre periodontal inflamatuvar hastalıklar, spesifik periopatojenlerin neden olduğu patolojilerdir ve ilgili bakteriyel türe uygun antibiyotik medikasyonu, hastalık tedavisinde etkili olmaktadır (Rosier ve ark.. 2014).

2.3.1.3. Ekolojik Plak Teorisi

1994'te Philip D. Marsh, önceki hipotezlerin temel kavramlarını birleştiren bir hipotez önerdi. Onun "Ekolojik Plak Hipotezi"nde (EPH), hastalık, bazı "oral patojenlerin" veya hastalıkla ilgili mikroorganizmaların zenginleşmesiyle sonuçlanan, ekolojik strese bağlı olarak toplam mikroflorada oluşan dengesizliğin bir sonucudur (Rosier ve ark.. 2014). Ekolojik plak hipotezinin tanımlanmasından bu yana, temelde simbiyotik bir diş plağı oluşumunun neden disbiyotik hale geldiği sorusu ortaya çıktı. Simbiyotik bir bakteri topluluğunu patojenik bir disbiyotik topluluğa dönüştürmek için

yalnızca patojenik bakterilerin ortaya çıkması değil, aynı zamanda pH değerleri, sıcaklık, besinler, konağa bağlı faktörler ve yerel atmosferik değişimler gibi önemli ekolojik kaymalar da gereklidir (Bartha ve ark.. 2022).

Diş plağı dişler üzerinde doğal olarak oluşur ve eksojen türlerin kolonizasyonunu önlemeye yardımcı olarak konakçıya fayda sağlar. Plağın bakteriyel bileşimi, küçük çevresel bozulmalara düzenli olarak maruz kalmasına rağmen nispeten sabit kalır. Bu stabilite (mikrobiyal homeostaz) kısmen hem sinerjistik hem de antagonistik mikrobiyal etkileşimlerin dinamik dengesinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, homeostaz bozulabilir ve mikrofloranın dengesinde kaymalara yol açarak bölgeleri hastalığa yatkın hale getirebilir. Örneğin, plağın sık sık düşük pH'a maruz kalması, aside duyarlı türlerin inhibisyonuna ve mutans streptokoklar ve laktobasiller gibi asidik fizyolojiye sahip organizmaların seçimine yol açar. Benzer şekilde, diş eti marjini çevresinde plak birikimi, inflamatuvar bir konak tepkisine ve dişeti oluşu sıvısının akışının artmasına neden olur. Subgingival mikroflora, ağırlıklı olarak Gram-pozitif olmaktan, artan seviyelerde zorunlu anaerobik, asakkarolitik Gram-negatif organizmalardan oluşan bir yapıya dönüşür. Hastalığın sadece varsayılan patojenleri hedefleyerek değil, aynı zamanda homeostazın bozulmasına neden olan süreçlere müdahale ederek önlenebileceği veya tedavi edilebileceği öne sürülmüştür. Bu nedenle, şeker alımını takiben asit üretim hızı, florür, alternatif tatlandırıcılar ve düşük konsantrasyonlarda antimikrobiyal ajanlar tarafından azaltılabilirken, oksijenleyici veya redoks ajanları periodontal ceplerin redoks potansiyelini yükseltebilir ve zorunlu anaerobik türlerin büyümesini ve metabolizmasını önleyebilir. Bu görüşler, sağlık ve hastalıkta plak mikroflorası ile konakçı arasındaki ilişkiyi açıklamak ve hastalığı önlemek için yeni stratejiler belirlemek için değiştirilmiş bir hipoteze ("ekolojik plak hipotezi") dahil edilmiştir(Marsh 1994).

2.4. Diş Taşı ve Oluşumu

Diş taşı, diş yüzeyinde veya protez gövdesinde kalsifiye olmuş veya olmakta olan dental plak ve tortudur (Li ve ark.. 2022). Yani diş taşı, bakteri plağının mineralleşmesinin bir sonucudur (Fons-Badal ve ark.. 2020). Diş taşının kristalografik

alışmaları ile ilgili literatür SCHROEDER ve BAMBAUER tarafından gözden geçirilmiştir. Diş taşında bulunabilen kalsiyum fosfat mineralleri hidroksiapatit, whitlockite, oktakalsiyum fosfat ve bruşittir (Gron, Van Campen, and Lindstrom 1967). Mineraller arasında, hidroksiapatit en yaygın ve bol faz gibi görünmektedir, ancak kristaller, çizgi genişlemesi ile gösterildiği gibi genellikle zayıf gelişmiştir. Diş taşlarında bulunan whitlockite, JENSEN ve DANQ (1954) ve JENSEN ve ROWLES (1957) tarafından etraflıca incelenmiş ve bir magnezyum whitlockite olarak karakterize edilmiştir. Oktakalsiyum fosfat (OCP) ilk olarak JENSEN ve HANSEN (1957) tarafından gözlemlenmiştir. Daha sonraki alışmalar (ROWLES, 1964; SCHROEDER ve BAMBAUER, 1966) bu mineralin sık sık görüldüğünü öne sürmektedir. Bruşit en az yaygın olanıdır, ancak diğer diş taşlarına göre mandibular kesici dişlerden supragingival diştaşında daha sık bulunur (Gron, Van Campen, and Lindstrom 1967). İnorganik bileşenlerin yanı sıra içerisinde proteinler ve karbonhidratlar gibi organik bileşenler de bulunur ve diş taşının dış tabakası her zaman canlı plakla kaplıdır (Li ve ark.. 2022).

Taş oluşum hızı ve bileşimi ağız içi lokalizasyona bağlı olarak değişebilir. Büyük tükürük bezi kanallarının açıldığı bölgelere yakın lokalizasyonlarda daha fazla diş taşı oluşur, ayrıca bu taşların kalsiyum ve fosfor oranı da diğer ağız içi bölgelerde gelişen diş taşlarından daha fazladır (Akcalı and Lang 2018).

Diş eti marjininin üstünde veya altında birikme konumuna göre supragingival diş taşı ve subgingival diş taşı olarak ikiye ayrılır (Li ve ark.. 2022). Subgingival diş taşının, kontrollü deneylerde doku hasarını etkileyebilecek endotoksin miktarının supragingival diş taşına oranla daha fazla olduğu gösterilmiştir (Akcalı and Lang 2018).

Diş taşı, plak ve bakteriyel toksinlerin birikimini arttırdığı ve de yüzey pürüzlülüğü nedeniyle yeterli eliminasyonunu engellediği için önemli bir ağız sağlığı sorunu oluşturur. Bu, aynı zamanda etkili hijyen bakımına engel teşkil eder ve daha fazla plak birikimine neden olarak hastanın mevcut oral sağlığını negatif yönde etkileyerek periodontitis prevanlansının artmasına neden olur.(Roberts-Harry and Clerehugh 2000).

2.5. Dental Plaktaki Önemli Patojen Bakteriler

Periodontitis, mikrobiyal biyofilm tarafından indüklenir ve kollateral doku hasarına ve klinik ataşman kaybına yol açan konak aracılı inflamasyondan kaynaklanır. Oral mikrobiyota, ağız boşluğunda bulunan ve farklı alt türlere sahip 700'den fazla farklı tür olduğu tahmin edilen mikroorganizmaları içerir (Xu ve ark.. 2020). Ancak bunlardan sadece bir avuç dolusu hastalıkta yüksek oranda yer almakta ve periodontitis başlamasına ve ilerlemesine doğrudan etki göstererek patojenik özellikler taşımaktadır (Bostanci and Belibasakis 2012). Periodontitisin başlangıç aşamasında periodontal patojenler toksik faktörler ve metabolitler salarak konakçı periodontal dokuları doğrudan tahrip ederek çok önemli roller oynasalar da periodontitisin ilerlemesi temel olarak konak immün yanıtı ve periodontal patojenler arasındaki etkileşim tarafından düzenlenir. Periodontal patojenler tarafından aşırı aktive edilen veya bloke edilen konakçı konjenital ve adaptif immünolojik yanıtların neden olduğu dolaylı hasar daha travmatik olduğundan ve daha uzun sürdüğünden, immün yanıtın düşük reaktivitesi veya aşırı duyarlılığı, kalıcı periodontal doku hasarıyla sonuçlanır (Jia ve ark.. 2019). Bakteri florası ve konak savunma mekanizmaları arasındaki karmaşık etkileşimler, bakteriyel saldırganlık ve konak koruması arasındaki dengeyi önemli ölçüde etkiler ve böylece periodontal yıkımın gerçekleşip gerçekleşmediğini belirler. Bu kriterlerin ışığında, bir dizi deneysel kanıt, periodontal hastalıkların birincil etiyolojik ajanlarının genellikle *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* (önceden *Bacteroides forsythus* olarak adlandırılmıştır), *Prevotella*, *Fusobacterium* ve *P. gingivalis*'i içeren Gram-negatif çubuklar olduğunu göstermiştir (How, Song, and Chan 2016).

2.5.1. *Porphyromonas Gingivalis*

Porphyromonas gingivalis, periodontitis patogeneğinde yer alan ve ağız boşluğunda yaşayan 500'den fazla bakteri türünün bir üyesi olan Gram negatif anaerob bir bakteridir. Bu bakteri, *Treponema denticola* ve *Tannerella forsythia* ile birlikte periodontitiste bir prototip polibakteriyel patojen konsorsiyumu olan "kırmızı kompleks"i oluşturur (Mysak ve ark.. 2014). *Porphyromonas gingivalis*, büyüme için anaerobik koşullar ve besin ortamında heme veya hemin ve K vitamininin bulunmasını gerektiren siyah pigmentli, asakarolitik, hareketsiz Gram negatif bir türdür. Metabolik

enerjisini amino asitleri fermente ederek kazanır (Bostanci and Belibasakis 2012). Kanlı agar kültüründe gözlenen *P. gingivalis* kolonilerinin oluşturduğu siyah pigmentasyon, hücre yüzeyinde heme agregasyonu ile ilişkilidir (Bostanci and Belibasakis 2012).

Mikrobiyal topluluklara karşı oluşan konakçı enflamatuvar ve immün yanıtlar, subgingival ortamı değiştirerek, *P. gingivalis* gibi önemli fırsatçı patojenlerin biyofilmde baskın bakteri olmasına neden olur, böylece simbiyotik mikroorganizmalar ve konakçı arasındaki homeostazı bozarak periodontitis gelişimine neden olur (Jia ve ark.. 2019).

P. gingivalis'in koroner arter, plasenta, karaciğer ve hatta beyin gibi bazı uzak organları kolonize ederek Toll benzeri reseptörlerin (TLR'ler) aktivasyonu ile ilişkili spesifik enfeksiyonlara neden olduğu, çeşitli hayvan deneylerinde gösterilmiştir (Olsen and Yilmaz 2016) .



Şekil 2.2. At kanlı agarda periodontopatojen *P. gingivalis*'in siyah pigmentli kolonileri (How, Song, and Chan 2016).

Periodontitiste tanımlanan kompleman kaçınma mekanizmaları ile ilgili olarak, bunların çoğunda *P. gingivalis*'in gingipain virülans faktörleri yer alır. Gingipainler, lizine özgü gingipain (Kgp) ve arginine özgü gingipainler (RgpA ve RgpB) dahil olmak üzere sistein proteinazlardır. Bu enzimler, periodontal doku bileşenlerini, antikorları ve C3 gibi kompleman sistemin bileşenlerini C3a-benzeri ve C3b-benzeri parçalara bölerek daha fazla bozunma ve inaktivasyona uğratar. Gingipainler ayrıca C5'i, konak C5 dönüştürücünün yaptığı gibi biyolojik olarak aktif C5a ve C5a benzeri parçalara ayırır. *P. gingivalis*, doğrudan C5 dönüşümü yoluyla biyolojik olarak aktif C5a üretmesine rağmen, ortaya çıkan C5b fragmanı, görünüşte zar atak kompleksinin oluşumunu önlemek için gingipainler tarafından kolayca bozunur. C3'ün inaktivasyonunun, komplement aktivasyonunun üç yolunu da önlediğine dikkat edilmelidir (Olsen, Lambris, and Hajishengallis 2017). Subgingival ortamda, *P. gingivalis* bir hayatta kalma muammasıyla karşı karşıyadır: bir yandan, bağışıklık aracılı öldürmeden kaçınmak zorundadır; Öte yandan, *P. gingivalis*, iltihap kaynaklı doku parçalanmasından besin elde etmek için iltihaplanmaya ihtiyaç duyar. Bu nedenle, bu taktik diğer birçok patojen için ortak bir kaçınma stratejisi olsa da, bağışıklık baskılamasının teşvik edilmesi *P. gingivalis* için geçerli bir seçenek değildir (Cyktor and Turner 2011). *Porphyromonas gingivalis* lokal olarak periodontal dokuları istila edebilir ve konak savunma mekanizmalarından kaçabilir. Bunu yaparken, enflamatuvar tepkilerin düzensizleşmesine neden olan virülans faktörleri kullanır (Mysak ve ark.. 2014). *P. gingivalis*'in, diş etine nüfuz edebilen ve enflamasyonu indükleyerek doğrudan veya dolaylı olarak doku tahribatına neden olabilen virülans faktörleri ürettiği bilinmektedir (Hajishengallis, Darveau, and Curtis 2012). Lipopolisakarit (LPS), patojenle ilişkili bir moleküler modeldir (PAMP) veya daha yakın zamanda mikropla ilişkili moleküler model (MAMP) olarak tanımlanmıştır (Medzhitov 2001). LPS aynı zamanda periodontal patojen *P. gingivalis* dahil Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının (yani dış hücre zarının) ana bileşenidir (Xu ve ark.. 2020).

P. Gingivalis'in genel olarak diğer virülans faktörleri şunlardır:

1-Enzimler (hiyalüronidaz, kondroitin sülfataz), kapsül: Fagositozu azaltır, kemotaksiyi inhibe ederler.

2-Fimbria, ekzopolisakarit, dış zar proteinleri: Konak hücrelerinin dış zarlarına bağlanmayı sağlarlar.

3-Kollajenaz, tripsin benzeri proteaz, jelatinaz: Plazma proteaz inhibitörlerinin bozulmasına, periodontal dokunun yıkımına neden olurlar.

4-Aminopeptidaz: Demir taşıma proteininin bozunmasına neden olurlar.

5-Lipopolisakaritler (How, Song, and Chan 2016).

2.5.2. Aggregatibacter Actinomycetemcomitans

Aggregatibacter Actinomycetemcomitans, periodontitis patogeneziyle ilişkili olabilecek birçok konak yanıtını aktive eden virülans faktörlerine sahip, fakültatif anaerobik gram negatif bakteridir (Belibasakis ve ark.. 2019). A. Actinomycetemcomitans, zor gelişir, hareketsizdir, çubuk şeklindedir ve 0.4-0.5 mikrometre x 1.0-1.5 mikrometre boyutundadır (Henderson, Ward, and Ready 2010). Bu bakteri, hastalık sürecinde erken kolonizörlerdendir, oksijen ve hidrojen peroksit dirençlidir, ancak daha sonra genellikle derin periodontal cepte zorunlu anaeroblar ile yer değiştirir (Oscarsson ve ark.. 2019). A. Actinomycetemcomitans, dış yüzeyine, oral epitelyuma ve matür supragingival plağa tutunup kolonize olmasını sağlayan adezin molekülleri üretir (Henderson, Ward, and Ready 2010). Bakteri, hayatta kalmak ve gelişmek için biyofilmdeki diğer bakterileri ve onların metabolik ürünlerini kullanır (Fine, Patil, and Velusamy 2019). Ek olarak, A. actinomycetemcomitans'ın lokal disbiyoz ve enfeksiyona duyarlılığa neden olabilecek diğer bakteriyel türlerin aşırı çoğalmasını pozitif yönde etkilediği öne sürülmektedir. Ayrıca A. Actinomycetemcomitans'ın sistemik hastalıklarla ilişkisi de mevcuttur. Endokardit, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, Alzheimer hastalığı ve romatoid artrit gibi birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Bu ilişkilerin arkasındaki mekanizmalar bilinmemektedir, ancak A. Actinomycetemcomitans'ın doku invazivliği, ekzotoksin üretimi, serum direnci ve dış membran vezikül salgısı gibi çeşitli virülans özellikleri bu durumdan sorumlu tutulmaktadır (Oscarsson ve ark.. 2019). Periodontopatojen Aggregatibacter Actinomycetemcomitans, diş eti sulkusunu kolonize eden, epitel dokuları proapoptotik virülans mekanizmaları ile istila eden ve preinflamatuvar stokin

salınımını stümüle eden ve daha birçok disbiyotik mekanizmaya neden olan çeşitli virülans faktörlere sahiptir (Herbert, Novince, and Kirkwood 2016).

2.5.2.1. Virulans Faktörleri

2.5.2.1.1. Demir Elde Etme

Bakteriler ve konakçıları arasında metal demir için evrimsel bir mücadele vardır. Yüksek afiniteli demir bağlayıcı kısımlar üretmek için çok sayıda evrimsel strateji geliştirilmiştir. Örneğin, *A. Actinomycetemcomitans*, hemoglobine bağlanan ve demir ediniminde rol oynayabilen bir lipopolisakkarite sahiptir. Bir çalışma *A. Actinomycetemcomitans*'ın hemoglobini bir demir kaynak olarak kullanabileceğini göstermiştir (Henderson, Ward, and Ready 2010).

2.5.2.1.2. Adezyon

Adezyona, hücre duvarında, dış membran proteinleri, veziküller, fimbria veya amorf malzeme şeklinde bulunan çok çeşitli adezinler aracılık eder (Ellis and Kuehn 2010). Bir bakteri belli bir ortama tutunamıyorsa yaşayamaz. Adezyon bu nedenle güçlü bir gelişmiş hayatta kalma mekanizması ve dolayısıyla patojenler için bir virülans mekanizmasıdır (Henderson, Ward, and Ready 2010). Bakteriler, fimbria ve flagella'nın uzun mesafeli yapışkan sistemlerinden fibriller ve kıvrımlara, bakteri hücre duvarına bağlı kısa menzilli yapışkan proteinlere kadar değişen bir dizi adezin geliştirmiştir. Bakteriyel adezinler ayrıca bakterilerin konak hücrelerinin içine girmesi için uygun ortam da hazırlayabilirler (Wilson, Henderson, and McNab 2002).

A. actinomycetemcomitans klinik izolatının analizi, tek tek bakterinin yüzeyinden uzanan çok sayıda dallanan fibrillere sahip olduğunu ortaya çıkardı. Ancak birkaç geçişten sonra bu fibriller kaybolarak yerini pürüzsüz bir yüzeye bıraktı. Bu demetlenmiş filamentlerin varlığı, *A. actinomycetemcomitans*'ın otoagregasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Henderson, Ward, and Ready 2010). Fimbrialar, küçük filamentli hücre yüzey uzantılarıdır. Çapları 2 mikrometreden fazla olan ve demetler halinde peritriköz bir dizilimde meydana gelirler. İki tip koloni oluşturur; yıldız şekilli iç koloniler (yıldız pozitif) veya lifsiz suşlar (yıldız negatif). Fimbrialarda en bol bulunan protein, moleküler kütlesi 6.5k Da olan 304-a'dır (Raja, Ummer, and Dhivakar 2014).

A. actinomycetemcomitans, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8'in proinflatuar sitokin üretimini yükselterek ve hücre apoptozunu artırarak insan diş eti epitel katmanlarından geçebilmektedir (Dickinson ve ark.. 2011) .

2.5.2.1.4. Toksinler

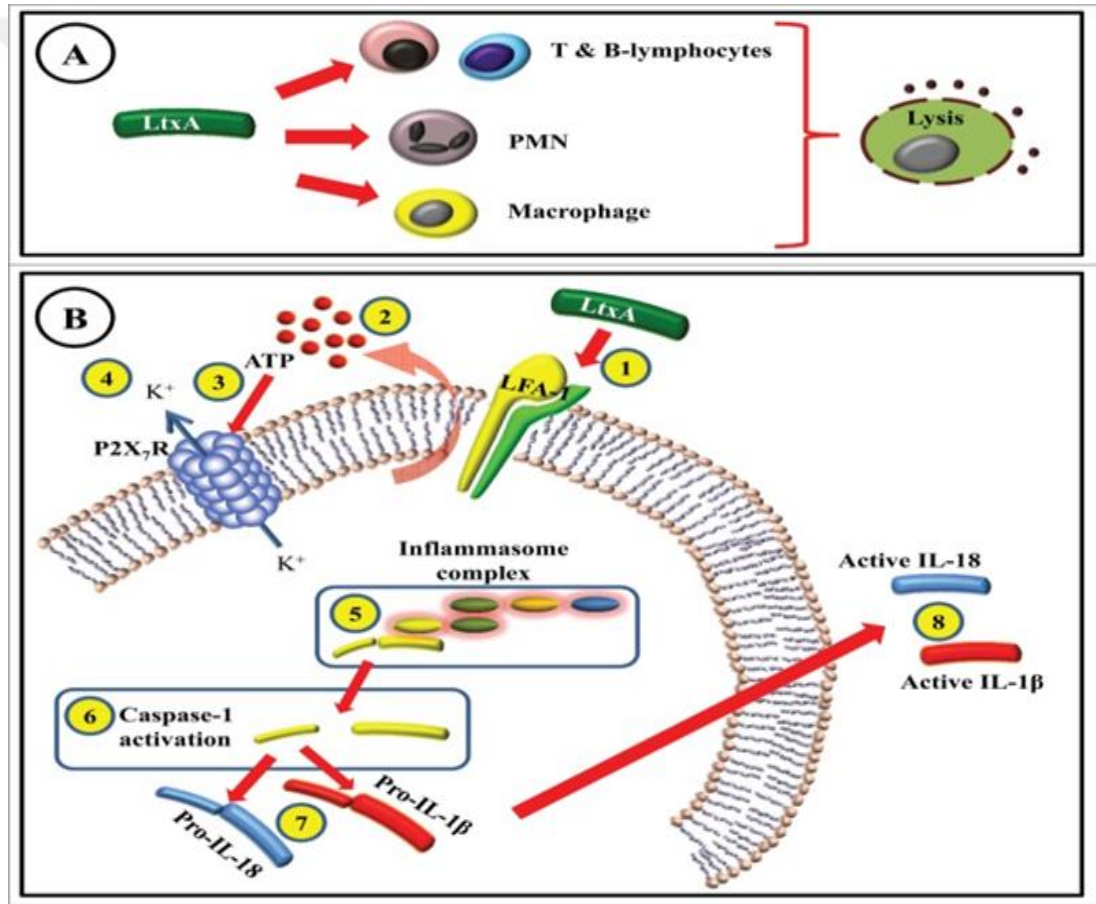
A. actinomycetemcomitans, endotoksinler ve ekzotoksinler gibi virülans faktörlere sahiptir. Endotoksin, tüm Gram-negatif bakteri türleri tarafından eksprese edilir ve genel olarak proinflatuar konak tepkisine neden olurken, sahip olduğu iki ekzotoksin olan Sitoletal Distansiyon Toksini(CDT) ve Lökotoksin (LtxA), *A. actinomycetemcomitans* için benzersizdir (Åberg, Kelk, and Johansson 2015).

A. actinomycetemcomitans'ın "taç mücevheri" virülans faktörleri, uzun süredir onun lökotoksini olmuştur (Belibasakis ve ark.. 2019). Bu lökotoksin, bu bakteri türünün çekirdek genomuna ait bir operon tarafından kodlanır (Höglund Åberg ve ark.. 2014). Bakterinin lökotoksini (LtxA) ifade etme yeteneği, önemli bir virülans özelliği olarak kabul edilir (Åberg, Kelk, and Johansson 2015). Lökotoksin, beyaz kan hücrelerini çeşitli şekillerde öldürür ve lökosit yıkımı, sonraki bakteriyel büyüme ve konakçının inflammatuar yanıtının uyarılması için gereklidir (Johansson 2011). Lökotoksisite, adolesanlarda ataçman kaybı ile büyük ölçüde ilişkilidir ve bu, toksinin periodontitis patogeneğinde önemli bir rolü olduğunu gösterir (Höglund Åberg ve ark.. 2014). Lökotoksin, insan lökositlerini spesifik olarak aktive eder ve parçalar, aynı zamanda makrofajlardan önemli miktarda IL-1 β salınımını indükler. RTX (Kendi İçinde Tekrarlayan) toksin ailesine mensup, gözenek oluşturunca bir proteindir (Johansson 2011).

Bununla birlikte, bir Sitoletal Distansiyon Toksini (CDT) de tanımlanmıştır. Sitoletal Distansiyon Toksini (CDT), klinik olarak önemli birkaç Gram-negatif mukokutanöz bakteriyel patojen tarafından üretilen heterotrimerik AB-tipi bir genotoksindir (Jinadasa ve ark.. 2011). CDT, çok çeşitli kültürlenmiş memeli hücre soylarında karakteristik ve geri dönüşümsüz hücre döngüsü durmasına ve apoptoza neden olur. CDT'ye maruz kalan memeli hücreleri, hücre döngüsü durması ve apoptoz ile sonuçlanan, iyonlaştırıcı radyasyon kaynaklı DNA çift sarmal kırılmaları ile ortaya çıkana benzer bir DNA hasarı tepkisi başlatır (Jinadasa ve ark.. 2011). CDT'ler, konak

hücre proliferasyonunu bloke eder ve osteoklastogenezde anahtar bir faktör olan nükleer faktör kappa-B ligandının (RANKL) reseptör aktivatörünün ekspresyonunu artırarak konakçı hücrelerin ölümüne neden olur (Åberg, Kelk, and Johansson 2015).

A. actinomycetemcomitans, oral mikrobiyomun bu iki protein ekzotoksini (Lökotoksin ve CDT) veya ikisinden herhangi birini üreten tek üyesidir. (DiRienzo 2014). Bu bakteri türü tarafından üretilen Sitoletal Distansiyon Toksini (CDT), hastalığın ilerlemesi üzerinde sınırlı etkiye sahip gibi görünse de, bakteri tarafından üretilen başka bir toksin olan Lökotoksin için bunun tersi bildirilmiştir (Höglund Åberg ve ark.. 2013).



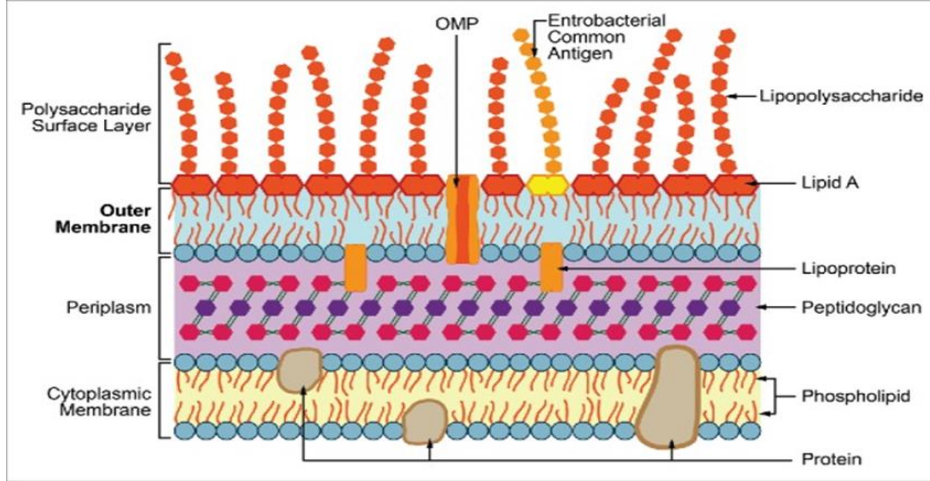
Şekil 2.4. (A) *A. actinomycetemcomitans* lökotoxin'in (LtxA) T-, B-lenfositler, polimorfonükleer (PMN) lökositler ve makrofajlarla etkileşimi hücre lizisine yol açar. (B) Makrofajlarda LtxA kaynaklı hücre ölümü, hücre parçalanması meydana gelmeden önce birkaç adımı içerir. LtxA, LFA-1'e (1) bağlanır ve ATP'nin (2) hücre dışı salınımını indükler. Serbest bırakılan ATP, daha sonra potasyum çıkışına (4)

neden olan P2X7-reseptörüne (3) bağlanır. Kaspaz-1 (6) adı verilen bir sistein proteinazın bölünmesini ve aktivasyonunu destekleyen iltihaplanma kompleksi oluşturulur ve aktive edilir (5). Bölünmüş kaspaz-1 daha sonra aktivasyondan (7) ve bol miktarda aktif IL-1 β ve IL-18'in (8) salınmasından sorumludur (Åberg, Kelk, and Johansson 2015).

2.5.2.1.5. Hücresel Mekanizmalar

Escherichia coli gibi gram negatif bakterilerde dış zar, çözünen maddelerin girişini ve çıkışını kontrol eden koruyucu bir bariyer görevi görür. Ek olarak, enterobakteriyel ortak antijen gibi diğer lipopolisakkaritleri ve birçok durumda ek bir katman olarak kullanılabilen bir polisakkarit kapsülü içerir (Alexander and Rietschel 2001). Bakteriyel lipopolisakkaritler (LPS), hemen hemen tüm Gram-negatif bakterilerde bulunan ana dış yüzey zar bileşenleridir ve böceklerden insanlara kadar çeşitli ökaryotik türlerde doğuştan gelen veya doğal bağışıklığın son derece güçlü uyarıcıları olarak işlev görür (Alexander and Rietschel 2001). LPS, lipit A olarak adlandırılan spesifik bir karbonhidrat lipit parçası tarafından dış bakteri zarına bağlanan bir poli- veya oligosakkarit bölgesinden oluşur. Lipid A bileşeni, LPS'nin birincil immün sistemi uyarıcı merkezidir (Alexander and Rietschel 2001).

Hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakteriler, "sıfır tipi" sekresyon olarak adlandırılan yöntemle içi patojen protein dolu olan membran vezikülleri oluştururlar ve bu sayede patojenitelerini artırırlar (Uhlén ve ark.. 2014). Membran vezikülleri aracılığıyla bakteriler, konakçı hücreleri, bakteri ve hedef memeli hücreleri arasında yakın bir temas gerekliliği olmaksızın, nispeten yüksek konsantrasyonlarda toksinlere ve ek virülans faktörlerine maruz bırakabilir (Thay ve ark.. 2014). Dış membran vezikülleri ayrıca, antimikrobiyal peptit direncinde rol almak gibi çeşitli savunma işlevlerine sahiptir (MacDonald and Kuehn 2012). *A. actinomycetemcomitans*, çok sayıda vezikül veya kabarcıklara sahiptir. Yüksek derecede lökotoksik suşlar daha fazla veziküle sahip olma eğilimindedir. Bu veziküller, kemik rezorpsiyon aktivitesine sahip endotoksin ve aktinobasilin adı verilen bir bakteriyosin içerir. Bu veziküller ayrıca yapışkan özellikler sergiler ve toksik maddeler için dağıtım araçları olarak işlev görür (Raja, Ummer, and Dhivakar 2014).



Şekil 2.5. Gram negatif hücre duvarı yapısı (Benso 2017).

2.5.3. *Prevotella İntermedia*

Prevotella intermedia periodontitis ile ilişkili önemli bir türdür (Karched ve ark.. 2022). Gram-negatif, çubuk şeklinde, siyah pigmente, zorunlu anaerob bir bakteridir (Yamashita ve ark.. 2020). *P. intermedia* genellikle akut nekrotizan diş eti iltihabı, gebelik diş eti iltihabı ve kronik periodontitis hastalarında subgingival plaktan izole edilir (Loesche ve ark.. 1982).

2.5.3.1. Virulans Faktörleri

2.5.3.1.1. İnterpain A

Büyüme, hayatta kalma ve virülans için bir hem gereksinimi vardır. Monomerik demir (III) protoporfirin IX (Fe(III)PPIX.OH; hematin) içeren demir porfirin içeren bir pigment üretir. Bakteri, interpain A (InpA) olarak adlandırılan 90 kDa'lık bir sistein proteazı üretir; Bununla birlikte, enzimin, heme'nin türetildiği diş eti oluşunda veya periodontal cepte bulunan diğer hem taşıyan plazma proteinlerini parçalamada bir rol oynayabileceği bilinmemektedir (Byrne ve ark.. 2015). *P. intermedia*, diğer bakteriyel patojenlere benzer şekilde, kompleman sistem tarafından öldürmekten kaçınmak için çeşitli stratejilere sahiptir (Potempa ve ark.. 2009). İnsan serumunun *P. intermedia*'nın rekombinant sistein proteazı (interpain A) ile inkübasyonu, serumun bakterisidal aktivitesinde ciddi bir düşüşle sonuçlanır (Potempa ve ark.. 2009). *P. intermedia*'nın, kompleman faktörlerini verimli bir şekilde parçalamak için gingipain üreten *P.*

gingivalis ile birlikte ko-aggrege olduğu bilinmektedir. Burada, interpain A'nın, komplement yıkımı üzerinde gingipain ile sinerjistik bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Ek olarak, interpain A, serumdaki C1 kompleksini aktive ederek, lokal inflamatuvar reaksiyonun bir patojen için yararlı olabileceği enfeksiyonun ilk aşamalarında önemli olabilecek inert ve bakteriyel yüzeylerde C1q birikmesine neden olduğu görülmüştür. Birlikte ele alındığında, yeni karakterize edilen interpain A proteinazı, P. intermedia'nın önemli bir virülans faktörü gibi görünmektedir (Potempa ve ark.. 2009).

2.5.3.1.2. Nötrofil Oluşum ve Fonksiyon Bozukluğu

P. intermedia ve T. forsythia ile enfekte dental folikül kök hücreleri söz konusu olduğunda bu, kemotaksis, fagositik aktivite ve polimorfonükleer lökositlerin (PMN) oluşumunun azalmasına yol açarak enfekte dokuda antienflamatuvar aktiviteyi azaltır. Özellikle aktive edilmiş nötrofiller tarafından konak doku hasarına ilişkin olarak, dental folikül kök hücrelerinin rolü iki ucu keskin bir kılıçtır, çünkü PMN aktivitesini baskılamak periodontal patojenik bakterilerin daha iyi hayatta kalmasına yol açar, sürekli bir enflamasyon kaynağı ve bağışıklık yanıtı ve dolayısıyla doku yıkımına neden olur (Hieke ve ark.. 2016).

2.5.3.2. Solunum Sistemi Patolojileri

Kuvvetli bir periodontal patojen olmasının yanında, P. intermedia son zamanlarda kistik fibroz hava yolu örneklerinde de tespit edilmiştir. Ulrich ve ark. P. intermedia'nın solunum yolundaki patojenik potansiyelini bildirmiş ve P. intermedia'nın hücre dışı toksinlerinin insan alveoler tip II hücreleri ve nötrofiller için sitotoksik olduğunu göstermiştir (Nagaoka ve ark.. 2014).

2.5.3.3. Ankilozan Spondilit

Ankilozan spondilit, periodontitis ile ilişkilidir, ankilozan spondilitli olanlarda önemli ölçüde daha yüksek periodontitis riski vardır. Ankilozan spondilit ve periodontitis pek çok açıdan benzer iki hastalıktır. Sitokin profilleri hemen hemen

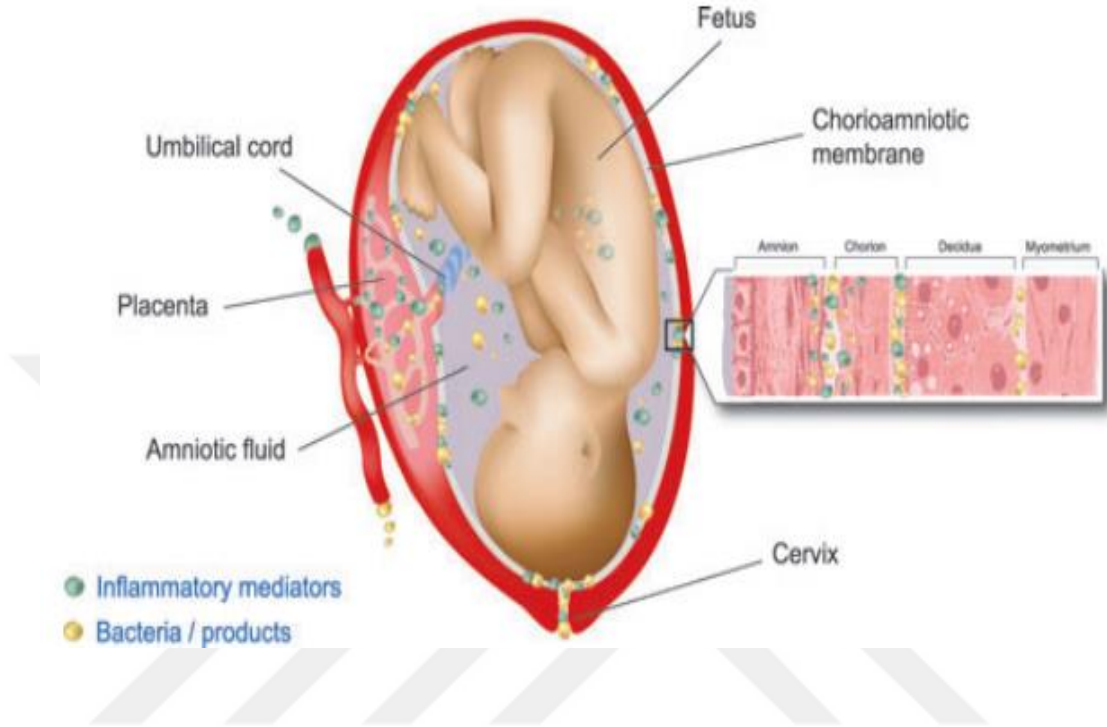
aynıdır ve her iki hastalık da yumuşak ve sert bağ dokusunda görülür. Anti-P gingivalis ve anti-Prevotella intermedia antikör titreleri, ankilozan spondilitli hastalarda, sağlıklı insanlara göre daha yüksek bulunur (Öğrendik 2017).

2.5.3.4. Prematüre Bebek ve Düşük Doğum Ağırlığı

Prematüre bebekler, 37. gebelik haftasını tamamlamadan doğan bebeklerdir. Gebeliklerin tahminen %11'i erken doğumla sonuçlanıyor ve bu oran, tıptaki önemli ilerlemelere ve doğum öncesi bakım alanındaki gelişmelere rağmen, birçok gelişmiş ülkede artıyor gibi görünüyor. Özellikle ilgi çekici olan, 32 gebelik haftasından önce doğan çok prematüre bebeklerdir çünkü bunların çoğu, başta akciğer gelişimi ve işlevindeki bozulma sonucu artan perinatal ölümleri nedeniyle yenidoğan yoğun bakım gerektirmektedir (Walia and Saini 2015). Düşük doğum ağırlığı ise 2.500 gr'ın altında doğan bir bebek olarak tanımlanır (Nannan, Xiaoping, and Ying 2022).

Artan sayıda literatür, periodontal hastalık ile prematüre düşük doğum ağırlığı arasında bir bağlantı olduğunu ileri sürmektedir (Ye ve ark.. 2020). N-R Calixto ve arkadaşları, yeni annelerin biyofilm örneklerinden yola çıkarak yaptıkları çalışmada, periodontal patojenlerin yüksek varlığı göz önüne alındığında, periodontitis ile prematüre bebek ve/veya düşük doğum ağırlığı arasında patofizyolojik ilişki kurulabileceğini öne sürmüşlerdir (Calixto ve ark.. 2019). Erken doğuma yol açan altta yatan mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, periodontitis ve prematüre doğum arasındaki ilişkiyi açıklayabilecek iki patofizyolojik mekanizma öne sürülmüştür: birincisi Prevotella intermedia gibi mikroorganizmaların hematojen yayılma yoluyla plasentaya ve amniyotik boşluğa doğrudan invazyonu yoluyla, fetal-plasental ünite içinde bir immün reaksiyona neden olduğunu; ikincisi ise dolaylı olarak, patojenlerin istilasına karşı bir bağışıklık tepkisi olarak periodontal ve fetoplasental dokularda üretilen enflamatuar mediatörler aracılığıyla olduğunu savunmaktadır (Bartha ve ark.. 2022). Periodontal patojenler ve metabolitleri, inflammatuar mediyatörlerin salınımını düzenleyerek dişi destekleyen dokuların progresif ve inflammatuar lezyonlarını etkilerken, aynı zamanda periodontal patojenler ve inflammatuar mediatörlerin plasentaya yayılarak çeşitli olumsuz gebelik sonuçlarına yol açabileceği genel olarak kabul edilmektedir (Figuro, Han, and Furuichi 2020). Hem bir meta-analiz hem de bir kohort çalışması, periodontitisi olmayan hamile

kadınlarla karşılaştırıldığında, periodontitisli hamile kadınların erken doğum riskinin periodontitisli olmayan kadınlara göre iki katına çıktığını göstermiştir (Nannan, Xiaoping, and Ying 2022).



Şekil 2.6. Bakteriler ve inflamatuvar mediatörlerin intrauterin etkisi (Sanz and Kornman 2013).

2.5.4. Streptococcus Mutans

Streptococcus mutans, Gram pozitif bir bakteridir ve yedi mutans streptokok türünden biridir (Bachtar ve ark.. 2022). Streptococcus mutans (S.mutans) çürük oluşumuna yol açan en önemli etkenlerden biridir. Bu bakteri, 1924 yılında çürük lezyonlarından izole edilmiş ve sonuç olarak Koch'un varsayımlarıyla tutarlı olarak çürüğün etiyolojik ajanı olarak kabul edilmiştir (Szafranski ve ark.. 2017). S. mutans, diş plağının oluşumuna önemli ölçüde katkıda bulunur. PAc ve yapışkan glukan ile kaplı zarını diş üzerindeki pelikula tutturma yeteneğine sahiptir. Bu yapışkan glukan, diğer oral bakterilerin bağlanmasına aracılık ederek diş yüzeyinde biyofilm gelişimini

destekler. Bu nedenle *S. mutans*, birçok oral bakteri türü ile etkileşime girerek, diş plaklarında diğer oral bakterilerle rekabet etmesine veya iş birliği yapmasına izin veren mekanizmalar geliştirir (Watanabe ve ark.. 2021). *S. mutans* tarafından ağız boşluğunun başarılı bir şekilde kolonizasyonu ve çok türlü diş plağında kalıcılık, doğal olarak hem biyofilm oluşturma yeteneğine hem de glikolitik yolla karbonhidratların hızlı metabolizmasına bağlıdır. Asidik metabolik son ürünlerin birikmesinden kaynaklanan düşük pH, sağlıklı plak mikroflorasına göre *S. mutans* ve diğer aside toleranslı türlerin büyümesinin yanı sıra diş minesinin nihai demineralizasyonu ve çürük gelişimine neden olur (Orsini, Lewis, and Rice 2017). *S. mutans*'ın diş yüzeyine yapışması ve müteakip biyofilm gelişimine, glukozil transferaz enzimleri tarafından sükroza bağımlı hücre dışı glukan polimerlerinin üretimi, spesifik hücre yüzeyi adezinleri, majör otolizin AtlA, quorum sensing sistemi dahil olmak üzere çeşitli bakteriyel faktörler aracılık eder (Orsini, Lewis, and Rice 2017).

S. mutans, diğer mikroorganizmalarla birlikte farklı glukanlar üretir ve aynı zamanda diş plağını asitleştirir. Bunun sonucunda dişin mineralize yapısı bozulur ve diş çürükleri oluşur (Motamedifar, Khosropanah, and Dabiri 2016). *Streptococcus mutans*, normalde ağız boşluğunda bulunan kommensal bir bakteridir. *S. mutans*'ın, özellikle düz yüzey çürükleri için önemli bir karyojenik bakteri olmasının nedeni diş plağı oluşumu için gerekli olan ve glukan adı verilen ekzopolisakaritlerin sentezine aracılık eden glukosiltransferazlar üretebilmesidir (Watanabe ve ark.. 2021). Mikropsuz kemirgen enfeksiyon modellerinde bu bakterinin çürük başlatma yeteneği ve ağız boşluğundaki yüksek seviyeleri ile aktif çürükler arasında kuvvetli bir bağlantı gözlemlenmiştir (Orsini, Lewis, and Rice 2017). *S. mutans*'ın mine yüzeyine tutunabilme, metabolit üretebilme ve ekstraselüler polisakkarit bileşenler (EPS) oluşturabilme gibi sahip olduğu bu özellikler, diş çürüğünün oluşumuna neden olur (Kriswandini ve ark.. 2020). Fazla miktarda konakçı şeker alımının varlığında ve titiz ağız hijyeninin yokluğunda, *S. mutans*, bir glukan matrisinin sentezi yoluyla dişlere güçlü bir şekilde yapışır ve mikro çevreyi asitlendirmek için glikolitik son ürünleri kullanarak diş plağına hızla hakim olur. Ayrıca diğer rakiplerini de öldürür (Baker, Faustoferri, and Quivey 2017).

Biyofilmler, bir yüzeye sıkı bir şekilde bağlı olan ve ekzopolisakkaritler (EPS), proteinler ve nükleik asitler gibi polimerik maddelerin üç boyutlu hücre dışı bir matris içinde birbirine dolanmış, son derece dinamik ve yapılandırılmış mikrobiyal hücre topluluklarıdır (Branda ve ark.. 2005). Spesifik mikroorganizmalar tarafından üretilen hücre dışı matris, mikrobiyal adezyonu ve kohezyonu desteklerken aynı zamanda difüzyonu da engeller. Temel olarak, biyofilm gelişimi için üç boyutlu bir yapı iskelesi sağlayarak mekansal, metabolik ve mikro çevresel heterojenlikleri şekillendirmeye yardımcı olur. Bu nedenle matris, biyofilm yaşam tarzının varlığı ve bakteriyel ve fungal patojenler tarafından virülansın tam ifadesi için kritik öneme sahiptir. Sonuç olarak, matris oluşturucular (yani, polimerik maddeleri üreten veya işleyen mikroorganizmalar) biyofilmlerin gelişiminde önemli bir rol oynar (Klein ve ark.. 2015). Biofilm, mikroorganizmaların interbakteriyel etkileşimlerin bir sonucu olarak meydana gelen değişiklikler ve tüm yapıyı koruyan bir ekzopolisakarit matrisinin varlığı yoluyla, hücrelerin antibiyotiklere ve değişen çevresel koşullara karşı daha dirençli hale geldiği üç boyutlu yapılar oluşturmaya olanak tanır (Krzysciak ve ark.. 2014).

S. mutans, geçici bakteriyemi yoluyla riskli hasta gruplarında endokarditi başlatabilir (Nakano ve ark.. 2006). Oral streptokok türleri, zaman zaman bakteriyemi ve enfektif endokardite neden olduğu bilinen oral mikrofloranın ana bileşenleridir (Moreillon and Que 2004).

Hücre-hücre iletişimi, sağlık ve disbiyoz arasındaki dengeyi bozabilecek mekanizmalardan biri olabilir (Thompson, Oliveira, and Xavier 2016). Oral biyofilmler, yüksek tür çeşitliliği, bitişik hücreler arasındaki fiziksel temas ve topluluğun büyük metabolik aktivitesi nedeniyle hücre-hücre iletişiminin sık olduğu yerlerdir (Guo, He, and Shi 2014). *S. mutans*, quorum sensing (QS) sisteminin işleyişi nispeten derinlemesine anlaşıldığından ve bazı özellikleri korunduğundan, oral biyofilmlerde QS'nin rolünü incelemek için iyi bir model organizmadır. Streptokoklarda, kısa hidrofobik peptitler, bir RGG tipi transkripsiyonel regülatör yoluyla yetkinliği indükler (Cook and Federle 2014). Bu peptitlerin türler arası iletişime aracılık ettiği ve antibakteriyel stratejiler için kullanıldığı gösterilmiştir (Szafranski ve ark.. 2017). *S. mutans*, sırasıyla yeterlilik indükleyici peptit (CSP) ve

sigX indükleyici peptit (XIP) olmak üzere iki quorum sensing (QS) sinyalini sentezler ve bu sinyaller iki bileşenli bir sinyal sistemi (ComDE) ve bir Rgg tipi hücre içi transkripsiyon regülatörü (ComR) yoluyla algılanır (Mashburn-Warren, Morrison, and Federle 2010).

Pek çok bakterinin bakteriyosin adı verilen antibakteriyel peptitler ürettiği iyi bilinmektedir. Bakteriyosinler, ribozomal olarak sentezlenen peptitler veya proteinlerdir. *Lactococcus lactis* tarafından üretilen nisin A gibi bazı bakteriyosinler geniş bir spektrum gösterse de, genel olarak bakteriyosinler, bakteriyosin üreticileriyle yakından ilişkili türlere karşı antibakteriyel aktivite gösterir (Watanabe ve ark.. 2021). *S. mutans*'ın birkaç bakteriyosin türü ürettiği bildirilmiştir. *S. mutans*'ın başlıca bakteriyosinleri mutasinler I-IV, K8 ve Smb'dir. Bu bakteriyosinlerin çeşitli bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Watanabe ve ark.. 2021).

2.5.5. Streptococcus Salivarius

Streptococcus salivarius (*S. Salivarius*), konakçının yaşamı boyunca insan ağız boşluğunda kolonize olan ve genellikle sağlıklı ilişkilendirilen Gram pozitif probiyotik bir bakteridir (Burton ve ark.. 2011). *S. salivarius*, insanların ağız boşluğu ve üst solunum yollarının epitelyal yüzeylerinin ilk ve en önemli öncü kolonizatörlerinden biridir. Yaşam boyunca oral mikrobiyotanın baskın üyesi olarak orada kalır (Stašková ve ark.. 2021).

Probiyotikler, “uygun miktarda tüketildiğinde sağlığa yararlı olan canlı bakteriler” olarak tanımlanmaktadır (Kopp-Hoolihan 2001). Probiyotik bakteriler, antimikrobiyal üretim yoluyla patojenik mikropları hedeflemek de dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla konak üzerinde sağlık yararları sağlayabilir (Dobson ve ark.. 2012). *Salivarius* grubu, genetik olarak benzer üç tür streptococctan oluşur: *Streptococcus salivarius* ve *Streptococcus vestibularis*, iki komensal bakteri ve viridans streptokok grubuna ait patojenik olmayan bir süt türü olan *Streptococcus thermophilus* (Delorme ve ark.. 2015).

S. salivarius K12 ve M18, başka bir oral patojen olan *Streptococcus pyogenes*'e karşı *in vitro* inhibitör aktiviteye sahiptir (Wescombe ve ark.. 2006). Her iki suş da, insan tüketimi için güvenli olan ve insan ağız boşluğunda, özellikle dil sırtında ve diğer mukozal zarlarda kalabilen çok sayıda bakteriyosini kodlar (MacDonald ve ark.. 2021). Bakteriyosinler, spesifik bakteriler tarafından üretilen ve diğer bakterilere karşı güçlü aktivite sergileyen antimikrobiyal peptitlerdir (Lawrence ve ark.. 2022). *S. salivarius* K12'nin plasebo kontrollü çalışmalarda yetişkinlerde ve çocuklarda tekrarlayan streptokok kaynaklı farenjiti önlediği ve anaerobik bakterilerden uçucu kükürt bileşiklerinin üretimini sınırlayarak ağız kokusunu azalttığı gösterilmiştir. *S. salivarius* M18 tüketimi ise çocuklarda dental plak skorlarını ve *S. mutans* konsantrasyonunu azaltabilmiştir (MacDonald ve ark.. 2021). Bakteriyosinogenik *Streptococcus salivarius* K12 suşunun oral patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması, yalnızca büyümeyi bastırmada değil, aynı zamanda biyofilm oluşumunu ortadan kaldırmada da umut verici sonuçlar vermektedir (Stašková ve ark.. 2021). *S. salivarius* suşları, diş çürüklerinde yer alan *S. mutans*'ın biyofilminin oluşturmasını engeller ve üst solunum yollarında potansiyel olarak patojenik bakterileri, örneğin *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus pyogenes*'i *in vitro* baskılar (Hu ve ark.. 2019). Hem yetişkinlerde hem de çocuklarda yürütülen son klinik deneyler, K12 suşu ile tedavinin bakteriyel faringotonsillit nükslerini sırasıyla yaklaşık %80 ve %90 oranında azalttığını göstermiştir. En az 90 günlük bir tedaviyi 6 aylık bir arınma dönemi takip etse bile, tekrarlamaya karşı koruma oranları yüksek kalır (her iki durumda da yaklaşık %60). Ön veriler, K12 suşu ile tedavinin çocuklarda akut orta kulak iltihabı nükslerini de %40 oranında azalttığını göstermektedir (Stašková ve ark.. 2021).

Ağız kokusu, ağız boşluğunda ve yakın organlarda oluşan hoş olmayan bir kokudur (Rosenberg ve ark.. 1991). Oral kötü kokunun birçok potansiyel nedeni vardır, ancak vakaların %80-90'ı ağız boşluğu içindeki faktörlerden kaynaklanır. Genellikle Gram negatif anaerobik bakterilerin, özellikle de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* ve *Fusobacterium* türlerinin (*Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium fusiform*, *Fusobacterium polymorphum*) eserdir (Yoo ve ark.. 2020). Bunlardan *P. gingivalis* ve *T. denticola*'nın sadece periodontal hastalıklarla ilişkili olmadığı bilinmektedir. Dilde

de bulunurlar ve dilin dorsal tarafına bağlandıklarında uçucu kükürt bileşiklerini (VSC'ler) sentezledikleri bilinir (Kishi ve ark.. 2013). Esas olarak oral kötü koku, biyofilmlerin içindeki anaerobik Gram negatif bakteriler tarafından üretilen VSC'lerden gelir (Kato ve ark.. 2005).

Ağız kokusu prevalansı artan bir eğilim göstermektedir, ancak tedavi yöntemleri, dişleri ve dili fırçalayarak biyofilmlerin fiziksel olarak uzaklaştırılmasını içeren ağız hijyeninin iyileştirilmesi veya ağız çalkalama içeren kimyasal yöntemlerle sınırlandırılmıştır (van den Broek, Feenstra, and de Baat 2008). Ancak son zamanlarda birçok çalışma probiyotiklerin ağız kokusunu azaltıcı etkilerini bildirmiştir. Burton ve ark. (2005), *S. salivarius* kullanarak kötü ağız kokusunu azaltma olasılığını açıklamıştır. Sonuç olarak, probiyotik bakterilerin kullanımı yoluyla ağız kokusuna neden olan bakterileri kontrol etmek için yeni bir tedavi önerilmiştir. *S. salivarius*, dilin dorsal tarafına yapışırken zararlı bakterileri uzaklaştırmak için bir hedefleme sistemi olarak kullanılabilir. Ayrıca tükürük vasıtasıyla büyük miktarda bakteriyosin salgılayabilirler. Ek olarak, *S. salivarius*, VSC'lerin sentezinden sorumlu bakterilerin kolonizasyonunu bloke ederek VSC'lerin sentezini inhibe edebilir (Yoo ve ark.. 2020).

2.6. Periodontal Tedavi

Periodontitis, disbiyotik diş plağı biyofilmleri ile ilişkili kronik çok faktörlü enflamatuvar bir hastalıktır (Sanz ve ark.. 2020). Diş destek aparatının ilerleyici yıkımı ile karakterizedir. Primer olarak, klinik ataşman kaybı ve radyografik olarak değerlendirilen alveolar kemik kaybı, periodontal cep oluşumu ve diş eti kanaması ile ortaya çıkan periodontal doku desteğinin kaybını içerir (Papapanou ve ark.. 2018). Çoğu durumda önlenabilir ve tedavi edilebilir olmasına rağmen eğer tedavi edilmezse diş kaybına neden olabilir (Sanz ve ark.. 2020).

2.6.1. Faz 1 Periodontal Tedavi

Başarılı periodontal tedavi, diş yüzeyi ile ilişkili diş plağında ve ağız boşluğundaki diğer nişlerde bulunan patojenik organizmaları ortadan kaldırmayı amaçlayan antienfektif prosedürlere bağlıdır. Antienfektif tedavi, diş eti iltihabı ve periodontitisin birincil etiyolojisi olan mikrobiyal biyofilmi (bakteriyel plak) en aza indirmek veya

ortadan kaldırmak için hem mekanik hem de kemoterapötik yaklaşımları içerir (Drisko 2001). Supragingival dental biyofilmin ve kalsifiye birikintilerin (diş taşı) uzaklaştırılması, plak kaynaklı periodontal hastalıkların temel tedavisinin yanı sıra periodontitisin önlenmesinde de önemli bir bileşen olarak kabul edilir. Diş anatomisi ile ilişkili veya daha sıklıkla uyumsuz restoratif sınırlara bağlı olarak tutucu faktörlerin varlığı sıklıkla diş eti iltihabı ve/veya periodontal ataşman kaybı ile ilişkili olduğundan, periodontal sağlık üzerindeki etkilerini azaltmak için önlenmeli/ortadan kaldırılmalıdır (Sanz ve ark.. 2020).

2.6.1.1. Oral Hijyen Eğitimi ve Risk Faktörlerinin Ortadan Kaldırılması

Tedavinin ilk basamağı, periodontitis hastasına, reçete edilen tedaviye uyumunu ve yeterli sonuçların güvence altına alınmasını kolaylaştırmak için önleyici ve sağlığı geliştirme araçlarını sağlamayı amaçlar. Bu adım, yalnızca kendi kendine yeterli ağız hijyeni uygulamalarını gerçekleştirmek için hastanın motivasyonunun ve davranış değişikliklerinin uygulanmasını değil, aynı zamanda bu hastalığı önemli ölçüde etkileyen lokal ve sistemik değiştirilebilir risk faktörlerinin kontrolünü de içerir. Örneğin sigara ve diyabet periodontitis etiyopatogenezinde kanıtlanmış iki risk faktörüdür (Papapanou ve ark.. 2018). Tedavinin bu ilk adımı bir periodontitis hastasını tedavi etmek için yetersiz olsa da, optimal tedavi yanıtı ve uzun dönemli stabil sonuçlar için temel teşkil eder (Sanz ve ark.. 2020). Bu ilk adım, sadece diş eti iltihabını kontrol etmeyi amaçlayan eğitici ve önleyici müdahaleleri değil, aynı zamanda lokal retantif faktörlerin ortadan kaldırılmasıyla birlikte supragingival plak ve diş taşının profesyonel mekanik olarak uzaklaştırılmasını da içerir (Sanz ve ark.. 2020).

2.6.1.2. Mekanik Periodontal Tedavi

Mekanik tedavi, plak, endotoksin, diş taşı ve diğer plak tutucu yerel faktörleri uzaklaştırmak için elle kullanılan veya ultrasonik olarak çalışan enstrümanların titiz kullanımıyla kron ve köklerin debridmanından oluşur. Mekanik tedavi terimi, hem supragingival hem de subgingival debridmanın yanı sıra kök yüzeyi düzleştirmeyi ifade eder (Drisko 2001). Supragingival ve subgingival diş taşı temizliği, kök yüzeyi düzleştirme ve küretaj için kullanılan teknikler; el enstrümantasyonu, sonik ve

ultrasonik enstrümantasyon, lazer ile skaling, demineralizasyon ve kimyasal ve kimyasal skaling olarak sayılabilir. Ancak günümüzde en çok el aletleri ve ultrasonik aletler kullanılmaktadır (Arabaci, Ciçek, and Canakçi 2007). Bazı durumlarda, hastayı takip ve idame fazına geçirmeden önce gerekli olan tek kesin periodontal tedavi, cerrahi müdahale olmaksızın diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme ile sınırlı olabilir (Drisko and Lewis 1996).

2.6.1.2.1. Supragingival Debridman

Supragingival dental biyofilmin ve kalsifiye birikintilerin (diş taşı) mekanik olarak uzaklaştırılması, faz 1 tedavide önemli bir bileşen olarak kabul edilir (Chapple ve ark.. 2018). 25 denekte 450 gün takip edilen bölünmüş ağızlı randomize kontrollü klinik bir çalışmada, subgingival debridmandan önce supragingival debridman yapılmasının subgingival tedavi ihtiyaçlarını azalttığı ve zaman içinde periodontal stabiliteyi koruduğu sonucuna varılmıştır (Gomes ve ark.. 2014).

2.6.1.2.2. Subgingival Debridman

Subgingival debridman, bilimsel literatürde farklı isimler almıştır: subgingival skaling, kök yüzeyi düzleştirme bunlardan bazılarıdır (Lang and Karring 1994). Periodontal cepte kök yüzeyinde subgingival plak ve diş taşı, periodontitisin oluşumu ve gelişmesinde en önemli lokal faktörlerdir. Bu nedenle, cerrahi olmayan cep/kök enstrümantasyonunun nihai amacı, kökü mikrobiyal birikintilerden ve taşlardan arındırmaktır (Yan ve ark.. 2020). Subgingival mekanik debridman, başlangıç derinliği ≥ 7 mm olan ceplerde ortalama 2,16 mm ataşman kazancı sağlar (Jentsch ve ark.. 2016). Kök debridmanı genellikle sonik ve ultrasonik aletler ile küretler gibi el aletlerinin bir kombinasyonu ile gerçekleştirilir ve ardından el aletleriyle kök yüzeyi düzleştirme yapılır. Universal ve Gracey olmak üzere iki temel küret türü vardır ve çoğu model bileme gerektirir. Bu iki tip küret, alana özgülük, kesici kenarların sayısı, kesici kenarın eğrisi ve yüzün uç gövdeye olan açısı açısından farklılık gösterir (Krishna and De Stefano 2016).

Subgingival plağın profesyonel olarak uzaklaştırılmasına ek olarak hasta tarafından evde yapılan düzenli bakım uygulamaları, genellikle enflamatuar

periodontal hastalıkların kontrolünde çok etkilidir. Subgingival enstrümantasyon, diş yüzeyindeki sert ve yumuşak birikintileri gidererek yumuşak doku iltihabını azaltmayı amaçlar (Drisko 2001). Tedavinin nihai amacı, sondlama cep derinliğinin ≤ 4 mm olması ve sondlamada kanama olmamasıdır (Sanz ve ark.. 2020).

1970'lerde Hatfield ve Aleo, endotoksinin semente nüfuz edebildiğini ve fibroblastların bağlanmasını etkileyebildiğini keşfettiler, bu da "kök yüzeyi düzleştirme" kavramın ortaya çıkmasını sağladı. Bu kavram ile endotoksinleri sement içinden uzaklaştırmak, bu sayede periodontal dokunun tekrar semente bağlanmasına ve iyileşmesine yardımcı olmak için biyouyumlu, pürüzsüz, sert ve temiz bir kök yüzeyi oluşturmaktır (Yan ve ark.. 2020). 1994 yılında, periodontoloji üzerine ilk Avrupa Çalıştay Konferansı, "subgingival debridman" terimi üzerinde, yani subgingival plak ve diş taşını uzaklaştırmak ve sementi mümkün olduğunca korumak için nazik bir yöntem kullanmak konusunda fikir birliğine vardı (Marsh 1994). 1970'lerin başlarında, lipopolisakaritlerin (endotoksinler) semente bağlanabileceği ve periodontal sağlığın sağlanması için sementin tamamen çıkarılmasının endike olabileceği öne sürüldü. Şu anda, endotoksinin semente yapışan ancak nüfuz etmeyen veya semente hafifçe bağlı olan ancak taşla bütünleşmeyen bir yüzey fenomeni olduğu bilinmektedir. Bu nedenle endotoksin sanılanın aksine kök yüzeyinden daha az radikal yöntemlerle uzaklaştırılabilir. Daha önceki önerilerin aksine, mevcut araştırmalar, kasıtlı radikal sement uzaklaştırma yerine ultrasonik aletlerle 15 kadar hafif üst üste gelen darbelerle debridmanı desteklemektedir. Checci ve ark. yaptıkları çalışmada ultrason ile minimal enstrümantasyonu takiben daha önce hastalıklı köklere fibroblastların yeniden bağlandığını gösterdi. Ultrasonik aletler, sement veya dentini kaldırmadan veya önemli kök yüzeyi değişikliği olmadan kök yüzeyinden endotoksini uzaklaştırabilir (Drisko and Lewis 1996).

Geçmişte, diş hekimleri bu lokal tahriş edici maddeleri uzaklaştırmak için çeşitli manuel aletler (örn. kretuar, küretler) kullanıyordu. Daha sonra, ultrasonik uçların titreşimi ve yanı sıra soğutma suyunun etkisi ile plak ve taşın etkili bir şekilde kaldırılabilmesi bulundu, bu da ultrasonik aletleri periodontitisin cerrahi olmayan tedavisinde yaygın hale getirdi. Bu yöntemler toplu olarak "subgingival skaling" olarak adlandırılır (Yan ve ark.. 2020). Geçmişte enfeksiyon kontrolü, subgingival

plak, diş taşı ve endotoksin birikintilerinin küretler ile mekanik olarak uzaklaştırılmasıyla sağlanıyordu. Tarihsel olarak, daha önce kök yüzeylerine derin bir şekilde gömüldüğü düşünülen endotoksinlerin çıkarılması için mümkün olduğunca pürüzsüz kökler üretmek üzere inatçı taş birikintilerini gidermek için el aletleriyle agresif kök yüzeyi düzleştirmenin gerekli olduğu konusunda da genel bir kabul mevcuttu. Ancak literatürdeki mevcut kanıtlara dayanarak, artık endotoksinin kök yüzeyine zayıf bir şekilde yapıştığı ve sonik ve ultrasonik (güçle çalışan) aletler ile kökün aşırı enstrümantasyonu ve yoğun sement inceltmesi olmadan da kesin kök detoksifikasyonu elde edilebildiği ve maksimum yara iyileşmesi sağlanabildiği bilinmektedir (Drisko 1998).

Ancak yine de karşıt görüşler mevcuttur. Bazı otörler ultrasonik aletlerin, el aletlerine göre daha az kök yapısını kaldırdığını ancak arkasında daha pürüzlü bir yüzey bıraktığını savunmakta periodontitisten etkilenen köklerin tedavisinde son bitirme prosedürü olarak ultrasonik kullanımdan sonra kök yüzeyini düzleştirmek için el enstrümantasyonu önermektedir (Krishna and De Stefano 2016).

2.6.1.2.3. Sonik ve Ultrasonik Aletler

Bu tür aletler, öncelikle salınımlı ucunun fiziksel hareketiyle diş yüzeyindeki birikintileri giderir. Birikintilerin kök yüzeyinden uzaklaştırılmasına yardımcı olabilecek iki mekanizma daha vardır. İlk mekanizma, soğutma suyu kaynağında meydana gelen kavitasyon tarafından üretilen yüksek enerjili şok dalgalarıdır ve ikincisi akustik mikro akıştır (Arabaci, Cicek, and Canakçi 2007). Schenk ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, ultrasonik aletlerin, periodontopatojenlere karşı bakterisidal olduğunu ve özellikle erişimin sınırlı olduğu alanlarda, subgingival plak bakterilerini azaltmada el aletlerine daha avantajlı olacağını vurgulamışlardır (Schenk ve ark.. 2000).

2.6.1.2.4. Air Polishing İşlemi

Air polishing işlemi, destekleyici periodontal tedavi sırasında subgingival biyofilmin çıkarılması için yerleşik bir prosedür haline gelmiştir. Ultrasonik

enstrümantasyon veya el aletlerinin kullanımı gibi standart prosedürlerle ilgili çeşitli çalışmalarda karşılaştırılabilir klinik ve mikrobiyolojik sonuçlar gösterilmiştir (Kruse ve ark.. 2022). 13 klinik çalışmayı içeren yeni bir sistematik inceleme, biyofilmin kontrolünde ve periodontal inflamasyonun azaltılmasında benzer bir etkinliği doğrulamıştır (Nascimento ve ark.. 2021). Subgingival air polishing işleminin ana avantajları, daha düşük aşındırıcılık ve tedavi için daha az zaman gerektirmesidir (Petersilka 2011). 3-5 mm'lik ceplerde, plak örneklerine bakıldığında subgingival biyofilmin azaltılması açısından air polishing işleminin el enstrümantasyonundan daha üstün olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, daha küçük ceplerde, (Derinlik ≤ 3 mm) için subgingival biyofilmin yeterli şekilde uzaklaştırıldığı gözlemlenebilir. (Kruse ve ark.. 2022).

2.6.1.3. Mekanik Tedavide Nihai Hedef

Hastalığın nüksetmesi, genellikle yeterli supragingival ve subgingival plak kontrolünün olmaması ya da diyabet veya sigara içme gibi konak tepkisini negatif yönde etkileyen diğer risk faktörlerine atfedilebilir. Nükseden hastalığa neden olan faktörler arasında derin erişilemeyen cepler, çıkıntılar, uyumsuz restoratif materyal marjinleri ve diş taşı gibi plak için retantif alan oluşturan yapılar yer alır. Çoğu durumda, lokal anestezi altında kapsamlı bir periodontal debridman yapmak ve risk faktörlerini ortadan kaldırmak hastalığın ilerlemesini durduracak ve aktif hastalığın klinik belirti ve semptomlarında iyileşme ile sonuçlanacaktır (Drisko 2001).

2.6.1.3. Kemoterapötik Uygulamalar

2.6.1.3.1. Sistemik Antibiyotik Tedavisi

Periodontitis, dişeti marjinde veya altında biyofilmlerde bulunan bakterilerin neden olduğu bir enfeksiyondur. Bu nedenle, periodontal biyofilm içinde potansiyel patojenik bakteriyel türleri hedeflemeyi amaçlayan periodontal tedavinin bir parçası olarak çok çeşitli sistemik antibiyotiklerin kullanılması şaşırtıcı değildir (Heitz-Mayfield 2009).

Patojenik bakterilerin bu karmaşık bakteri topluluklarındaki varlığının, onlara karşı savaşmayı amaçlayan antimikrobiyal tedavilerin kullanımında önemli etkileri

olabilir (Herrera ve ark.. 2008). Mekanik diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme veya cerrahi gibi mekanik araçlarla tedavi, genellikle önemli klinik iyileşme ile sonuçlanır, ancak hastalığın ilerlemesini veya nüksünü engelleyemeyebilir. Birçok çalışma, mekanik tedavi ile progresif ataşman kaybı ve kemik kaybının engellenebilmesinin ve kalıcı stabilite elde etme olasılığının, büyük ölçüde, patojenik mikroorganizmaların yerel subgingival bölgelerde hala mevcut olup olmadığına bağlı olduğunu göstermiştir. Örneğin genel olarak, şiddetli periodontitisli hastalar, tek başına mekanik debridman tedavisine daha zayıf bir yanıt verir. Bu muhtemelen, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve *Porphyromonas gingivalis*in dokuyu istila etme kapasitesinden kaynaklanmaktadır ve bu kapasite, bunların tek başına mekanik terapi yoluyla ortadan kaldırılmasını aşırı derecede zorlaştırmaktadır. Amoksisilin ve metronidazolün mekanik debridmanla birlikte sistemik uygulanmasının, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve *Porphyromonas gingivalis* azaltmak veya ortadan kaldırmak ve klinik sonuçları iyileştirmek için başarılı bir yöntem olduğu gösterilmiştir (Skurska ve ark.. 2015). Enfekte edici bakteriyel türler; diğerlerinin yanı sıra, tetrasiklin sınıfı ilaçlar, amoksisilin ve metronidazol ve ayrıca lokal klorheksidine maruz kalma dahil olmak üzere çeşitli antibiyotikler tarafından öldürülmeye duyarlıdır. Bu nedenle nihai sonuç için mekanik tedavi sistemik antibiyotik kullanımı ile desteklenebilir (Page 2004). Örneğin mekanik tedavi ile kombinasyon halinde kullanılan metronidazol, sondlama derinliğinde azalma ve klinik ataşman seviyesi kazanımı açısından tek başına mekanik tedaviden daha etkilidir (Sgolastra ve ark.. 2014). Mekanik tedavi ve yardımcı olarak amoksisilin-metronidazol kombine antibiyotik tedavisinin klinik ve mikrobiyolojik sonuçları, tip 2 diyabet hastalarında yalnızca mekanik tedavili hastalara göre daha iyidir (Miranda ve ark.. 2014).

Azitromisin ise Gram-negatif aerobik ve anaerobik bakterilere karşı etkilidir. Dokuya yavaşça salınır ve periodontal dokularda uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir (Muniz ve ark.. 2013). Bakteriyel protein sentezini, quorum sensingi engelleyen, biyofilm oluşumunu azaltan ve konak yanıtını modüle eden bir makrolittir (Parnham ve ark.. 2014). Azitromisin in vitro olarak osteoklastların oluşumunu ve aktivitesini baskılar (Gannon ve ark.. 2013). Ayrıca *Porphyromonas gingivalis* lipopolisakkaritleri

tarafından uyarılan diş eti fibroblastlarında, enflamatuar mediatörlerin üretimini azaltır (Doyle ve ark.. 2015).

Sistemik doksisisiklin verilen periodontitisli diyabetik hastalarda, 3 ay sonra doksisisiklin verilmeyenlere kıyasla klinik ataçman seviyesinde önemli ölçüde daha büyük bir artış görülmüştür. Bu sonuçlar, sadece mekanik tedavi ile karşılaştırıldığında, yardımcı sistemik doksisisiklin verilmesinin periodontal lezyonlarda daha iyi bir iyileşme olduğunu göstermektedir (Yap and Pulikkotil 2019).

Birçok çalışma, hücre dışı matriks metalloproteinazların (MMP), özellikle MMP-8 ve MMP-9'un periodontal doku yıkımında önemli bir rol oynayabileceğini göstermiştir (Kumar ve ark.. 2006). Dişeti oluğu sıvısı, periodontal dokulardaki inflammatuar durumlarda önemli ölçüde artan inflammatuar bir eksudadır. Dişeti oluğu sıvısı artışına, nötrofillerin migrasyonu eşlik eder ve bu nötrofiller daha sonra granüllerinden matriks metalloproteinaz 8 ve 9 (MMP-8 ve 9) salınımı yaparlar (Skurska ve ark.. 2015). Periodontitisli hastalarda dişeti oluğu sıvısında yüksek miktarda MMP-8 ve MMP-9 seviyeleri bulunmuştur (Marcaccini ve ark.. 2010), (Gonçalves ve ark.. 2013). Skurska ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, şiddetli periodontitisli hastalarda, yardımcı sistemik amoksisilin ve metronidazol uygulamasıyla birlikte cerrahi olmayan periodontal tedavinin, yardımcı fotodinamik tedaviye oranla dişeti oluğu sıvısı MMP-8 seviyelerini düşürmede daha etkili olduğunu göstermektedir (Skurska ve ark.. 2015).

Bakterilerin bir diş yüzeyine bağlandıklarında ve olgun bir biyofilm yapısı içinde bulunduklarında, planktonik veya serbest yüzen bakterilere kıyasla antimikrobiyalere karşı daha az bir duyarlılığa sahip oldukları gösterilmiştir. Bu nedenle, periodontitisi tedavi etmek için sistemik antibiyotikler kullanırken, biyofilmi bozmak için mekanik debridman kritik kabul edilir (Heitz-Mayfield 2009). Mekanik debridman olmadan monoterapi olarak reçete edilen antibiyotiklerin, periodontitis tedavisinde etkili olup olmadığı sorusu, Haffajee ve ark. tarafından araştırılmıştır. Yaptıkları çalışmada, tek başına metronidazolü değerlendiren dört çalışmanın sonuçlarından yola çıkmışlar, ayrıca metronidazolü monoterapi olarak amoksisilin ile birleştirmişler ve bu çalışmaların sonucunda tek başına antibiyotiğin etkisinin, mekanik tedavi ile olan

tedaviye kıyasla minimal ve kısa vadeli olduğu sonucuna varmışlardır (Heitz-Mayfield 2009).

Ayrıca, Topoll ve ark. ileri periodontal hastalığı olan hastalarda, subgingival debridman yapılmadan direkt geniş spektrumlu oral sistemik antibiyotik tedavisi uygulanan hastalarda çoklu periodontal apse gelişimini bildirmiştir (Topoll, Lange, and Müller 1990). İleri periodontal hastalığı olan hastalarda, subgingival debridman yapılmadan sistemik antibiyotik tedavisi uygulanması sonucu, subgingival mikrobiyotanın bileşiminin değişebileceği ve bunun da çoklu periodontal apse ile sonuçlanabileceği sonucuna varılmıştır (Heitz-Mayfield 2009).

Mekanik debridman ile birlikte amoksisilin ve metronidazolün sistemik uygulamasının *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve *Porphyromonas gingivalis* azaltmak veya ortadan kaldırmak için başarılı bir yöntem olduğu gösterilmiştir (Skurska ve ark.. 2015).

Periodontal hastalıkların tedavisinde sistemik antibiyotik kullanımı ile ilgili faktörler arasında, olumsuz etkiler de dikkate alınmalıdır. Özellikle hastalar için bireysel yan etkiler ve büyük bir küresel halk sağlığı sorunu olan bakteriyel direnç artışı bunlardan en önemlileridir. Bu faktörler sistemik antibiyotikleri reçete ederken dikkate alınmalıdır ve bunlar rutin olarak değil, bazı hastalarda ve tanımlanmış periodontal koşullar altında kullanılmamalıdır (Herrera ve ark.. 2008). Aksi halde bilinçsiz antibiyotik tedavisi uygulanması, genellikle sindirim sistemi ve genitoüriner yolu içeren istenmeyen yan etkiler ve bakteriyel direnç gelişimine neden olur (Skurska ve ark.. 2015).

2.6.1.3.2. Lokal Antimikrobiyal Tedaviler

İdeal anti-biyofilm yaklaşımı, mikrobiyal disbiyozu neden olmamak için kommensal canlılığa müdahale etmeden, biyofilm oluşumu gibi önemli bir virülans faktörünü inhibe ederek patojenleri etkisiz hale getirebilmelidir (Elnagdy ve ark.. 2021).

Periodontitis gibi daha ileri hastalık durumlarında, periodontal mikrobiyotanın çeşitliliği artar. Supragingival olarak, yoğun filament içeren plaktan oluşurken, subgingival olarak çevredeki ortamda mevcut oksijenin azalması nedeniyle

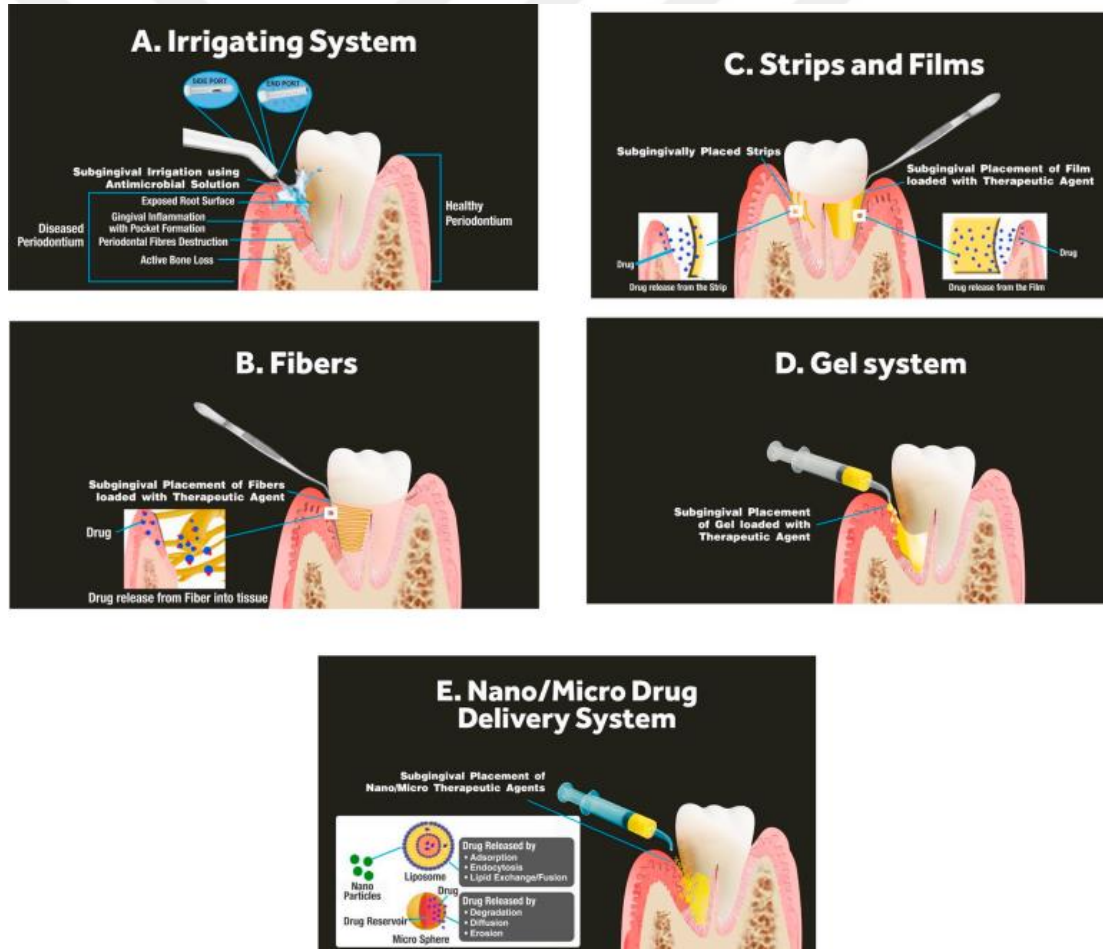
plak, esas olarak kamçılı bakteriler, spiroketler ve Gram-negatif bakterilerden oluşur (Listgarten and Helldén 1978). Biyofilm oluşumunu başlatan erken kolonizörler esas olarak Streptococcus ve Actinomyces gibi gram-pozitif bakterilerdir. Bu bakteriler subgingival biyofilmin, Fusobacterium nucleatum gibi sekonder kolonizörler için uygun hale gelmesini sağlarlar. Fusobacterium nucleatum bir “köprü türü” görevi görür. Agregasyon yoluyla, geç kolonize edicilerin ve Porphyromonas gingivalis gibi periopatojenlerin, erken kolonizörler ile bağlantı kurup plağa dahil olmalarını sağlar (Elnagdy ve ark.. 2021).

Yıllar boyunca yapılan klinik deneyler, hastanın uygun plak kontrolü ile birlikte titiz diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme işleminin periodontitisi durdurabileceğini göstermiştir, ancak bu tedavi her zaman tamamen etkili değildir ve bu nedenle yardımcı tedavilerin dikkate alınması gerekir (Kinane 2000). Tekrarlayan hastalık, derin periodontal cepler, erişim zorluğu ve düzensiz kök yüzeyleri, biyofilm birikintilerinin çıkarılmasını zorlaştırır ve ek tedavilere ihtiyaç duyulabilir. Ek olarak, periodontitise duyarlı bireyler, ekolojik zorlukların üstesinden gelmek için ek müdahaleler gerektirebilir (Chatzopoulos, Koidou, and Tsalikis 2023). Spesifik olarak periodontitis ve peri-implantitis için yaygın olarak kullanılan anti-biyofilm ajanlar, sistemik veya lokal olarak verilebilen çeşitli antibiyotikleri ve antiseptikleri içerir (Elnagdy ve ark.. 2021).

Lokal kademeli antibiyotik salınımının, sistemik uygulamadan daha etkili olduğu kanıtlanmıştır (Petrescu ve ark.. 2022). Çünkü sistemik antimikrobiyallerin çoğu, yanlış kullanım sonucu mikrobiyal direnç gelişimi, enfeksiyon bölgesine ulaşamaması veya ulaşsa bile bölgede yeterli konsantrasyona çıkamaması ve zayıf doku penetrasyonu gibi dezavantajlara sahiptir (H ve ark.. 2019).

Anti-mikrobiyal ilaçları doğrudan periodontal ceplere ileten birkaç yavaş salınlı lokal tedavi yöntemi geliştirilmiştir ve şu anda piyasada bulunmaktadır. Bu yöntemlerin kullanımı, uzun süreli, yüksek konsantrasyonlarda doksisisiklin (Atridox), minosiklin (Arestin) ve klorheksidinin (PerioChip) doğrudan periodontal ceplere lokal olarak verilmesine izin verir (Page 2004).

Yapılan klinik çalışmalarda, mekanik tedavi ile birleştirilen birkaç lokal anti-enfektif ajan uygulamasının, tek başına mekanik tedaviye kıyasla cep derinliğini azaltma ve klinik ataçman kazancı sağlamada ek faydalar sağladığı görülmektedir (Hanes and Purvis 2003). Lokal antimikrobiyallerin kullanımı, tek başına subgingival debridman ile karşılaştırıldığında, periodontal klinik sonuçlarda hiçbir yan etki olmaksızın önemli gelişmeler sağlayabilir (Chatzopoulos, Koidou, and Tsalikis 2023). Ayrıca lokal yardımcı antimikrobiyallerin uygulanması, ilaç yan etki riskini ve sistemik antimikrobiyallere bağlı antibiyotik direnci gelişimini muhtemelen azaltabilir (Pretzl ve ark.. 2019).



Şekil 2.7. Periodontolojide lokal antimikrobiyal ajan uygulamalarının şematik gösterimi. A: Oral irrigasyon sistemi, B: Fiberler, C: Şeritler ve filmler, D: Jeller, E: Nano/Mikro Ajan sistemi (H ve ark.. 2019).

2.6.1.3.2.1. Ağız İrrigasyonu

Oral irrigasyon, profesyonel olarak uygulanan (diş kliniğinde diş hekimleri tarafından kullanılan) ve periodontal hastalığı önlemek için hastaların evde bizzat uyguladığı irrigasyon sistemi olarak tanımlanabilir. İrrigasyon, sabit su basınç kuvveti ile yapılır ve oluşturulan su basıncı ile doku üzerindeki bakteriler ve yan ürünleri periodontal ceplerden kolaylıkla uzaklaştırılabilir. İrigasyon, bakterileri diş ve periodontal doku yüzeyinden uzaklaştırırken plak bakterilerinde spesifik olmayan azalmaya neden olur (H ve ark.. 2019).

İrrigasyon solüsyonu olarak %0,6 triklosan, %1 polihekzametilen guanidin fosfat, %10 povidon-iyot, %0,25 sodyum hipoklorit, %0,75 borik asit ve 20 mg/mL konsantrasyonda ozonlu su kullanımına ilişkin birçok klinik çalışma rapor edilmiştir (Sholapurkar ve ark.. 2020). Ancak genel olarak, irrigasyon sistemlerinin geçici bir etkiye sahip oldukları için kısa vadede önemli ölçüde iyi sonuçlar verdiği ancak klinik parametreler üzerinde önemli bir uzun vadeli etkisinin olmadığı görülmüştür. Bu sınırlamalar, fiberler, filmler, şeritler, mikroküreler ve nanopartiküller gibi daha etkili ilaç dağıtım sistemleri arayışına yol açmıştır (H ve ark.. 2019).

2.6.1.3.2.2. Fiberler

Fiberler, bir uygulayıcı ile periodontal ceplere çevresel olarak yerleştirilen ve ilacın cebe sürekli olarak salınması için siyanoakrilat yapıştırıcı veya bir periodontal pat ile sabitlenen rezervuar tipi sistemlerdir (Sholapurkar ve ark.. 2020).

2.6.1.3.2.2.1. Tetrasiklin Fiber

Tetrasiklin, bakteriyel protein sentezine müdahale eden ve doku kollajenaz aktivitesini inhibe ederek etki gösteren yarı sentetik, geniş spektrumlu, bakteriyostatik bir ajandır (Sachdeva and Agarwal 2011). Son 10 yılda, araştırmacıların fiberlere Tetrasiklin ilacını dahil ettiği ve periodontitis tedavisinde olumlu klinik sonuçlar (Klinik ataçman seviyesinde artış ve sondlama derinliklerinde azalma) bulduğu birçok çalışma yapılmıştır (Sholapurkar ve ark.. 2020). Rezorbe olmayan polimerler yapıları malzemelerin, malzemeyi çıkarmak için ikinci bir klinik randevusu gerektirmektedir. Bu nedenle tetrasiklin yüklü fibriler kollajen gibi biyolojik olarak parçalanabilir bazı

polimerlerin üretimine odaklanan çalışmalar yürütülmüştür. Bu sistemler, tek başına mekanik tedavi ile karşılaştırıldığında 4 hafta içinde cep derinliğinde azalma ve ataşman seviyesi kazanımı ile 8 haftaya kadar difüzyon yoluyla sürekli ilaç salımını ortaya koymuştur (Gautami, Ramaraju, and Gunashekhar 2012).

2.6.1.3.2.3. Matris Dağıtım Sistemi—Filmler, Şeritler ve Chipler

Şeritler ve filmler, interproksimal periodontal cep boşluğuna tam olarak yerleştirildiğinde aktif terapötik ajanları kontrollü ve sürekli bir şekilde iletmek için tasarlanmış polimer bazlı ince matris sistemi bantlarıdır (Jain ve ark.. 2008).

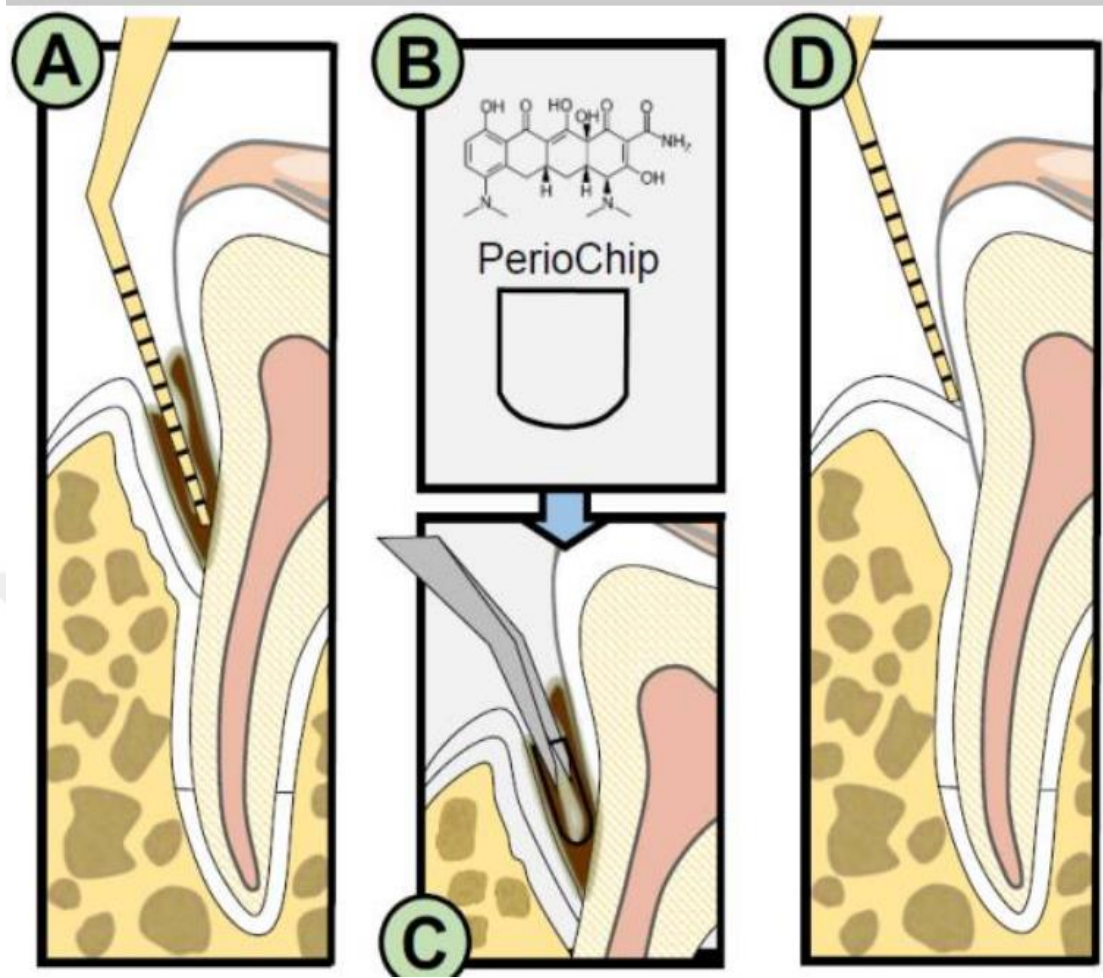
2.6.1.3.2.3.1. PerioChip

Periochip, 2.5 mg Klorheksidin (CHX) glukonat (konsantrasyon %34 CHX'tir) içeren, glutaraldehit ile hidrolize çapraz bağlı jelatinden oluşan biyolojik olarak parçalanabilir bir matrise eklenmiş, kontrollü subgingival uygulama sistemidir (Sholapurkar ve ark.. 2020). Klorheksidin Gluconate Chip (PerioChip), mekanik tedavi ile birlikte kullanılan ve tek başına mekanik tedaviye kıyasla daha iyi sonuçlara yol açan bir üründür (Paquette, Ryan, and Wilder 2008). Antibiyotiklerin yanı sıra, mekanik tedavi ile birlikte klorheksidinin lokal olarak verilmesinin, periodontal tedavinin sonucunu iyileştirdiği gösterilmiştir (Rosa ve ark.. 2021). Mekanik tedavi artı CHX Glukonat Chip ile tedavi edilen başlangıç cep derinliği ≥ 7 mm olup en az 2 mm azalma gösteren cep sayısının, tek başına mekanik tedaviye kıyasla neredeyse iki katına çıktığı gösterilmiştir (Killooy 1998). Ayrıca çalışmalar, cep derinliğindeki ortalama iyileşmenin 2,3 ile 3,4 mm arasında olduğunu ve klinik ataşman seviyesi kazancının 1,0-2,3 mm arasında olduğunu göstermiştir (Szulc, Zakrzewska, and Zborowski 2018). PerioChipte her bir doz, cepteki subgingival mikroorganizmaların %99'undan fazlasını inhibe edebilen ve bir haftadan uzun süre minimum inhibitör konsantrasyondan (MIC) (90) daha yüksek bir konsantrasyon seviyesini koruyabilen 2,5 mg CHX glukonat içerir (Stanley, Wilson, and Newman 1989). Bu etki, proteinlerin ve glikoproteinlerin bakteriyel bozunmasını ve sonuç olarak bakteri

gelişimi için gerekli besinlerin mevcudiyetini azaltır (Beighton, Decker, and Homer 1991).

Bununla birlikte, PerioChip, *P. gingivalis* ve *T. forsythia* gibi en derin ceplerde bulunan ve kronik periodontitis ile ilişkilendirilen periodontal patojenler üzerinde önemli bir azaltma etkisine sahiptir (Pattnaik ve ark.. 2015). Mekanik tedavi ve PerioChip ile tedavi edilen bölgelerdeki cep derinliğindeki azalma; bu hastaların sadece mekanik tedavi gören hastalara kıyasla, tedaviden 1 ay sonrasına kadar daha düşük bakteri sayısına sahip olmaları ile açıklanabilir. İlk iyileşme fazı sırasında PerioChip'in antimikrobiyal etkileri nedeniyle, bakteriyel biyofilmin başlangıç olgunlaşması bozulur ve periodontal dokuların daha iyi iyileşmesi sağlanır (Rosa ve ark.. 2021).

Ancak, CHX Gluconate Chip'in, periodontal tedavinin idame fazında tek başına mekanik tedaviye herhangi bir ek fayda sağlamadığı görülmüştür.(Rodrigues ve ark.. 2007).



Şekil 2.8. Biyofilmi azaltmak için cerrahi olmayan periodontal debridmandan sonra Klorheksidin (A) içeren çip ile lokal uygulama tedavisi; (B) glutaraldehit ile çapraz bağlanmış, biyolojik olarak parçalanabilen hidrolize jelatin matrisinden oluşan küçük çip (4,5 x 3,5 mm²), ayrıca içine 2,5 mg Klorheksidin Glukonatın dahil edildiği gliserin ve su içerir; (C) Periodontal cebe yerleştirilen Perio Chip; (D) Mekanik tedaviye ek olarak Perio Chip ile cep derinliği ve klinik ataçman seviyesinde iyileşme (Elnagdy ve ark.. 2021).

2.6.1.3.2.4. Jeller

Jeller, sıvı parçacıkların/aktif ilaç moleküllerinin, sabit durumdayken akış göstermeyen katı bir ortam içinde düzgün bir şekilde dağıldığı seyreltik, çapraz bağlı yarı katı sistemlerdir (H ve ark.. 2019). Antimikrobiyal ajanları içeren jeller, karbopol, ksantan, karboksi metil selüloz ve kitosan gibi çeşitli polimerler kullanılarak formüle edilir (Sholapurkar ve ark.. 2020).

Bir klinik çalışma, %1,5 klorheksidin içeren ksantan sakızı bazlı bir jel olan Chlosite'in, periodontal cebe yerleştirildikten sonra 10-30 gün içinde kademeli olarak bozulduğunu ve lokal bölgede minimum 15 gün boyunca klorheksidinin minimum inhibitör konsantrasyonunu koruduğunu göstermiştir (Deng ve ark.. 2019).

Ticari olarak temin edilebilen başka bir matris bazlı minosiklin HCL (%2) formülasyonu, Avrupa Birliği'nde Dentomycin ve Japonya'da Periocline olarak mevcuttur. Bu Minosiklin, hidroksietil selüloz, ödragit, triasetin ve magnezyum klorürden oluşan bir matrise dahil edilmiştir (H ve ark.. 2019).

Klindamisin, geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna, daha iyi biyoyararlanıma, uygun doku dağılımına ve daha düşük yan etki insidansına sahip klasik bir makroliddir (Agarwal ve ark.. 2012). Makrolidlerin, sağlıklı dokulara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek konsantrasyonda enfekte dokulara nüfuz etme kabiliyetine sahip olduğu öne sürülmüştür. CLM, fagositler, monositler, fibroblastlar, polimorfonükleer hücreler, makrofajlar ve lenfositler tarafından biriktirilir. Bu hücreler periodontal hastalık bölgelerinde daha yaygın olduğundan, daha büyük faydalar beklenebilir (Sholapurkar ve ark.. 2020).

Azitromisin, yarı sentetik, aside dayanıklı bir antibiyotiktir ve azalidler adı verilen yeni bir makrolid sınıfının prototipini temsil eder. Periodontal patojenlere karşı etkili olduğu ve ayrıca subgingival mikrofloraya karşı önemli ölçüde daha az bakteriyel direnç sahip olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, Azitromisin jeli piyasada kullanım için henüz ticari olarak mevcut değildir (Sholapurkar ve ark.. 2020).

Moksifloksasin, geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip dördüncü nesil bir florokinolon antibiyotiktir. Adenozin trifosfata bağımlı topoizomerez IV ve topoizomerez II'yi (DNA giraz) spesifik olarak inhibe ederek bakterisidal bir etki gösterir (Flemmig ve ark.. 2011). Yapılan bir klinik çalışmada periodontitisli hastalara, tam ağız dezenfeksiyondan hemen sonra bir jel veya plasebo jel içinde farklı konsantrasyonlarda (%0,125, %0,4 veya %1,25) moksifloksasin jelin tek bir subgingival uygulaması yapıldı. %0,4 Moksifloksasin jel grubu, tek başına mekanik tedaviye kıyasla cep derinliğinde ek azalmasıyla sonuçlandı (Flemmig ve ark.. 2011).

Metronidazol, periodontal hastalıkların tedavisinde kullanılan yaygın antibiyotikler arasındadır (Eastham and Seymour 2014). Elyzol, son birkaç yıldır periodontitis tedavisinde kullanılan Metronidazol %25 yağ bazlı, viskoz, topikal diş jeli içerir (Eastham and Seymour 2014). Miani PK ve ark. %15 Metronidazol bazlı deneysel jel grubunun müdahale sonrası bakteri sayısını düşürme açısından kontrol grubuna göre üstün olduğu sonucuna varmışlardır (Miani ve ark.. 2012).

2.6.1.3.2.4.1. Atridox

Atridox, subgingival bölgeye doksisisiklin hyclate'in lokal olarak verildiği ABD-FDA onaylı iki şırınga karıştırmalı bir sistemdir (H ve ark.. 2019). Doksisisiklin, tetrasiklin ile karşılaştırıldığında daha iyi emilim, protein bağlanması ve dokulara difüzyon sağlayan ve daha uzun süreli etki gösteren üçüncü nesil bir tetrasiklindir (Da Rocha ve ark.. 2015). Doksisisiklin, antimikrobiyal özelliklerle karakterizedir ve konak bağ dokusunu parçalayan bazı enzimler için inhibitör etki gösterir (Gu ve ark.. 2010). Cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak doksisisiklin jelin lokal uygulaması, periodontitis hastalarında olumlu sonuçlar göstermiştir ve sigara içenlerde daha iyi klinik ataçman kazancı sağlamıştır (Chatzopoulos, Koidou, and Tsalikis 2023).

Lokal tedaviden 2 saat sonra periodontal cepteki doksisisiklin seviyeleri 1500–2000 µg/mL arasında bulunmuştur. İlacın seviyeleri 18 saatte 1000 µg/mL'nin üzerinde kalmış ve ardından kademeli olarak düşmeye başlamıştır. Doksisisiklinin lokal uygulamasına yönelik, Doksisisiklin(DOX) Hyclate'in (%10 DOX hyclate (Atridox®), bir antimikrobiyal ajan olarak cep derinliğinin azalmasını sağlamak ve klinik ataçman kazancı elde etmek için etkinliğini bildiren birçok çalışma mevcuttur (Sholapurkar ve ark.. 2020). Klinik çalışmalar, dişeti oluşu sıvısındaki doksisisiklin seviyelerinin 2 saatte 1500–2000 µg/mL'lik maksimum konsantrasyona ulaştığını ve minimum 7 gün boyunca etkili antimikrobiyal konsantrasyonları koruduğunu ve polimerin büyük kısmının (yaklaşık %95) biyolojik olarak metabolize edildiğini ve 1 ayda cepten atıldığını göstermiştir (Garrett ve ark.. 1999).

2.6.1.3.2.5. Mikropartikül Sistemler

Mikropartiküller, ilaçların dış ortamdan korunmasına, uyumsuzluğun ortadan kaldırılmasına veya hoş olmayan tadın maskelenmesine, biyoyararlanım ve sürekli terapötik aktivitenin artmasına olanak tanıyan, polimerik matris boyunca düzgün bir şekilde dağılmış aktif terapötik ajanları içerecek şekilde tasarlanmış, çapı 1–1000 µm olan katı küresel polimerik yapılardır (Arsiwala, Desai, and Patravale 2014).

Mikropartiküller; çipler, diş macunları/jel sistemleri ve cebe doğrudan enjeksiyon gibi çeşitli taşıyıcı sistemler yoluyla iletilebilir (Yang, Chung, and Ng 2001). Mikropartikül bazlı bir sistem, ilacın içinde kapsüllendiği Poli Laktit (PLA) veya Poli (Laktit-ko-glikolit) PLGA gibi biyolojik olarak parçalanabilen polialfa hidroksil asitlerden oluşur. Bu yavaş yavaş çözülür ve yerel bölgede optimum konsantrasyonu etkili bir şekilde serbest bırakır. Kronik periodontitis tedavisinde mikropartiküller ile modifiye edilerek Doksisisiklin, Minosiklin, Tetrasiklin ve Klindamisin gibi çeşitli antibiyotikler kullanılmıştır (Sholapurkar ve ark.. 2020).

Kontrollü salım ve artan biyoyararlanım gibi klinik avantajlar nedeniyle, mikroküreler periodontolojide etkili bir ilaç dağıtım sistemi olarak kabul edilebilir (H ve ark.. 2019).

2.6.1.3.2.5.1. Arestin

Arestin™, periodontal cepte sürekli subgingival salınım için tasarlanmış, FDA onaylı bir PLGA bazlı minosiklin hidroklorür (1 mg/birim doz kartuşu) mikrokürelerinden oluşur (Persson ve ark.. 2006). Birçok çalışma, mekanik tedaviye ek olarak Minosiklin Mikropartikül sisteminin, sondlamada kanama (BOP) ve cep derinliğinde daha fazla azalmaya, daha yüksek klinik ataçman seviyesi kazancına ve kırmızı kompleks bakteri sayı ve oranlarında daha fazla azalmaya yol açtığı sonucuna varmıştır (Sholapurkar ve ark.. 2020). Klinik ve labaratuvar bulguları, (tükürük ve GCF) analizi, periodontal patoloji sahasında 14 güne kadar sürekli etki sağlandığını ve arzu edilen minosiklin konsantrasyonlarına (> 1 µg/mL) ulaşıldığını, bunlar olurken de ilacın serum konsantrasyonunda önemli bir değişim olmadığını göstermiştir. Bu

konsantrasyonun bakterisidal aktivite sağlamak için yeterli olduğu bulunmuştur (H ve ark.. 2019).

2.6.1.3.2.6. Gargaralar

Periodontal hastalık, dişler üzerindeki bakteri birikimine tepki veren diş çevresi dokulardaki enflamatuvar süreçleri ifade eder (Kim and Amar 2006). Plak yönetimi, plak oluşumunu engelleyen ya da gerileyen mekanik prosedürlerin ve kimyasal ajanların kullanımından oluşur. Plagi önlemenin mekanik yöntemleri arasında diş fırçalama, ağız hijyeni ve diş arası temizliği gibi profilaksi yöntemleri yer alır. Şu anda plak kontrolünün en etkili yöntemi mekanik plak kontrolü gibi görünmektedir. Kimyasal plak kontrolü, mekanik araçların yerini alacak şekilde değil, yalnızca bir uzantı olarak kullanılmaktadır. Mekanik plak kontrolüne bir yardımcı olarak antiplak ajanlar kullanılarak, plak engelleyici çalışmalar daha da geliştirilebilir (Vyas ve ark.. 2021).

Ağız gargaraları, plak önleyici ajanların en yaygın ve kolay uygulananıdır. Aroma ve iyonik olmayan yüzey aktif maddeler ile alkol karışımı, kozmetik özellikleri geliştirmek için kullanılır. Bakteriyel enzimlerle elektrostatik ve hidrofobik etkileşimler yoluyla bakterilere doğrudan verilen zarar, bu bileşikler üzerinde bir etkiye sahip olabilir. Ağız gargaraları, birinci ve ikinci nesil ağız gargaraları olmak üzere iki ana grupta derecelendirilebilir (Vyas ve ark.. 2021).

2.6.1.3.2.6.1. Klorheksidin

Klorheksidin (CHX), gram-pozitif ve gram-negatif organizmalara, fakültatif anaeroblara, aeroblara ve mayalara karşı aktif olan katyonik bir bisbiguaniddir (Vyas ve ark.. 2021). Klorheksidin, diğer biyositlere kıyasla uzun süreli aktivite gösteren geniş spektrumlu bir biyositir (Macias ve ark.. 2016). Ancak zarfsız virüslere karşı zayıf aktivite gösterir ve bakteri sporlarına karşı etkisizdir (McDonnell and Russell 1999). Mikobakteriler gibi bazı bakteri türleri, dış zarları klorheksidinin geçemeyeceği geçirimsiz bir bariyer oluşturduğundan, klorheksidine doğal olarak dirençlidir. Biyofilm ve spor oluşumu ayrıca bazı bakteri türlerinin klorheksidin varlığında hayatta kalmasını sağlar (Williamson, Carter, and Howden 2017).

Klorheksidin, kullanılan konsantrasyona bağı olarak hem bakteriyostatik hem de bakterisidal aktiviteye sahiptir. Klorheksidin pozitif yüklüdür ve bu haliyle negatif yüklü bakteri hücre zarına ve hücre duvarına bağlanır. Düşük konsantrasyonlarda, klorheksidinin hücre zarı ile birleşmesi, osmoregülatuar ve metabolik kapasitede bir kayıpla sonuçlanır, bu da sitozolik potasyum iyonlarının kaybına ve ardından hücresel solunumun inhibisyonuna yol açar. Daha yüksek konsantrasyonlarda, klorheksidin, hücre zarının geçirgenliğini daha da artırır ve yüksek molekül ağırlıklı, hücre içi hayati bileşenler hücre dışına sızar. Bu da bakteri stoplazmasında aglünitasyon ve çökelmeye, sonuç olarak da bakteri ölümüne neden olur (Williamson, Carter, and Howden 2017).

CHX, ağızda diğer gargaralardan daha uzun süre kalır. Dişlerde, dilde, diş etinde ve reçine restorasyonlarında lekeler neden olabilir (Vyas ve ark.. 2021). Bu karakteristik lekelenmenin nedenini açıklamak için çeşitli teoriler öne sürülmüştür, ancak çoğu kanıt, lekelenmenin anyonik diyet kromojenlerinin (örneğin çay, kahve, şaraptan tanenler) adsorbe edilmiş klorheksidin katyonları üzerine çökmesinin bir sonucu olduğuna işaret etmektedir (James ve ark.. 2017).

Güçlü bir bazdır ve pratik olarak suda çözünmez (Karpiński and Szkaradkiewicz 2015). Klinik tıpta suda çözünür tuzları, özellikle klorheksidin diglukonat en yaygın şekilde kullanılan formudur (James ve ark.. 2017). Klorheksidin diglukonat, normal mekanik diş temizliğinin ardından kullanılan normal ağız hijyeni rejiminin bir parçası olarak kabul edilmiştir (Van der Weijden ve ark.. 2015). En iyi bilinen ağız gargarası, klorheksidin diglukonattır. Günde iki kez 10 ml'lik maksimum % 0,2 klorheksidin çözeltisi ile ağız çalkalama, tam plak inhibisyonunu garanti eder. Böyle bir konsantrasyon kullanıldığında protezler ve dişler birkaç hafta içinde renk değiştirebilir. Konsantrasyona bağlı yan etkiler olduğundan, günde bir veya iki uygulama için 10 ml %0.1'lik klorheksidin solüsyonu ile istenen plak azaltımı sağlanabilir (Vyas ve ark.. 2021). Periodontal cerrahi sonrasında rutin olarak %0,1 veya %0,2 klorheksidin solüsyonu konsantrasyonunda klorheksidin diglukonatın kısa süreli uygulanmasının önerilebileceği söylenebilir. Prosedürleri takiben 2-3 hafta boyunca günde bir kez çalkalama yeterli olabilir. Ayrıca, klorheksidin hidroklorür tozunun periodontal pansumana dahil edilmesi periodontal ataşman şansını artıracaktır (Vyas ve ark.. 2021).

CHX, Gram-pozitif bakterilere karşı güçlü biyosidal aktiviteye ve Gram-negatif bakterilere karşı daha zayıf aktiviteye sahiptir (Karpiński and Szkaradkiewicz 2015). Ne yazık ki, CHX insan hücreleri üzerinde sitotoksik aktivite gösterir, diş ve dolgularda renklenmeye neden olabilir ve aktivitesi ortamın pH'ına ve organik maddelerin varlığına bağlıdır (Karpiński and Szkaradkiewicz 2015). Yani dişlerde ve dilde renk değişikliği, tat algısında geçici bir değişiklik, diş taşı birikintilerinde artış, yanma hissi ve bukkal epitel hücrelerinin genotoksitesi kabaca yan etkileridir (Pandiyan ve ark.. 2022).

2.6.1.3.3. İmmünmodülatör Tedaviler

Periodontitisin etiyolojisi ve mekanizması son derece karmaşıktır. Periodontitisin oluşumu ve gelişimi, bakteri ve konakçı arasındaki etkileşimin sonucudur (Curtis, Diaz, and Van Dyke 2020). Periodontal doku yıkımı, oral bakteriyel enfeksiyonun neden olduğu inflamatuvar bir süreçle başlar (Hajishengallis 2015). Konağın duyarlılığı periodontitis gelişiminde belirleyici bir faktördür (Yang ve ark.. 2021). Konak duyarlılığı ve oral bakterilerin etkileri periodontal dokuların yıkımına yol açar ve sonunda tedavi edilmezse, dişlerin kaybına neden olur (Abusleme ve ark.. 2013). Periodontitis başlangıcı ve ilerlemesi çoklu etiyolojik ve risk faktörleri ile ilişkili olsa da, periodontal hastalık patogenezinde en kritik olan, mikrobiyal disbiyoz ve yıkıcı inflamasyon arasındaki karşılıklı olarak güçlendirilmiş etkileşimdir (Hajishengallis ve ark.. 2019). Patojenler, bağışıklık sistemini düzenleyerek periodontal doku hücrelerini etkileyebilir. Bu aşamada lökositler; dişeti biyofilm patojenitesinin kontrolü, adaptif bağışıklığın aktivasyonu ve ayrıca çözülmeyen inflamasyon ve kollateral doku hasarına neden olmaları ile periodontitiste temel oyuncular (Sima, Viniegra, and Glogauer 2019).

Cerrahi olmayan periodontal tedavi, etkilenen kök yüzeylerinden yumuşak ve kalsifiye biyofilm birikintilerini gidermek ve ağız hijyenini iyileştirilmek için subgingival debridman ve kök yüzeyi düzleştirme kullanımını esas alır. Bu mekanik tedavinin nihai amacı, hastalıklı periodontal dokuların enflamasyondan arındırılmış bir duruma geri dönmesine izin vermek ve klinik indekslerin iyileştirilmesiyle beraber periodontal sağlığı eski haline getirmektir (Donos ve ark.. 2020). Ancak sonucun sürdürülebilirliği ve öngörülebilirliği, biyofilmin verimli bir şekilde uzaklaştırılması,

hastanın bireysel konak tepkisi, kişisel ağız hijyeni bakımı ve rutin bakım dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlıdır (Lang, Salvi, and Sculean 2019).

1960'larda ve 1970'lerde mikrobiyal biyofilmin ve onun spesifik anaerobik mikroorganizmalarının periodontopatojenik öneminin fark edilmesiyle periodontitis bulaşıcı bir hastalık (daha yakın zamanda disbiyoz olarak) olarak tedavi edildi. Daha sonra, 1980'lerde, kolajen bakımından zengin periodontal dokuların (diş eti, periodontal ligament, alveolar kemik) yıkımının aracıları olarak konak yanıt mekanizmaları tanımlandı ve artık periodontopatojenler, aktif olarak yıkıcı inflamatuvar/kollajenolitik konak cevabının tetikleyicileri olarak kabul edildi (Golub and Lee 2020).

Son zamanlarda, enflamasyonu çözmek, osteolitik ortamı kontrol etmek ve fizyolojik kemik oluşumunu eski haline getirmek için varsayılan periodontal patojenlere karşı bağışıklık tepkisini düzenlemeye çok dikkat çekilmiştir (Sima, Viniegra, and Glogauer 2019). İlk olarak, iki ana "konak modülasyon tedavisi" ortaya çıktı: Bunlardan birincisi tetrasiklin antibiyotiklerdi. Tetrasiklinin, periodontal yıkımı önleme yeteneğinin, antimikrobiyal etkisinin dışında bizzat konağın kendi üretimi olan ve doku yıkımına yol açan matriks metalloproteinazların (özellikle kollajenazlar, jelatinazlar, makrofaj metaloelastaz) inhibisyonunu sağladığı görüldü. İkinci olarak flurbiprofen gibi nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlara yönelindi. Bu ilaçların yine antimikrobiyal olmayan mekanizmalarla, periodontitisin şiddetini azaltabileceği düşünüldü. Diğer nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlara benzer şekilde flurbiprofen, iyi bilinen mediatörleri (örn. prostanoidler, sitokinler) dahil olmak üzere konağın inflamatuvar yanıtını baskılar, ancak aynı zamanda osteoklast aktivitesini ve kemik rezorpsiyonunu da inhibe eder (Golub and Lee 2020). Ancak, uzun süreli tedavinin yan etkileri, bunların güvenli ve etkili konak düzenleyici ajanlar olarak geliştirilmesini engellemiştir (Golub and Lee 2020). Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçların aksine, enflamasyonu düzenlemek için yeni bir konak modülasyon terapileri kategorisine büyük ilgi vardır. Bu yeni bileşikler, çözücüler, enfeksiyonla savaşmak ve optimal yara iyileşmesini desteklemek için gerekli olan akut enflamasyonu baskılamaz, ancak uzamasını önler. Bu bileşikler, omega-3 yağ asitleri, dokosaheksanoik asit,

eikosapentanoik asit türevlerinin yanı sıra araşidonik asitten türetilen lipoksinleri içerir (Golub and Lee 2020).

Ancak bugüne kadar ABD'de (ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylanmıştır) ve ötesinde (Kanada, Avrupa) klinik olarak kullanılan tek konak modülasyon tedavisi, tetrasiklin antibiyotiklerin bir üyesi olan doksisisiklin'in antibiyotik olmayan bir formülasyonu olan subantimikrobiyal doz doksisisiklin uygulamasıdır (Golub and Lee 2020). Son birkaç on yılda yapılan bir dizi çalışma, mekanik tedaviye yardımcı olarak subantimikrobiyal doz doksisisiklin ile konak modülasyon tedavisinin, geleneksel teşhis yöntemleriyle değerlendirildiği üzere, yalnızca mekanik tedavi ile karşılaştırıldığında daha iyi klinik sonuçlar ürettiğini göstermiştir. Yapılan bu analizlerde subantimikrobiyal doz doksisisiklin kullanılan vakalarda sondlama derinliği azalması, klinik ataçman kazancı, sondalamada kanama gibi klinik parametreler kontrol gruplarına göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Ayrıca sitokinler ve kemokinleri (interlökin-1beta, tümör nekroz faktörü-alfa, interlökin-6, interlökin-17) aynı zamanda monosit kemoatraktan protein-1, matriks metaloproteinazlar (özellikle matriks metaloproteinaz-8 ve matris metaloproteinaz-9), piridinolin kemik tip I kollajen yıkım fragmanları veya tip I kollajen karboksiterminal telopeptid (ICTP) gibi inflamatuvar/kollajenolitik hastalığın biyobelirteçlerini ve mediatörlerini dolaylı mekanizmalarla azalttığı görülmüştür (Golub and Lee 2020).

2.6.1.3.4. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi

Manuel veya ultrasonik aletlerin derin cepler, furkasyonlar ve oluklar gibi alanlara erişmesi zor olduğundan ve bu genellikle eksik debridmanla sonuçlandığından, geleneksel cerrahi olmayan tedavinin sınırlamaları vardır (Aukhil 2000). Klinik olarak, özellikle yoğun doku kaybının olduğu ve periodontal ceplerin derin olduğu ve kök furkasyonlarına erişimin zor olduğu durumlarda mekanik debridmanın etkinliğini belirlemek zordur (Sherman ve ark.. 1990). Bu nedenle, küçük miktarlarda bakterinin cepte kalması ve sürekli olarak doku yıkımına neden olmaya devam etmesi muhtemeldir (Lindhe and Nyman 1985). Bu sebeplerden dolayı, periodontal bakterileri, antibiyotik tedavisinde olduğu gibi istenmeyen olumsuz yan etkiler olmaksızın cepten uzaklaştırmak için alternatif bir yöntem arayışlarına girilmiştir (Pal ve ark.. 2019).

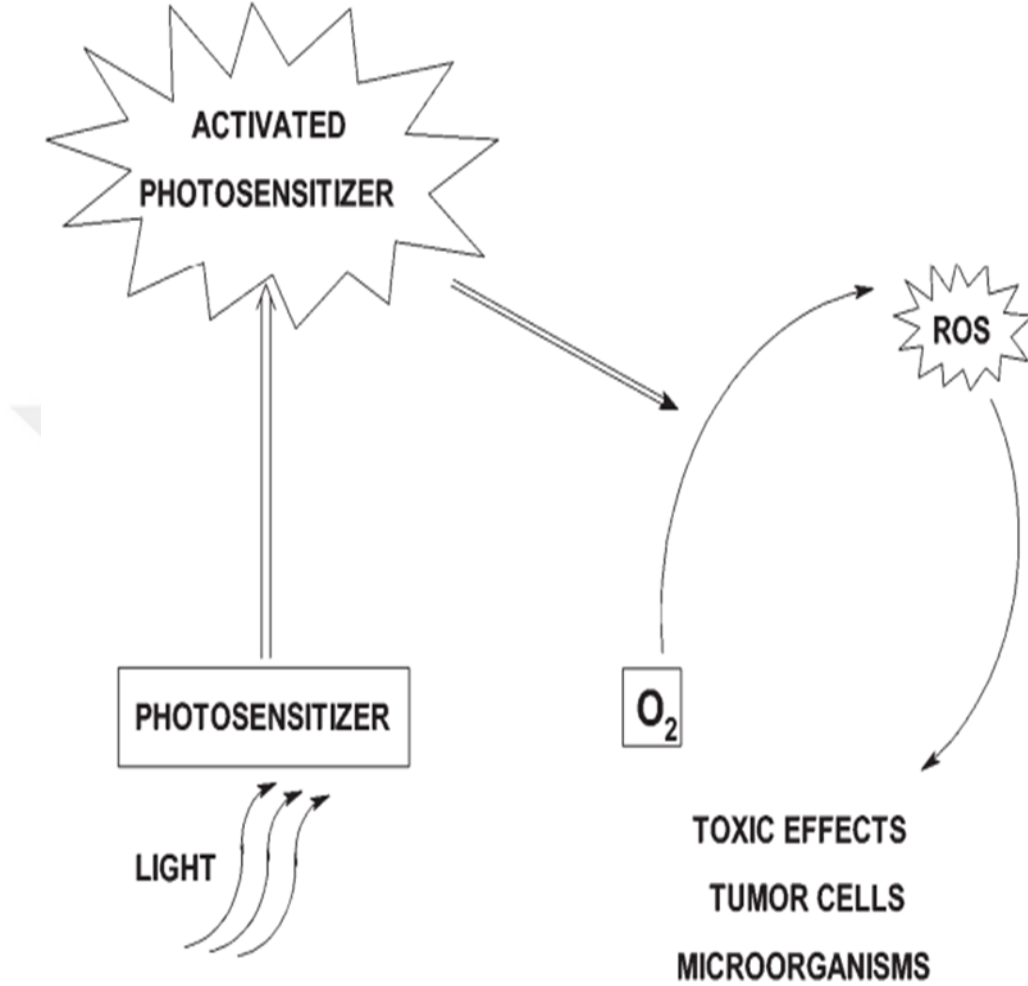
Lazerlerin genel olarak “hastalıklı dokuların kapsamlı debridmanı ve dekontaminasyonu ve çevre dokulardaki hücre metabolizmasını modüle ederek veya aktive ederek” periodontal yara iyileşmesini ve rejenerasyonunu desteklediği düşünülmektedir (Cheng ve ark.. 2016). Non-invaziv tarzıyla lazer tedavisi, periodontal tedaviye başladıktan sonra ciddi yan etkilerle neredeyse hiç ilişkilendirilmemiştir. Antimikrobiyal fotodinamik terapi, belirli bakteri hücrelerini hedefleme ve anında baskılama avantajına sahiptir. Ek olarak, antibiyotik direnci ve yan etki riski minimumdur ve antibiyotik ile ilgili ana sorun bu olduğundan, periodontal hastalık üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu tespit edilirse, bunu çok daha güvenli uzun vadeli bir tedavi seçeneği haline getirir (Konopka and Goslinski 2007). Yardımcı lazer tedavisi, farklı koşullara göre periodontal ceplerin içinde veya dışında çalışan lazer problemleri ile geleneksel periodontal tedaviye yardımcı olmak olarak tanımlanabilir (Cheng ve ark.. 2016).

Yardımcı periodontal tedavide her biri farklı fiziksel veya biyolojik özelliklere sahip şu lazerler kullanılmıştır: yarı iletken diyot lazer, Er, Cr:YSGG (erbium, krom katkılı: itriyum, skandiyum, galyum, granat) lazer, Nd:YAP (neodimiyum katkılı itriyum alüminyum perovskite) lazer, GaAlAs (galyum-alüminyum arsenit) diyot lazer, Er:YAG (erbium katkılı: itriyum, alüminyum ve garnet) lazer, He-Ne lazer ve karbondioksit (CO₂) lazer (Cobb 2006).

Lazer tedavisi, çoklu biyo-uyarıcı, anti-enfektif ve ablasyon etkilerine dayanmaktadır (Sanz ve ark.. 2012). Problemleri periodontal ceplerin içine sokarak ve iç epitelin iç yüzeyine dokunarak lazer, termal etkileriyle dokuyu parçalar. Aynı zamanda lazer dış diş eti yüzeyinden belli bir mesafeden de etki gösterebilir (Cheng ve ark.. 2016).

Antimikrobiyal fotodinamik terapi (aPDT), mekanik tedavi ile birlikte kullanılan geleneksel bir terapi olma potansiyeline sahiptir. aPDT’de fotosensitizer olarak bilinen, foto aktif bir boya dokulara ve hücrelere verilir ve bu boya belirli hücrelere bağlanır. Ortamda oksijen olduğunda bir ışık kaynağı (uygun dalga boyuna sahip düşük yoğunluklu bir lazer) fotosensitizere uygulanır ve bu lazer ışığı tarafından fotosensitizer aktifleştirilir. Bu, başta singlet oksijen olmak üzere serbest radikaller

veya reaktif oksijen türleri üretir ve lokalize fotohasar hücre ölümüne neden olur (Macdonald and Dougherty 2001).



Şekil 2.9. Fotodinamik reaksiyon ve fotodinamik terapinin şematik gösterimi (Konopka and Goslinski 2007).

2.7. Nanopartiküller

Nanotıp, sağlık hizmetlerinde nanoteknolojilerin/nanopartiküllerin kontrollü kullanımıdır ve insan hastalıklarının teşhis ve tedavisi için yeni yollara yol açar (Schmalz ve ark.. 2018). Nanomalzemeler ise genellikle, nanometre ölçeğinde şekil ve moleküler bileşimin kontrol edilebildiği malzemeler olarak kabul edilir. Günümüzde, tıp da dahil olmak üzere birçok alanda yeni uygulamaların geliştirilmesi için faydalı olan olağanüstü özellikler sunarlar. Dış hekimliğinde, özellikle son on yılda, kullanılan

malzemelerin özelliklerinin iyileştirilmesi için çeşitli araştırmalar yapılmaktadır (Bonilla-Represa ve ark.. 2020). Nanopartiküller (NP'ler), dental ve periodontal enfeksiyonları tedavi etmek ve önlemek için yeni bir strateji sağlayabilir (Magalhães ve ark.. 2016).

2.7.1. Nanopartikül Tanımı

Nanopartiküller, ya şekilsiz ya da kristal yapıda olan ve yaklaşık 10–200 nm boyutlarında olan katı haldeki nanoküreleri ve nanokapsülleri içerir (Sholapurkar ve ark.. 2020). Bir başka tanımlama olarak, genellikle 1–100 nm çapındaki küçük katı parçacıkları ifade ederler (Song and Ge 2019). Avrupa Birliği'ne (AB) göre, nanopartiküller 1 ila 100 nm boyut aralığında bir veya daha fazla dış boyuta sahiptir (Schmalz ve ark.. 2018).

2.7.2. Günlük Hayatta Nanoteknoloji

Nanopartiküller doğada mevcuttur ve günlük hayatta kullanılmaktadır; örneğin güneşten koruyucular gibi kozmetik ürünlerde [ultraviyole (UV) ışık filtreleri olarak titanyum dioksit (TiO₂) veya çinko oksit (ZnO) parçacıklarının eklendiği] veya diş macunlarında, diyet takviyelerinde ve kaplama için kullanılan sprelerde , temizlik ürünlerinde. Silikon dioksit (SiO₂), magnezyum oksit (MgO) ve TiO₂ bazı ülkelerde test edilmiş ve ruhsatlandırılmış gıda katkı maddeleridir. Toplamda, nanoteknolojinin kullanımı günlük hayatı iyileştirmek için büyük bir potansiyele sahiptir (Schmalz ve ark.. 2018).

2.7.3. Diş Hekimliğinde Nanopartikül Kullanımı

Diş hekimliğinde, nanopartiküller, malzeme özelliklerini iyileştirmek için kasıtlı olarak ürünlere gömülür (Besinis ve ark.. 2015). Kasıtlı olarak nanopartikül salan diş malzemeleri nadirdir; bu tür malzemeler, bilgisayar destekli tasarım/bilgisayar destekli imalat (CAD/CAM) için tarama sprelerini veya oklüzyon gösterge folyolarını içerir. Öte yandan, nanoparçacıklar, dolgu maddeleri için öğütme işlemlerinin kasıtlı olmayan yan ürünleri olabilir. Nanopartiküllerin yaklaşık 3.500 dental materyalde bulunduğu tahmin edilmektedir (Schmalz ve ark.. 2018).

Bu malzemeler, çeşitli hastalıkları tedavi etmek veya hasarlı dokuları onarmak için moleküler ölçekte tıbbi müdahalelerin yapılmasına izin verir ve boyutlarının biyomoleküllerin aralığında olması nedeniyle, farklı biyomedikal uygulamalarda kullanımları için avantajlar sunar. Partikül hacmini, şeklini ve çapını kontrol etme imkanı; çözünürlüğü, immün uyumluluğu ve hücrel alımı artırmak için yüzey özelliklerini modüle etme imkanı ile birlikte, yüzlerce nano ilacı çeşitli uygulamalarla sentezleme olasılığının önünü açar (Zhang 2003).

2.7.4. Periodontal Tedavide Nanopartiküller

Metal ve organik nanopartiküller, geniş spektrumlu bakterisidal özelliklerinden dolayı diş hekimliğinin çeşitli alanlarında uygulanmaktadır (Song and Ge 2019). Nanopartikül hazırlamanın kimyasal esnekliği ve göreceli kolaylığı, benzersiz biyofilm tedavilerinin geliştirilmesine izin verir (Wang, Gupta, and Rotello 2016). Bu nedenle nanopartiküller, biyofilm için oldukça umut verici bir tedavi yöntemidir. Birçok nanopartikül araştırma stratejisi, ağız boşluğu içindeki biyofilmleri engellemeyi amaçlamıştır (Song and Ge 2019).

2.7.4.1. İlaç Taşıyıcı Olarak Nanopartiküller

Periodontal hastalıkların tedavisi için sistemik antibiyotiklerin kullanımı, yan etkiler ve yeterli hedef bölge konsantrasyonu eksikliği nedeniyle genellikle önerilmemektedir. Ek olarak, plazma konsantrasyonundaki hızlı düşüşe bağlı olarak subterapötik antibiyotik seviyeleri, gastrointestinal intolerans, mikrobiyal direnç ve aşırı duyarlılık da bildirilmiştir (Basudan 2022).

Buna karşın, lokal ilaç salım sistemleri, aktif bileşikleri hedef bölgeye, dokuya veya hücrelere daha uzun kalma süresiyle güvenli bir şekilde taşır ve ayrıca periodonsiyom ile optimal mukozal temas sağlar (Yao ve ark.. 2015). Ayrıca, absorbe edilen ilaçların epitelden doku içine düzenli olarak taşınmasını kolaylaştırmak için, birleşim epiteli ile düzenli olarak temasta kalır. (Hau ve ark.. 2014). Lokal ilaç salım sistemleri, ilaç moleküllerinin veya biyoaktif terapötik bileşiklerin sürekli ve hedefli bir şekilde verilmesi mekanizmasını sağlamanın yanı sıra, hasta uyumunu ve yaşam kalitesini artırmanın bir yolu olarak doz uygulama sıklığını azaltmayı da amaçlar

(Toker ve ark.. 2019). Bu amaç, yerleştirme bölgesinden ilaç salımının otonom olarak gerçekleşmesini sağlayan gelişmiş nanoteknoloji tabanlı ilaç taşıma ve salım sistemleri ile çok iyi bir şekilde başarılmıştır (Rathor ve ark.. 2017). Ek olarak, gelişmiş üretim teknolojileri, tamamen biyolojik olarak parçalanabilen ve amaçlanan terapötik ilaç salım eylemi tamamlandıktan sonra çıkarılması gerekmeyen nanoparçacık yapı iskelelerinin ve nano yapı taşıyıcıların sentezine yol açmıştır (Cafferata ve ark.. 2020).

Nanopartikül sistemlerde ilaç yüklemesi, (i) partiküllerin hazırlanması sırasında (inkorporasyon) ve (ii) partiküllerin oluşumundan sonra (inkübasyon) olmak üzere iki yöntemle gerçekleştirilebilir. Bu sistemlerde, bir ilaç fiziksel olarak matriksin içine gömülür veya yüzeye adsorbe edilir. Yükleme etkinliği büyük ölçüde ilacın fizikokimyasal özelliklerinin yanı sıra NP'lerin hazırlanma yöntemine bağlıdır (Mikušová and Mikuš 2021).

Yukarıdakilerin tümü, bir polimerik matris içinde tutulabilen, bir sıvı çekirdek içinde kapsüllenebilen, bir polimerik zar ile çevrelenebilen veya adsorpsiyon yoluyla nanopartikül yüzeyine bağlanabilen ilaçlar, antijenler veya makromoleküller için nano taşıyıcıların kullanımının artmasına neden olmuştur (Jung ve ark.. 2000).

Periodontitis, subgingival biyofilme karşı konağın immün yanıtına bağlı olarak ortaya çıkan kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Konvansiyonel tedavi protokollerinin çoğu, subgingival biyofilmi diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme gibi mekanik yollarla kontrol etmeyi amaçlar ve bu tedaviye sıklıkla antibiyotikler, antiseptikler veya probiyotikler gibi antibakteriyel ko-adjüvan tedaviler eşlik eder. Lokal ilaç uygulaması, ilacın hedef bölgeye daha düşük bir dozda ancak daha yüksek konsantrasyonda uygulanmasını kolaylaştırır, böylece sistemik yan etkileri ve toksisiteyi azaltır (Basudan 2022).

Nanopartiküller, ilaç moleküllerini kapsüllemek ve periodontal hastalıktan etkilenen lokalize bölgelere teslimatını sağlamak için kullanılabilir. Bu yaklaşım, ilacın kontrollü miktarını ilgili alanın yakınında seçici olarak biriktirerek doza bağlı yan etkileri azaltabilir (Verma, Chevuri, and Sharma 2018). Gelişmiş nano ilaçlar, bölgeye özgü hedef yetenekleri, sürekli ve kontrollü salım, artan absorpsiyon oranı ve

biyoyararlanım ve terapötik ajanların gelişmiş stabilitesi açısından geleneksel ilaçlardan veya mikro ilaçlardan daha uygundur. NP boyutu, hidrofobiklik, değiştirilebilen yüzey yapıları, yüksek yüzey/hacim oranı ve yüzey yükü, hedefleme yeteneklerini kontrol eden temel faktörlerdir (Mikušová and Mikuš 2021). Bu özellikler ayrıca gerekli ilaç dozunun ve uygulama sıklığının azaltılmasına yardımcı olarak kemoterapi ilaçlarının toksisitesini ve yan etkilerini azaltır ve böylece hasta uyumunu artırır. Nanoküreler ve nanokapsüller dahil olmak üzere polimer nanopartiküller, ilaç taşıma ve salınım yapma amaçları için sıklıkla kullanılır (Dong, Firkowska-Boden, ve ark.. 2017). Genellikle partiküller içinde aktif farmasötik bileşenler içerirler veya yüzeylerinde makromoleküler maddeleri adsorbe ederler (Jandt and Watts 2020).

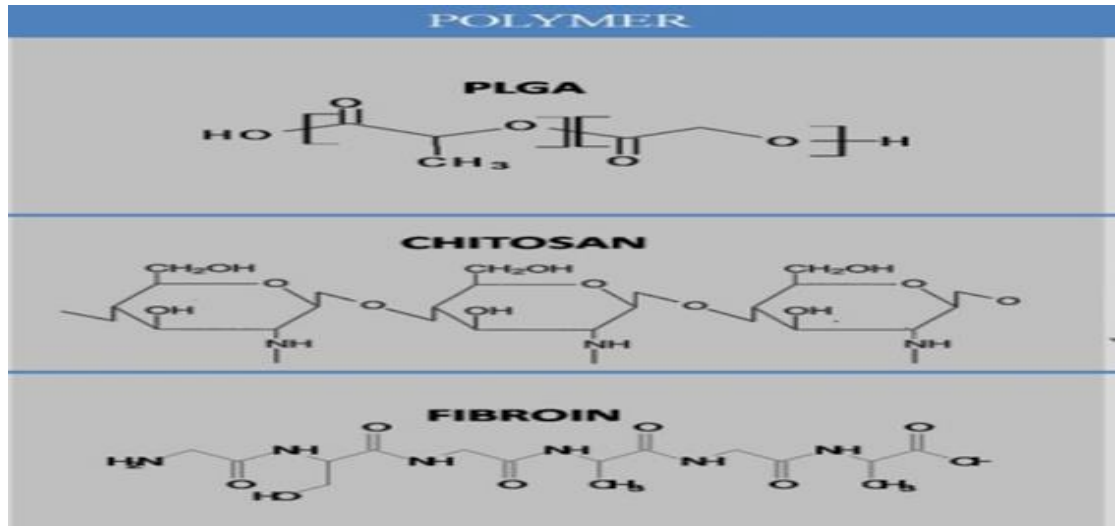
İlaçları nanopartikülden insan vücuduna salmak için genellikle biyolojik olarak parçalanabilen polimer nanopartiküller kullanılır. Polimer nanopartikül bazlı ilaç salımının, konvansiyonel ilaç uygulamasına kıyasla, ligand özgüllüğü yoluyla belirli dokuları ve hücreleri hedeflemesi, polimer nanopartiküllerin hücrelere emilimi, gerekli olan daha düşük ilaç dozları, azaltılmış toksik etkiler, hedefe ve ortama yönelik sürekli ilaç salınımı gibi çeşitli avantajları vardır (Reischl and Zimmer 2009). Nanoyapıların başka bazı avantajları şunlardır: daha yüksek koloidal kararlılık, geliştirilmiş dağılabilirlik ve geliştirilmiş yüzey reaktivitesi. Nanoparçacıkların en önemli özelliği, küçük molekülü ilaçlar, proteinler ve DNA gibi ilaçların salınımını kontrol edebilmeleridir (Virlan ve ark.. 2016).

Terapötik ajanın, özellikle doğal kaynaklı bir polimerik matrise dahil edilmesi, biyolojik olarak aktif bileşiğin bozulmaya karşı korumasını güçlendirebilir, ilaç salınımını kontrol edebilir, absorpsiyonu geliştirebilir, terapötik etkiyi arttırabilir ve bunun sonucunda ilacın uygulama sıklığını azaltabilir (Ahmed and Aljaeid 2016).

Metalik nanoparçacıklar üzerinde de önemli miktarda araştırma yapılmıştır, ancak güvenlikleri hala tartışılmaktadır. Biyomedikal nanopartiküller, hücreler için toksik olmamalıdır (biyoinert veya biyolojik olarak parçalanabilir) ve kullanımları diğer dokularda yan etkilere neden olmamalıdır. Bu nedenle birden birçok araştırmacı, odak noktalarını metalik nanoyapılardan, kitosan, ipek fibroin veya poli(laktik-ko-glikolik) asit (PLGA) dahil olmak üzere diğer biyolojik olarak parçalanabilen polimerler bazlı

organik nanoparçacıklara kaydırmıştır (Virvan ve ark.. 2016). Artan biyoyumlulukları nedeniyle, biyomalzeme araştırmalarında doğal ürünlere olan tercih artmaktadır. Tıbbi uygulamalarda, olabilecek yeni ilaçların ve tedavilerin geliştirilmesi için doğal ürünlere karşı artan bir ilgi mevcuttur (Virvan ve ark.. 2016).

Diş hekimliğinde en çok çalışılan sentetik organik moleküllerden biri poli-laktik-ko-glikolik asit (PLGA) kopolimeridir. PLGA son derece uyumludur ve ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından ilaç dağıtımı, teşhis ve diğer tıbbi uygulamaların kullanımı için onaylanmıştır. En önemlisi, PLGA biyolojik olarak parçalanabilir; bozunması karbondioksit ve suya yol açar (Liu, Slamovich, and Webster 2006). PLGA malzemelerinin üretilmesi ve farklı şekil ve yapılar (nano fiberler, nano kaplar veya nano iskeleler) çok çeşitli doğal veya sentetik moleküllerle birleştirilmesi de kolaydır. İlginç bir şekilde, PLGA ve kitosan, diş hekimliğinde en çok çalışılan organik polimerlerden bazılarıdır. Kitosanın biyoyumluluğu nedeniyle, biyomedikal nanoyapılardaki PLGA-kitosan kombinasyonu profilaktik diş hekimliği veya yara iyileşmesinde umut verici uygulamalar yaratır (Virvan ve ark.. 2016). Ayrıca, PLGA/kitosan nanolifleri, fibroblastların bağlanmasını ve çoğalmasını teşvik eder ve bu nedenle cilt dokusu mühendisliğinde kullanılabilirken, bunların grafen oksit ve gümüş nanopartiküller ile işlevselleştirilmesi, antimikrobiyal özelliklere sahip bir biyomateryal oluşturur (de Faria ve ark.. 2015).



Şekil 2.10. PLGA, Kitosan ve Fibroin polimerlerinin moleküler yapısı (Virvan ve ark.. 2016).

Bir başka organik nanopartikül grubu olan Lipozomlar, sulu boşlukları çevreleyen bir veya daha fazla lipit çift tabakasından oluşan, çapı 20 nm ile birkaç mikrometre arasında değişen küresel veziküllerdir. Başta fosfolipidler olmak üzere doğal lipid moleküllerinden yapılırlar ve nontoksik, nonimmünojenik ve biyolojik olarak parçalanabilir oldukları kabul edilir (Abed and Couvreur 2014). Lipozomlar, hücre içi enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla antibiyotikleri kapsüllemek için en çok kullanılan nano materyallerden biridir ve bu nedenle periodontolojide umut verici uygulamalara sahip olabilir (Salem, Flasher, and Düzgüneş 2005).

Terapötiklerin seçiciliği, özellikle ağız boşluğunun karmaşık mikro ortamı için nanoparçacık ilaç dağıtım sistemleri tasarlanırken kritik öneme sahiptir. Nanopartiküller bir ilacı adsorbe etmek ve/veya kapsüllemek, böylece onu kimyasal ve enzimatik bozulmaya karşı korumak için kullanılabilirler (H ve ark.. 2019). Yani nanopartiküller, doğrudan bakterisidal olabileceği gibi başka bir ilacın sulu çözünürlüğünü artırmak için de tasarlanabilirler. Kimyasal bileşimlerinin, boyutlarının, yüzey yüklerinin ve diğer özelliklerin hassas ayarlamaları yoluyla, ilaçları tam olarak en çok ihtiyaç duyulan zamanda ve yerde taşımak, tutmak ve salmak için benzersiz esneklik sağlayabilirler.

2.7.4.2. Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etkisi

Nanopartiküllerin geniş yüzey alanı ve yüksek yük yoğunluğu, bakteri hücrelerinin negatif yüklü yüzeyi ile daha büyük ölçüde etkileşime girerek antimikrobiyal aktivitenin artmasını sağlar (Cao ve ark.. 2018). Ayrıca, polimerlerle birleştirilmiş veya biyomateryal yüzeyler üzerine kaplanmış nanopartiküllerin ağız boşluğunda üstün antimikrobiyal özellikler sergilediği bulunmuştur (Saafan ve ark.. 2018). Metal ve organik nanopartiküller, geniş spektrumlu bakterisidal özelliklerinden dolayı diş hekimliğinin çeşitli alanlarında uygulanmaktadır (Magalhães ve ark.. 2016).

Anti-biyofilm nanopartiküller, metallerden veya metal oksitlerden, sentetik veya doğal polimerlerden veya bunların hibritlerinden geliştirilebilir. Ayrıca, kimyasal bileşimlerin, boyutun, yüzey yükünün ve diğer özelliklerin hassas ayarlamaları yoluyla, nanoparçacıklar, biyofilm matris etkileşimleri yoluyla güçlü biyofilm afinitesi, ve retansiyon sağlamak için benzersiz bir esneklik sağlar, böylece kalıcılığı

ve anti-biyofilm etkinliğini artırır (Wang, Gupta, and Rotello 2016). NP'lerin antibakteriyel özelliklerine odaklanan birçok araştırma türü, NP'lerin ilaç dirençli bakterilerde üstün antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Song and Ge 2019).

Nanopartikül formdaki çeşitli metaller, metal oksitler, metal halojenürler ve bimetallerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Hemeg 2017). Metal ve metal oksit bazlı nanopartiküller, bakterisidal etkiler gösteren bakır, titanyum, altın, gümüş, demir oksit, titanum oksit, çinko oksit vb. nanopartiküler form olarak doğal antibakteriyel özellikleri için uzun süredir kullanılmaktadır (Slavin ve ark.. 2017). Nanopartiküller, hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarına yapışabilir ve nüfuz edebilir, böylece ilgili iyonların serbest kalmasını sağlar ve hücre fonksiyonunu bozarlar. Bu nedenle, nanopartiküller ilaca dirençli mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların önlenmesi ve tedavisi ve biyofilm oluşumunun inhibisyonu için avantajlıdır (Song and Ge 2019). Metal veya metal oksit bazlı nanoparçacıklar, çeşitli şekillerde antibakteriyel etkiler gösterir. Mekanizmalar, bakteri hücre duvarı ile doğrudan etkileşim, glukan üretimini veya quorum sensingi etkileyerek biyofilm oluşumunun engellenmesi, doğal ve/veya adaptif konakçı bağışıklık hücrelerinin alana çağırılması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesi veya bakteriyel DNA ve proteinler ile zararlı etkileşimler olarak düşünülmektedir (Hemeg 2017).

Genel olarak, hücre dışı polimerik maddelerden oluşan negatif yüklü biofilm matrisine nüfuz etmesi için, nanoparçacıkların 130 nm'den küçük parçacık boyutlarıyla pozitif yüklü olması gerekir. Bu arada, grafen oksit gibi nanomalzemelerin kenarlarındaki nano bıçaklar ve nano uçlu dikenlere sahip yüzey çıkıntısı bakteri hücre zarlarını delerek hücre içi bileşenlerin sızmasına ve hücre ölümüne neden olabileceğinden, parçacık şekli de bir rol oynar (Mok, Proctor, and Thanou 2020).

Ancak spesifik etki mekanizması henüz net olarak saptanamamıştır. Buna rağmen nanopartiküllerin antibakteriyel mekanizması kabaca üç türe ayrılabilir. Bunlar; peptidoglikan hücre duvarı ve zarı ile etkileşerek hücre parçalanmasına neden olmak; bakteri proteinleri ile etkileşime girerek protein sentezini bozmak; bakteriyel

(sitoplazmik) DNA ile etkileşmek ve DNA replikasyonunu önlemektir (Song and Ge 2019).

2.7.5. Nanopartikül Şekil, Yük, Yüzey, Boyut, pH Özellikleri ve Etki Durumları

2.7.5.1. Boyut Avantajları

İlaçların nano boyutlandırılması, absorpsiyonlarında ve biyoyararlanımlarında dramatik bir artışa yol açarak ilaç dozunda müteakip bir azalmaya yol açabilir (Patravale, Date, and Kulkarni 2004). Kontrollü parçalanma yoluyla ilaçların zamanında salınması önemli bir avantajdır. Örneğin, Arestin® (minosiklin mikroküreler), periodonsiyuma uzun süreli sürekli bir minosiklin salınımı sağlar. Bununla birlikte, mikro boyutta oldukları için şiddetli periodontitiste daha derin lezyonlara nüfuz edemeyebilirler (Kishen 2016). Nanopartikül boyutu ise topikal uygulamadan sonra ekstraselüler biyofilm matrisine difüzyonu etkiler ve 130 nm'ye kadar olan çaplar, güçlü biyofilm penetrasyonu gösterir (Li ve ark.. 2015). Nanopartiküllerin küçük boyutlarından dolayı sahip oldukları yüksek yüzey alanı/hacim oranları, sinerjistik anti-biyofilm etkinliği ile sonuçlanabilecek güçlü ilaç yüklemesini mümkün kılar. Yüzey alanı artmış ilaç molekülleri, hedef hücreleri ile temas eden toplam moleküler etkileşim alanları arttırılmış olduğundan çok daha güçlü etki gösterirler. Ayrıca, küçük boyutları sayesinde bakterilerin sahip olduğu, membran geçirgenliğinin yeniden düzenlenmesi, çoklu ilaç akış pompaları ve hedef bağlanma bölgesi mutasyonları gibi yaygın bakteriyel direnç mekanizmalarının üstesinden gelebilir (Benoit, Sims, and Fraser 2019). Nanopartikül sistem, mikroküreler, mikroparçacıklar ve emülsiyon bazlı dağıtım sistemleriyle karşılaştırıldığında, küçük boyutları sayesinde sulu bir ortamda yüksek dağılılabilirlik, kontrollü salınım hızı ve artırılmış kararlılık dahil olmak üzere çeşitli avantajlar sağlar. Küçük boyutlarından dolayı nanopartiküller, derin periodontal cepler gibi diğer dağıtım sistemleri tarafından erişilemeyen bölgelere nüfuz eder. Bu sistemler, uygulama sıklığını azaltır ve ayrıca aktif maddenin uzun bir süre boyunca tek tip dağılımını sağlar (Puri and Puri 2013). Küçük moleküler yapıları ile hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarına yapışabilir, içlerine nüfuz edebilir ve ilgili iyonları serbest bırakarak bakteri fonksiyonunu bozabilirler (Cao ve ark.. 2017).

2.7.5.2. Elektriksel Yük ve Suda Çözünme Avantajları

Nanopartiküllerin yapışkan özellikleri, partikül yüzeyinde hapsolmuş pozitif yüklü yüzey aktif maddeye atfedilir. Bu nedenle negatif yüklü bakteri hücre duvarına afiniteleri vardır. Pozitif yüklü nanopartiküller, potansiyel olarak anyonik ekstraselüler matris ile arasındaki çekimden dolayı, anyonik veya yüksüz muadillerine göre çok daha yüksek biyofilm penetrasyonuna sahiptir (Li ve ark.. 2015). Ek olarak, hidrofobik katyonik nanopartiküller, bakteriler tarafından alınırken, hidrofilik katyonik nanopartiküller ekstraselüler polisakkarit matrise bağlı kalır (Li ve ark.. 2015).

Yüzey yükü ve hidrofobiklik de in vivo biyolojik kurslarını etkileyen önemli NP parametreleridir. Hidrofilik nanomalzemeler, retiküler endotelial sistem yanıtını azaltabilirken, hidrofobik olanlar NP penetrasyonunu artırabilir. Bu nedenle, en iyi in vivo dayanıklılığa ve düzensiz bölgelere en uygun hedeflemeye izin vermek için NP tasarımıdaki iki malzeme türünü tanımlanmış bir oranda birleştirmek anlaşılır görünmektedir. Yüzey yükü, bazı spesifik yapıların adsorpsiyonunu etkileyebilir, böylece NP'lerin makrofajlar tarafından tanınmasına, fagosite edilmesine ve ortadan kaldırılmasına neden olabilir, bu da daha sonra organizmada taşınmalarını ve atanmalarını etkileyebilir (Jaferník ve ark.. 2023).

2.7.5.3. pH Seçiciliği Avantajları

Ek olarak, nanopartikül ilaç dağıtım sistemleri, hem geleneksel ilaçları, ilaç etkisi için zorlu ortam oluşturan biyofilm içindeki pH ve/veya enzimatik bozulmadan koruyabilir hem de uyarılara duyarlı ilaç salınımı için bu mikro ortamları kullanabilirler. Örneğin, *S. mutans* biyofilm pH'ı, gözetilerek, pH değişiklikleri yoluyla anti-biyofilm ilaçları salan nanopartiküller kullanılabilir ve ilacın biofilme olan etkisi artırılabilir (Benoit, Sims, and Fraser 2019).

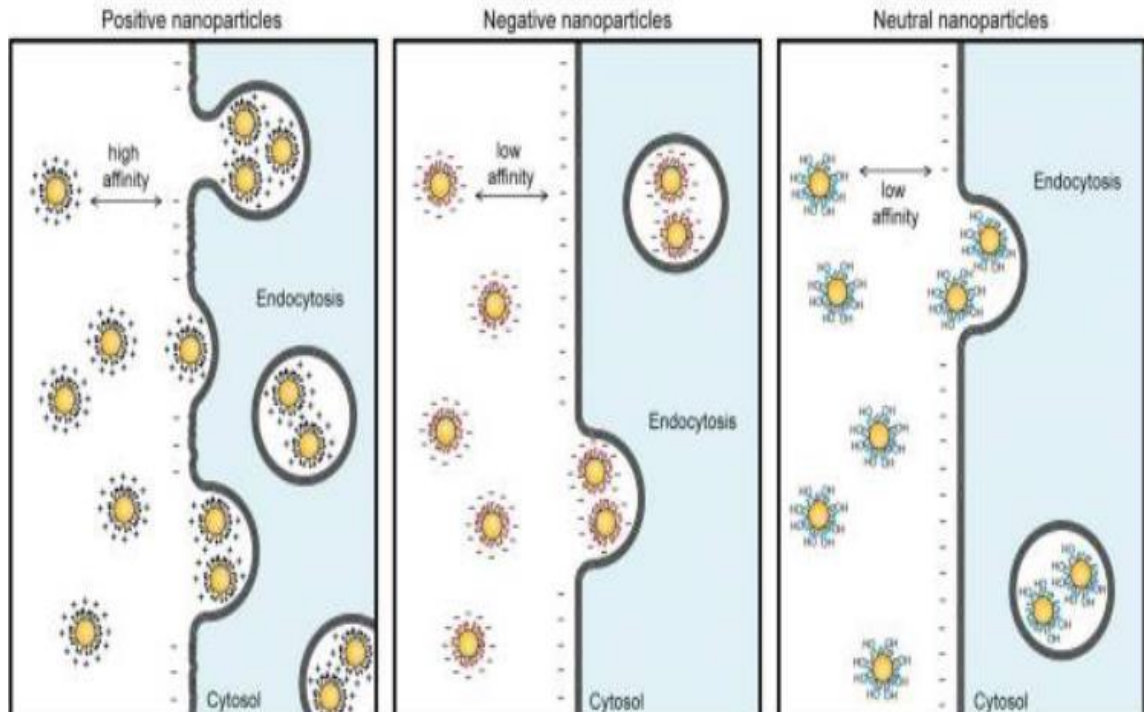
2.7.5.4. Yüzey Modifikasyonu Avantajları

Nanoparçacık yüzeylerine çok çeşitli ligandlar dahil edilerek biyomoleküllerin ve hücrelerin algılanmasında, hastalıkların teşhisinde ve hücre içi dağıtımda

kullanılmalarına olanak sağlanmıştır (Dreaden ve ark.. 2011). Örneğin, proteinlere ve hücre yüzeyi moleküllerine karşı diferansiyel afinite sergileyen ligandlarla işlevselleştirilmiş nanoparçacıklar, bunların tanımlanması için kullanılmıştır (Saha ve ark.. 2011).

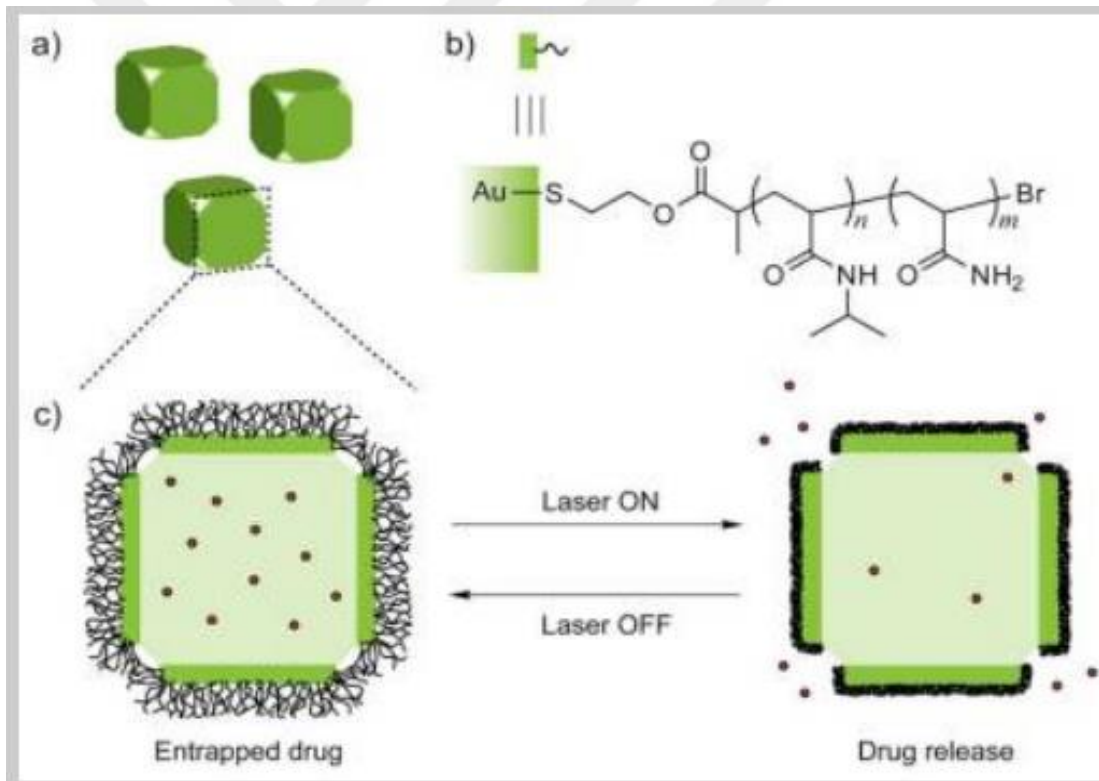
Küçük molekül kaplı nanoparçacıkların yüzey yükü, aynı şekilde, bunların hücre yüzey molekülleri ile etkileşimlerini ve dolayısıyla hücresel alımlarını belirler (Nel ve ark.. 2009a). Genel olarak, pozitif yüklü ligandlarla işlevselleştirilmiş nanoparçacıklar, nötr ve negatif yüklü parçacıklara kıyasla hücrelerin içine daha yüksek invazyon sergiler (Cho ve ark.. 2009).

Hücreler tarafından içselleştirilen nanomalzemeler genellikle endozomda tutulur. Bu durum ise nanopartikülün sitozole erişimini engeller ve kullanımlarını sınırlar. Bu sorunun üstesinden gelmek için, sinyal peptitleri nanoparçacıkların yüzeyine kaplanmıştır. Örneğin, nükleer yerleştirme sinyali (NLS) ile kaplanmış Altın nanopartiküller (AuNP'ler), endozomdan kaçmayı ve DNA hasarını indüklemek için kanser hücrelerinin çekirdeğine nüfuz etmeyi başarmıştır.

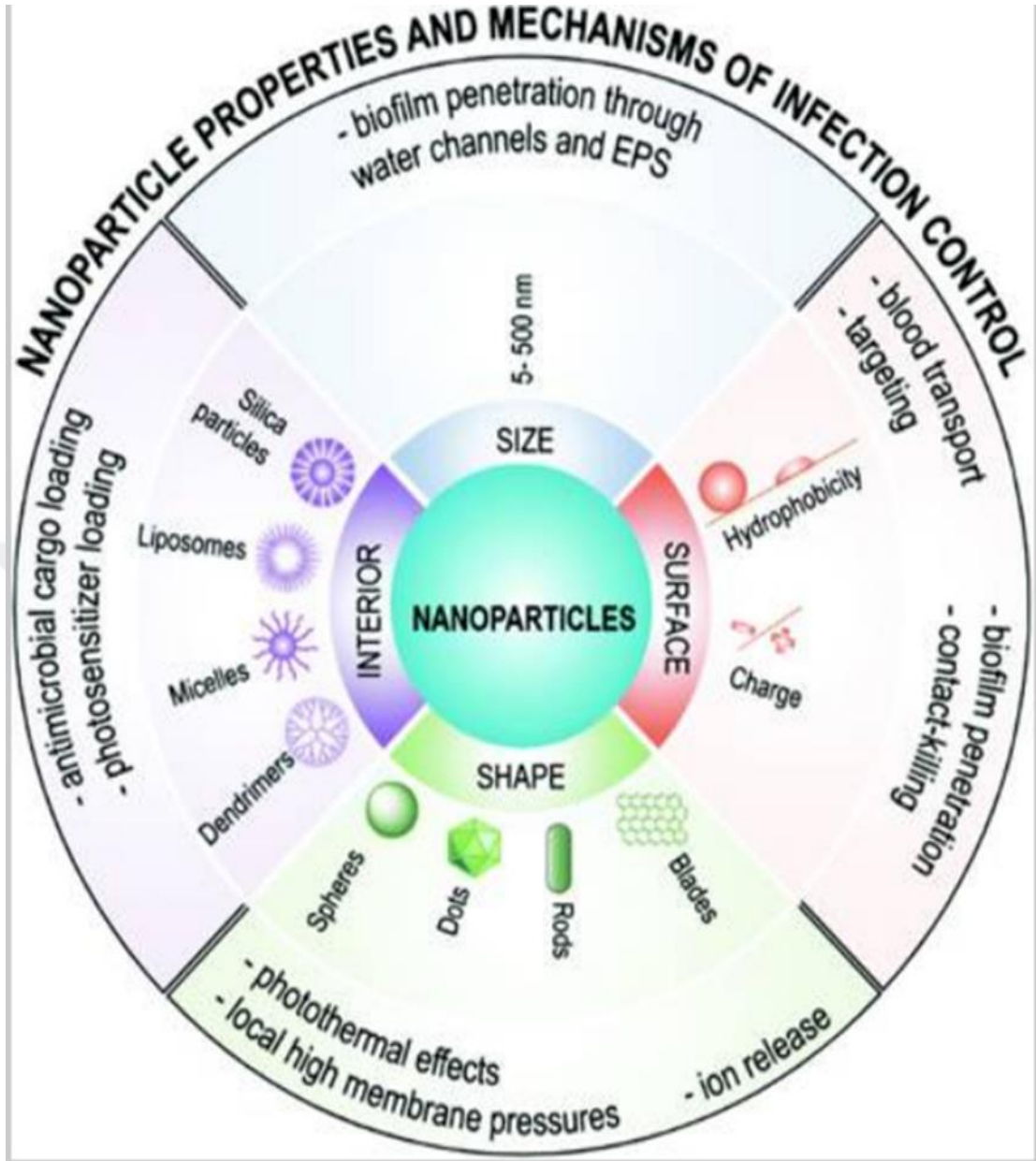


Şekil 2.11. Farklı yüzey yüküne sahip nanopartiküllerin, hücre içine invaze olabilmeleri arasındaki farklılıklarının şematik gösterimi (Mout ve ark.. 2012).

Biyomolekül kaplı nanopartiküller, minimum sitotoksosite ile biyomakromoleküllerin verimli bir şekilde verilmesini sağlamak gibi, sentetik malzemeler kullanılarak elde edilmesi zor veya imkansız olan spesifik özellikler sağlar (Mout ve ark.. 2012). Örneğin altın nanokafesler, sıcaklıktaki küçük değişikliklere yanıt olarak konformasyon değiştiren poli(N-izopropilakrilamid) (pNIPAAm) ile modifiye edilmiştir. Yakın mesafeli kızılötesine maruz kaldığında, sıcaklık artışı polimer zincirlerinin çökmesine, nanokafeslerin gözeneklerinin açığa çıkmasına ve böylece kanser önleyici ilaçların salınmasına neden olmuştur. Isıtma kapatıldığında, sıcaklıktaki düşüş, gözenekleri kapatarak polimeri orijinal konformasyonuna geri getirmiş ve böylece salınımı durdurmuştur. Bu nanokafesler, güç yoğunluğunu ve ısınlama süresini düzenleyerek dozaj salınımını kontrol etmek için kullanılmıştır (Mout ve ark.. 2012).



Şekil 2.12. İlaç moleküllerini taşıyan poli(N-izopropilakrilamid) (pNIPAAm) polimeri (b) ile işlevselleştirilmiş altın nanokafesleri (a) gösteren şemalar. Yakın kızılötesi lazere maruz kaldığında, polimer çöker ve böylece önceden yüklenmiş ilacı serbest bırakır. Lazer kapatıldığında, polimer zincirleri uzatılmış konformasyona geri gevşer ve salınımı (c) sonlandırır (Mout ve ark.. 2012).



Şekil 2.13. Nanoparçacık özellikleri, anti-biyofilm stratejilerinde kullanım farklılıkları (Benoit, Sims, and Fraser 2019)

2.7.6. Nanopartiküller ve Konak Toksisitesi

Normal malzemelerle karşılaştırıldığında, nanoparçacıkların yüzey alanı/hacim oranı (hacme özgü yüzey alanı) büyük ölçüde artar ve bu nedenle aynı bileşime sahip daha büyük parçacıklarla karşılaştırıldığında çok daha reaktiftirler. Bu durum, potansiyel olarak toksik maddelerin salınımı da arttırılabilir. Nanopartiküllerin

bağırsaklardan lenfatik sisteme geçişi/translokasyonu da mümkündür (Schmalz ve ark.. 2018).

Nanopartiküllerin (NPs) toksisitesi birçok faktörden etkilenebilir. Bazı çalışmalar NP'lerin toksisitesini araştırmazken, diğerleri antibakteriyel özelliklere sahip NP'lerin belirli bir konsantrasyon aralığında sitotoksikite göstermediğini bildirmiştir (Song and Ge 2019). Şaşırtıcı olmayan bir şekilde, antibakteriyel özelliklere sahip düşük konsantrasyonlu nanopartiküller toksik değildir, yüksek konsantrasyonlu olanlar ise daha belirgin sitotoksikite sergilemiştir ve hatta bazı araştırmacılar nanopartiküllerin toksisitesinin doza bağımlı bir etki sergilediğini bulmuşlardır (Song and Ge 2019). Başka bir çalışma ise nanopartiküllerin toksisitesinin, konsantrasyonlarından ziyade zamanla güçlü bir korelasyona sahip olduğunu bulmuştur. Özet olarak, antimikrobiyal nanopartiküllerin toksisitesi, dozaj, türler, parçacık boyutu, dağılım, etki süresi, diğer bileşenlerle etkileşim vb. gibi çeşitli faktörlerden etkilenir (Song and Ge 2019). Önceki araştırmalar, vücutta yayılmalarından dolayı potansiyel toksik etkiler bildirmiştir. Ayrıca, aynı hedef doku için, bir nanomalzemenin toksisitesinin fizikokimyasal özelliklere, kullanılan galenik maddeye, uygulanan doza ve maruz kalma süresine göre değişmesi muhtemeldir. Periodontal kullanım için nanomalzemelerin güvenliği konusunda bir sonuca varmak için, daha ileri toksikolojik çalışmalar yapılmalıdır (Brun ve ark.. 2020).

Oral anti-biyofilm tedavilerinin spesifik olmayan hedef dışı etkileri, hem lokal dokularda hem de nanopartiküllerin bölgeden uzaklaştırılmasından sonra ortaya çıkabilir. Ağızdaki topikal tedavilerin baskın uzaklaştırılma yolu, sistemik dolaşım ve doku dağılımı ile sonuçlanabilecek sindirim yoluylaadır. Bu nedenle, yeni anti-biyofilm nanoteknolojilerinin geliştirilmesinden önce potansiyel hedef dışı biyolojik dağılımın ve etkilerin değerlendirilmesi çok önemlidir. Metal veya metal oksit bazlı nanopartiküller, gastrointestinal sistem içinde emilebilir. Biyoyararlanım düşük olabilse de (örneğin, alınan dozun <5'i), nanoparçacıkların hedef dışı sistemik etkileri bildirilmiştir. Daha yüksek dozlara sahip metal nanopartiküllerin, kilo kaybına ve beyin, kan, karaciğer, böbrek ve dalakta birikerek oksidatif stresin artmasına neden olduğu rapor edilmiştir. Ek olarak, doku fibrozu ve DNA hasarı da bildirilmiştir (Benoit, Sims, and Fraser 2019).

Örneğin titanyum, yüzeyinde kararlı ve çözünmez bir koruyucu oksit tabakası (TiO₂) oluşturma yeteneğinin bir sonucu olarak, biyolojik olarak en uyumlu metalik malzemelerden biridir (Elias ve ark.. 2008). Titanyum (Ti), tercihen kemik içi dış implantları için kullanılır ve Ti implantlarının özellikleri, Ti nanoparçacıkları (Ti-NP'ler) kullanılarak geliştirilebilir (Valiev ve ark.. 2008). Bununla birlikte, yakın tarihli bir in vitro çalışma, Ti parçacıklarının nano boyuta bağlı bir sitotoksosite gösterdiğini ve konak DNA hasarına sebep olduğunu göstermiştir. Mezenşimal kök hücrelerde apoptozu indüklemek gibi Ti partiküllerinin genotoksik etkileri de tespit edilmiştir (Schmalz ve ark.. 2018). Ayrıca, implantlardan salınan metal parçacıkları araştıran bir ölüm sonrası çalışma, kemik iliği fibrozu göstermiştir (He ve ark.. 2016). Vücuttaki nondental implantların zamanla korozyona uğrayabileceği ve partikül kalıntıları salılabileceği bulunmuştur. Ti bazlı implantlardan kaynaklanan metalik kalıntıların da parçacıklar (mikrometre ile nanometre boyutu), koloidal ve iyonik formlar dahil olmak üzere çeşitli formlarda bulunabileceği bildirilmiştir (Schmalz ve ark.. 2017). Bir çalışmada Gümüş nanopartiküller, Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı önemli antimikrobiyal aktivite göstermiştir. 0.05 ppm AgNP yüklü Ti yüzeyi, Gram-pozitif ve Gram-negatif türleri inhibe etmek için yeterli olmuştur. Bununla birlikte, bu çalışmada uygulanan gümüş nanopartiküller, osteoblastlar üzerinde sitotoksosite sergilemiş ve dolayısıyla klinik uygulamasını sınırlamıştır (Song and Ge 2019).

Güncel risk değerlendirmeleri hem nanoparçacıkların solunması hem de aşınma nedeniyle yutulması açısından hastalar için şu anda kullanılan malzemelerin parçacıkla ilişkili sağlık riskinin muhtemelen düşük olduğunu göstermektedir. Mevcut bilgiler, özellikle dental materyal nanoparçacıklarının astım veya KOAH hastaları gibi hassas hasta grupları üzerindeki etkisi ile ilgili olarak sınırlıdır. Veri eksikliği nedeniyle çevre için bir risk değerlendirmesi şu anda mümkün değildir (Schmalz ve ark.. 2018).

NP'ler vücuda kolayca girebilir ve organlarda birikerek son derece küçük parçacık boyutu nedeniyle zehirlenme semptomlarına yol açabilir. Bugüne kadar, NP'lerin insanlar üzerindeki sitotoksitesini test etmek için hiçbir çalışma yapılmamıştır. Ek olarak, birkaç araştırma farklı NP'lerin antibakteriyel toksisitesini araştırmış olsa da,

antibakteriyel NP'lerin toksisitesini standartlaştıracak tek tip göstergeler yoktur. Sonuç olarak, farklı NP'ler arasındaki toksisiteyi karşılaştırmak zordur (Song and Ge 2019).

2.7.7. Kitosan Nanopartikül

Son zamanlarda hayvanlardan, mikroplardan veya bitkilerden izole edilen antimikrobiyal maddeler piyasaya sürülmüştür. Bu maddelere bir örnek, biyouyumlu olan ve toksisite göstermeyen, hayvansal kökenli bir nanoteknoloji ürünü olan Kitosan'dır (Khan ve ark.. 2020).

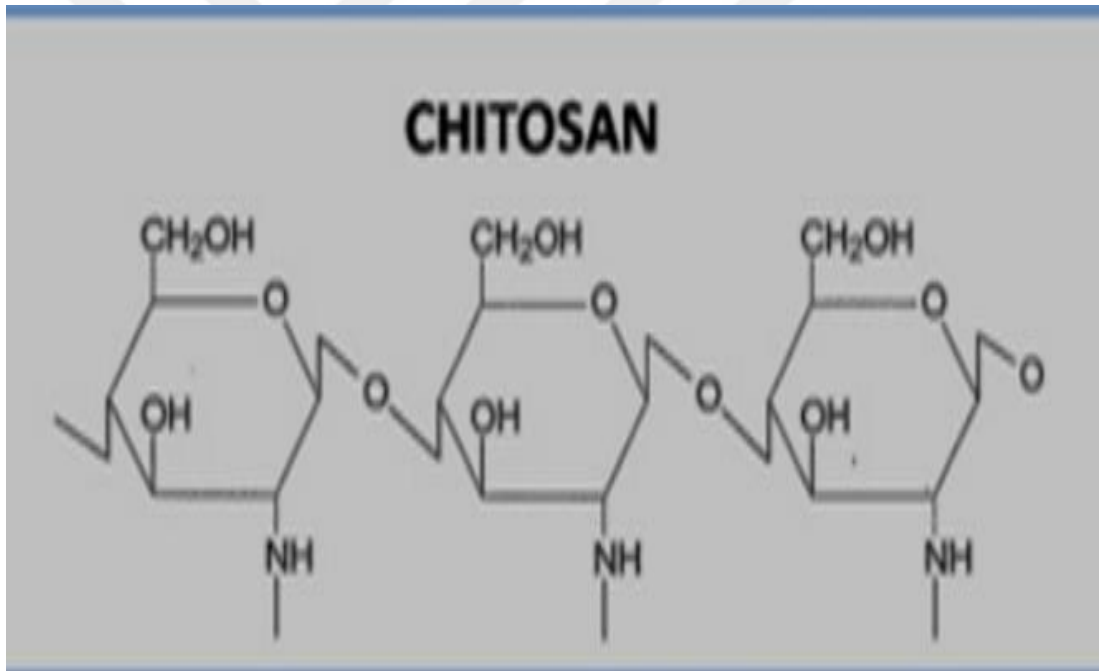
Kitinden alkali deasetilasyon ile elde edilen ve zincirinde çok sayıda amino grubunun varlığı ile karakterize edilen bir biyopoliaminosakkarit katyonik polimerdir. Kitosan kitinden elde edilmesine rağmen kimyasal olarak inert olduğu için kitosan ile karşılaştırıldığında kitin uygulamaları sınırlıdır. Kitosan sentezi için yaygın bir yöntem, genellikle karides ve diğer deniz kabuklularının kabuklarından elde edilen kitinin, reaktif olarak fazla sulu sodyum hidroksit çözeltisi kullanılarak deasetilasyonudur. Kitosan suda çözünmez, ancak seyreltik asidik asetik, sitrik ve tartarik çözeltilerde çözünür. Görünür pKa'sı 6.5 olan kitosanın, glukozamin birimlerinin serbest amino grupları protonasyona uğrar ve iyonlaşabilen çözünür $R-NH_3^+$ formuna dönüşür. Çözünür bir kitosan çözeltisi yapmak için genellikle %1-3 konsantrasyonlarda seyreltik sulu asetik asit çözeltisi kullanılır (Ahmed and Aljaeid 2016).

Kitosan, iyonlaşabilen $R-NH_3^+$ grubu üzerindeki pozitif yük ile mukozal yüzeylerdeki negatif yük arasındaki elektrostatik etkileşim nedeniyle mukoadheziv özelliklerle karakterize edilir (Ahmed and Aljaeid 2016).

Kitosan, birim değeri 6.2–7.0 pKa olan D-glukozamin grupları içeren zayıf bir bazdır, bu da bu polimeri nötr ve alkali pH çözeltilerinde çözünmez hale getirir. Asidik bir ortamda, polimerin amino grupları protonlanarak çözünebilir ve molekülü yüksek yük yoğunluğuna sahip pozitif yüklü polisakarit (her D-glukozamin biriminde bir pozitif yük ile) haline ve çözünebilir hale getirir (Desai 2016). Kitosan [poli-(b-1/4)-2-amino-2-deoksi-D-glukopiranoz], kısmen ve tamamen deasetillenmiş kitin bileşikleri grubunun ortak adıdır (Kong ve ark.. 2010). Yani kitosan, kabuklularda

bulunan pozitif yüklü bir polisakkarit olan kitinden kısmi deasetilasyon yoluyla elde edilir (Virvan ve ark.. 2016). Kitin ise doğada bol miktarda bulunan ve lifli bir yapı ile karakterize edilen hayvansal kökenli bir polisakkarittir. Karides, yengeç ve ıstakoz gibi böceklerin ve kabukluların dış iskeletinin ana bileşeninin temelini oluşturur (Goy, Britto, and Assis 2009).

Kitosan nanopartikülün iyi mukoadhezif kapasitesi, hidrofobik ilaçların biyoyararlanımını ve çözünme oranını iyileştirmiştir. Ek olarak, kitosan kararsız ilaçların stabilitesini, biyoyararlanımlarını ve kontrollü ilaç salımını artırır çünkü moleküller etkili bir şekilde engelleri aşmak ve geçirgenliği artırmak için nano ölçekli aralığın dışındadır. Hem suda çözünen hem de suda çözünmeyen ilaçlar kitosan nanopartiküllere dahil edilebilir (Jafernık ve ark.. 2023).



Şekil 2.14. Kitosan molekülü şematik gösterim (Virvan ve ark.. 2016).

2.7.7.1. Kitosanın Antibakteriyel Özellikleri

Sınırlı sayıda mevcut antibiyotik ve mevcut olanların aktivite spektrumu ve etki tarzındaki benzerlikler nedeniyle, yalnızca planktonik bakterileri değil, aynı zamanda biyofilm olarak büyüyen bakterileri de hedef alabilen yeni ve geleneksel olmayan anti-enfektif tedavilerin tanımlanmasına yönelik karşılanmamış bir ihtiyaç vardır (Piras ve

ark.. 2019). Çünkü biyofilmler, gömülü mikropları ilaca ve bağışıklık tepkisine karşı koruyarak enfeksiyonlar sırasında önemli bir rol oynar.

Aslında, bir biyofilm oluştuktan sonra, biyofilmlerdeki bakteriler antibiyotik tedavisine planktonik hücre formundan 1000 kata kadar daha fazla direnç gösterebilir (Tan ve ark.. 2018). Biyofilmlerdeki mikropların planktonik formlarına kıyasla artan ilaç direnci, temel olarak bir yapı iskelesi işlevi gören ve biyofilmlerdeki hücreleri ilaç saldırısından koruyan biyofilm matrisinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, antimikrobiyal ilaçlar biyofilmlerdeki hücreleri, biyofilm yapısından ayrılmadan etkili bir şekilde öldürebilse bile, biyofilm yine de diğer mikrobiyal hücrelerin yapışmasını ve biyofilmin yeniden büyümesini teşvik edebilir. Bu nedenle, bakteri hücrelerinin yanı sıra, biyofilm matrisinin kendisi de biyofilmlerin tedavisi için bir hedef olmalıdır. Bu amaçla ilaç etkinliğini arttırmak için biyofilm matrisinin bozunması yeni bir strateji olarak önerilmiştir (Tan ve ark.. 2018).

Bu bağlamda, anti-enfektif özelliklere sahip biyomedikal/farmasötik dereceli fonksiyonel polimerlere olan ilgi son zamanlarda artmıştır. Antimikrobiyal aktiviteleri genellikle mevcut antibiyotiklerin etki mekanizmalarını içermediğinden, antimikrobiyal polimerler, geleneksel ilaçlara dirençli mikroorganizmalara karşı hareket etme potansiyeline sahiptir (Piras ve ark.. 2019).

Önceki çalışmalar, 1980-1990'larda kitin, kitosan ve türevlerinin antimikrobiyal potansiyelini tanımlamıştır (Goy, Britto, and Assis 2009). Nano boyuttaki kitosan, antimikrobiyal etkiler, ilaç, gen ve/veya aşı dağıtım sistemleri ve anti-tümör etkisi dahil olmak üzere üstün aktivitelere sahiptir (Aksungur ve ark.. 2004).

Organik NP'lerin temsilcisi olarak kitosan, en bol bulunan ikinci doğal biyopolimer olan kitinin bir türevidir. Kitosan biyolojik olarak uyumludur ve biyolojik olarak parçalanabilir, ayrıca geniş bir antimikrobiyal aktivite yelpazesine sahiptir (Chávez-Andrade ve ark.. 2017). Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı geniş bir aktivite spektrumuna ve yüksek öldürme oranına sahiptir, ancak bunu yaparken memeli hücrelerine karşı düşük toksisite gösterir (Kong ve ark.. 2010).

Kitosanın antibakteriyel mekanizmalarından biri olarak, mikroorganizmanın çekirdeğine nüfuz edip mikrobiyal DNA ile bağlanması ve bu sayede mRNA ve protein sentezinin inhibisyonuna yol açması olarak gösterilir (Goy, Britto, and Assis 2009). Ancak Raafat ve arkadaşları, bu durumun olası bir mekanizma olarak kabul edilmesine rağmen, gerçekleşme olasılığının oldukça düşük olduğunu belirtmiştir. Bu nedenle hakim olan görüş, kitosanın nüfuz edici bir materyalden ziyade esasen bir dış zar bozucu olarak hareket ettiğidir (Raafat ve ark.. 2008).

Bazı araştırmalar kitosanın *S. mutans* ve diğer streptokoklara karşı antibakteriyel ve plak önleyici etkilere ve adezyon önleyici özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Kitosan nanoparçacıkları, kitosandan daha küçük boyutlara sahiptir ve bu özellik onu benzersiz kılabilir (Aliasghari ve ark.. 2016).

Aliasghari ve arkadaşları, yaptıkları bir in vitro çalışmada kitosan ve kitosan nanopartiküllerinin *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguis* ve *Streptococcus salivarius*'u içeren dört streptokok suşu üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, bu maddelerin bakteriyostatik veya bakterisidal ve yapışma önleyici etkilere sahip olduğunu ve in vitro olarak biyofilm/plak oluşumunu azaltabildiklerini göstermiştir (Aliasghari ve ark.. 2016)

Kitosanın bakterisidal etkinliğindeki çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörler oynadıkları rollere göre, dört kategoride sınıflandırılabilir: (1) mikroorganizma türleri ve hücre yaşı ile ilgili mikrobiyal faktörler; (2) pozitif yük yoğunluğu, molekül ağırlığı, konsantrasyon, hidrofilik/hidrofobik karakteristik ve şelatlama kapasitesi dahil olmak üzere kitosanın içsel faktörleri; (3) kitosanın fiziksel hali, yani suda çözünür ve katı hali; (4) ortamdaki iyonik gücü, pH'ı, sıcaklığı ve reaktif zamanı içeren çevresel faktörler (Kong ve ark.. 2010).

2.7.7.1.1. Bakteri Türüne Göre Antibakteriyel Etki

Kitosanın antibakteriyel aktivitesinin, farklı hücre yüzeyi özelliklerinden dolayı Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler arasında farklılık gösterdiğini öne süren çalışmalar mevcuttur (Kong ve ark.. 2010).

Birkaç çalışmada, Gram-negatif bakterilere karşı Gram-pozitif bakterilere göre daha güçlü antibakteriyel aktivite görülmüştür. Tam tersi olarak başka bir çalışmada ise Gram-pozitif bakteriler, belki de Gram-negatif dış zar bariyerinin bir sonucu olarak kitosan daha duyarlı olarak bulunmuştur (Kong ve ark.. 2010). .

Bazı çalışmalar ise bakteriye karşı antibakteriyel aktiviteler arasında gözlemlenen önemli bir fark olmadığını göstermiştir (Kong ve ark.. 2010).

Bakteri hücre yüzeyindeki polianyonlar, kitosan ile elektrostatik etkileşimlerde yer alır. Yapılan bir çalışmada, test edilen Gram-negatif bakterilerin hücre yüzeyindeki negatif yük, test edilen Gram-pozitif bakterilerdekinden daha yüksek bulunmuş, ayrıca kitosanın Gram negatif bakterilere karşı daha fazla inhibitör etkiye yol açtığı görülmüştür (Kong ve ark.. 2010).

Gram-negatif bakterilerin dış zarı, esas olarak, yüzeye negatif yük yoğunluğu veren fosfat ve pirofosfat grupları içeren lipopolisakkaritlerden oluşur. Bu zar yapısının anyonik değeri Gram-pozitif bakterilerinkinden fazladır. (Gram-pozitiflerde polisakkaritler ve teikoik asitlerle ilişkili peptidoglikandan oluşan bir zar vardır.) Bu durum, kitosan tarafından gram-negatif bakterilerde gözlemlenen hücre içi materyal sızıntısının, dolayısıyla da antibakteriyel etkinin gram-pozitif bakterilerde bildirilenden daha fazla olmasına yönelik destekleyici bir faktördür (Goy, Britto, and Assis 2009).

2.7.7.1.2. Kitosan Molekülüne Bağlı Faktörler ve Antibakteriyel Etkiler

2.7.7.1.2.1. Molekül Yükü ve Antibakteriyel Etki

Önceki çalışmalar, kitosanın benzersiz antibiyofilm ve antibakteriyel özelliğinin, Nacetylglucosamine birimlerinin fonksiyonel amino grupları (NH₂) tarafından verilen polikasyonik doğasına atfedildiği konusunda hemfikirdir. Kitosanın pozitif yükünün, hücreler arası biofilm matrisi, proteinler ve DNA gibi negatif yüklü biyofilm bileşenleri ile elektrostatik olarak reaksiyona girerek bakteriyel biyofilm üzerinde inhibitör bir etki oluşturmaya beklenir (Khan ve ark.. 2020).

Çok sayıda literatür çalışması, polikatyonik yapının antimikrobiyal aktivitedeki temel önemini desteklemektedir. Nitekim yüksek bir pozitif yük yoğunluğu, negatif yüklü bakteri duvarı ve biofilme karşı güçlü elektrostatik etkileşime yol açar. Kitosanın antimikrobiyal etkilerinden biri de pozitif yüklü kitosan ile mikrobiyal sitoplazmik veya hücre zarında bulunan karbonhidrat, proteinler ve lipidler gibi negatif yüklü kalıntıların etkileşimidir (Costa, Silva, Vicente, ve ark.. 2017). Bu tür etkileşimler hücre zarı geçirgenliğini değiştirir ve sonuçta hücre ölümüne yol açan sitoplazmik içeriğin sızmasına neden olur (Khan ve ark.. 2020).

Yapılan bir çalışma, daha fazla pozitif yüke sahip kitosanın, *S. aureus*'un büyümesini engellemede daha başarılı olduğunu bildirmiştir (Kong ve ark.. 2010). Yine başka bir çalışmada Siprofloksasin yüklü, fucoidan polisakkarit ile kaplanmış kitosan nanoparçacıkları, muhtemelen negatif yüklü biyofilm bileşenleriyle elektrostatik olarak etkileşime girerek antibiyotiği sürdürülebilir bir şekilde serbest bıraktı ve sonunda *Salmonella* biyofilmi yok edilebildi (S ve ark.. 2017).

2.7.7.1.2.2. Molekül Ağırlığı, Asetilasyon Derecesi ve Antibakteriyel Etki

Çeşitli çalışmalar kitosanın biyolojik aktivitesinin önemli ölçüde moleküler ağırlığına ve deasetilasyon derecesine bağlı olduğunu göstermiştir. Molekül ağırlığının antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkisinin deasetilasyon derecesinin etkisinden daha büyük olduğu öne sürülse de, her iki parametre de kitosanın antimikrobiyal aktivitesini bağımsız olarak etkiler (Goy, Britto, and Assis 2009).

Küçük molekül zincirlerinin hareketliliği, çekiciliği ve iyonik etkileşimi, büyük olanlardan daha kolaydır, bu da kitosanın bakteri zar yüzeyine daha etkili bir şekilde bağlanmasını sağlar. Bu nedenle düşük molekül ağırlıklı kitosanın antibakteriyel etkisi, daha yüksek molekül ağırlıklı kitosana göre daha fazladır (Goy, Britto, and Assis 2009).

Nitekim biyofilm matrisini kolayca geçebilen ve bakteri hücrelerini öldürebilen düşük molekül ağırlıklı kitosan nanoparçacıkları hakkında birçok rapor mevcuttur (Khan ve ark.. 2020).

Deasetilasyon derecesi ise ne kadar düşük olursa, kitosanın antimikrobiyal etkinliği o kadar fazla olur. Bunun sebebi, deasetilasyon derecesi azaldıkça, kitosanda bulunan serbest amino gruplarının sayısının daha yüksek olması ve bu durumun antimikrobiyal etkiyi arttırmasıdır (Goy, Britto, and Assis 2009).

2.7.7.1.2.3. Suda Çözünme ve Antibakteriyel Etki

Formları veya miktarları ne olursa olsun, antimikrobiyal ajanlar tipik olarak aktivite için su gerektirir. Tamamen kuru numuneler, etkileşimi başlatmak için kimyasal bağlarda depolanan enerjilerini serbest bırakma konusunda neredeyse yetersizdir (Kong ve ark.. 2010).

Kitosanın hidrofilik özellikleri suda çözünürlüğünü derinden belirler. Kitosanın suda zayıf çözünürlüğü ve yüksek viskozitesi, antibakteriyel aktivitesini azaltır ve uygulamaları için dezavantaj oluşturur (Khan ve ark.. 2020).

Bir yaklaşım olarak kimyasal modifikasyonlar, kitosan ve türevlerinin suda çözünürlüğünü iyileştirmede ve uygulamalarını genişletmede etkilidir. Suda çözünür kitosan ve türevlerinin oluşturulması, sakarizasyon, alkilasyon, asilasyon, kuaternizasyon ve metalizasyonu içeren antimikrobiyal aktivite araştırmalarının temel amacı olmuştur (Kong ve ark.. 2010).

Bir örnek olarak, kuaterner amonyum kitosan, disosiyatif hidroksil grubu veya amino grubuna, kuaterner amonyum grubu eklenerek hazırlanabilir. Böylece antibakteriyel etkinlik arttırılabilir (Kong ve ark.. 2010). Kitosanın kuaterner tuzları ile yapılan çalışmalar, bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitenin kitosandan daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur (Sadeghi ve ark.. 2008).

2.7.7.1.2.4. Şelat Oluşturma ve Antibakteriyel Etki

Kitosanın, kitosan moleküllerindeki amin gruplarının şelasyon yoluyla metal katyonlarının alımından sorumlu olduğu mükemmel metal bağlama kapasitelerine sahip olduğu iyi bilinmektedir (Helander ve ark.. 2001). Kitosan, asit koşullarında çeşitli metal iyonları (Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} ve Cu^{2+} dahil) için yüksek şelatlama kapasitesine sahiptir. Kitosanın polimerik yapısı ayrıca bakteri genlerinin

transkripsiyon ve translasyonunda gerekli olan kalsiyum, çinko, magnezyum gibi birçok önemli metal ile şelasyona izin verir, böylece bu işlem durur ve hücre ölür (Khan ve ark.. 2020). Böylece bu tür metal iyonlarının kitosan aracılı şelasyonu ile mevcut antimikrobiyal etki arttırılır (Kong ve ark.. 2010).

Bakterilerin çevresindeki kitosan moleküllerinin, metallerle şelat oluşturup, onları kompleks haline getirmesi, bazı temel besin maddelerinin akışını bloke ederek hücre ölümüne neden olur (Goy, Britto, and Assis 2009).

2.7.7.1.3. Ortam pH'si ve Antibakteriyel Etki

Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi pH'a bağlıdır (Kong ve ark.. 2010). Kitosan (CS) doğadaki tek alkali polisakkarittir (Samy ve ark.. 2020). Kitosan, birim değeri 6.2–7.0 pKa olan D-glukozamin grupları içeren zayıf bir bazdır, bu da bu polimeri nötr ve alkali pH çözeltilerinde çözünmez hale getirir. Asidik bir ortamda, polimerin amino grupları protonlanarak çözünebilir ve molekülü yüksek yük yoğunluğuna sahip pozitif yüklü polisakkarit (her D-glukozamin biriminde bir pozitif yük ile) haline getirir (Desai 2016). Kimyasal yapı aydınlatması, kitosanın reaktif hidroksil ve amino gruplarına sahip olduğunu ve kitinden genellikle daha az kristalli olduğunu göstermektedir. Kitosanın yükü ve fizikokimyasal özellikleri amino gruplarının varlığından dolayı pH tarafından belirlenir. 6'nın üzerindeki pH'ta, kitosan amino grupları deprotone hale gelir; polimer yükünü ve çözünürlüğünü kaybeder. Aksine, daha düşük pH'ta, amino grupları protonlanır ve pozitif yüklü hale gelir, kitosan suda çözünür katyonik bir polielektrolit haline gelir. Çözünürlük ve çözünmezlik arasındaki bu geçiş, pH 6 ile 6.5 arasındaki pKa değerinde gerçekleşir. Bu nedenle kitosan, asetik asit, hidroklorik asit gibi hafif asidik ortamlarda kolayca çözünür ve nötr ve alkali pH değerlerinde çözünmez. (Chandra Hembram ve ark.. 2016). Kitosanın sadece asit ortamda antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Kitosan, düşük pH'larda kesinlikle daha güçlü inhibitör etki gösterirken, inhibitör aktivite artan pH ile zayıflar. Kitosanın pH 7'de bakterisidal kalamaması, kitosanın zayıf çözünürlüğünün yanı sıra pozitif olmayan amino gruplarının, bu pH değerinde kitosan üzerinde çok fazla bulunmasından kaynaklanabilir (Kong ve ark.. 2010).

2.7.7.2. Kitosanın İlaç Taşıyıcı Özellikleri

Yakın tarihli ve geçmişteki çalışmalar, farklı kaynaklardan izole edilen antibiyofilm ilaçlarının tedavi süresi boyunca sitotoksikite etkileri, zayıf stabilite ve suda çözünmezlik sergilediğini göstermiştir. Biyouyumlu polimerlerle hazırlanan polimerik nanoparçacık (NP) ise ilaçları sürekli salıverme özelliğinden dolayı oldukça ilgi çekmektedir (Tan ve ark.. 2018).

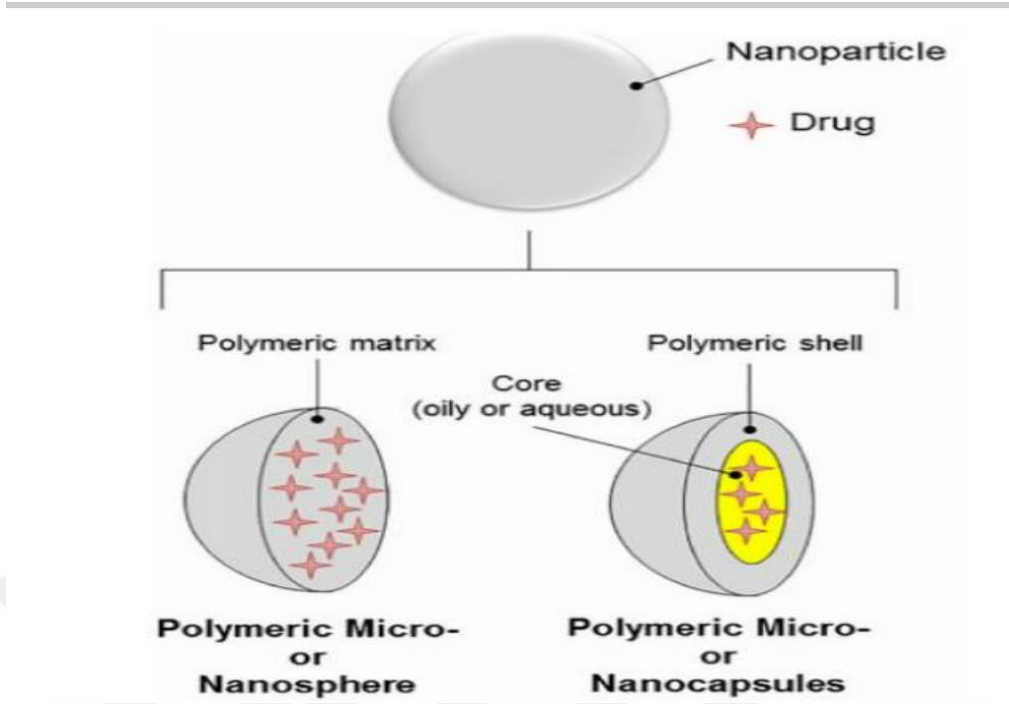
Bu sınırlamayla mücadele etmek için, antibiyofilm ilaçlarının taşıyıcı moleküller olarak farklı kitosan formülasyonlarına yüklendiği kontrollü salım teknolojisi ortaya çıkmıştır (Khan ve ark.. 2020). Doğada bulunan çeşitli biyopolimerler arasında kitosan, doğal antimikrobiyal özelliklerinden dolayı dikkat çekmiştir. Ek olarak kitosan, toksik olmayan, biyolojik olarak parçalanabilen bir polimerdir ve aynı zamanda yüksek biyouyumluluk, düşük düzeyde bağışıklık reaksiyonları ve hem mukoadheziv hem de absorpsiyonu artırıcı özellikler gösterir. İyileştirilmiş biyolojik dağılım, artan özgüllük ve duyarlılık ve ayrıca azaltılmış farmakolojik toksisite gibi yararlı özellikleri nedeniyle kitosan, ilaç taşıyıcı sistemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Jaferník ve ark.. 2023).

Nanoteknoloji tabanlı Kitosan ilaç salım ve dağıtım sisteminde, antibiyofilm ajan ile nano düzeyde entegre edilmiş kitosan, biyofilm matrisinin içine kolayca girebilir ve sürdürülebilir, yüksek doz ilaç salımı yapabilir (Khan ve ark.. 2020). Kitinin deasetillenmiş bir türevi olan kitosan, ilaç salımı için etkili bir araçtır ve özellikle hidrofobik makromoleküler ilaçların emilimini artırabilir. Kitosanın ayrıca mukoadheziv katyonik doğası sayesinde terapötik materyali etki bölgesine daha yakın tutarak ilaç salımının etkinliğini artırma yeteneğine sahip olduğu bulunmuştur (Russo ve ark.. 2014). Ek olarak, kitosanın kendisinin de antibiyofilm aktivitesi yakın zamanda rapor edilmiştir (Tan ve ark.. 2018). Bu partiküller, farmasötik olarak aktif ajanı kontrollü ve bazen bölgeye özgü bir şekilde vermek için kullanılabilir. Kitosanın mukoadhezif doğası, hazırlanan partiküllere hem ilaç absorpsiyonunu hem de biyoyararlanımı iyileştirme yeteneği verir çünkü ilacın mukozal tabaka ile uzun süreli teması ve nanopartiküllerin yüksek yüzey-hacim oranı da bu etkiyi artırabilir. Spesifik bir bölgede ve uzun bir süre boyunca ilaç salınımı, kitosanın vücutta bukkal, nazal ve

vajinal boşluklar gibi spesifik mukozal yüzeylere yapıştığı mukoadhezyon ile de sağlanabilir (Ahmed and Aljaeid 2016).

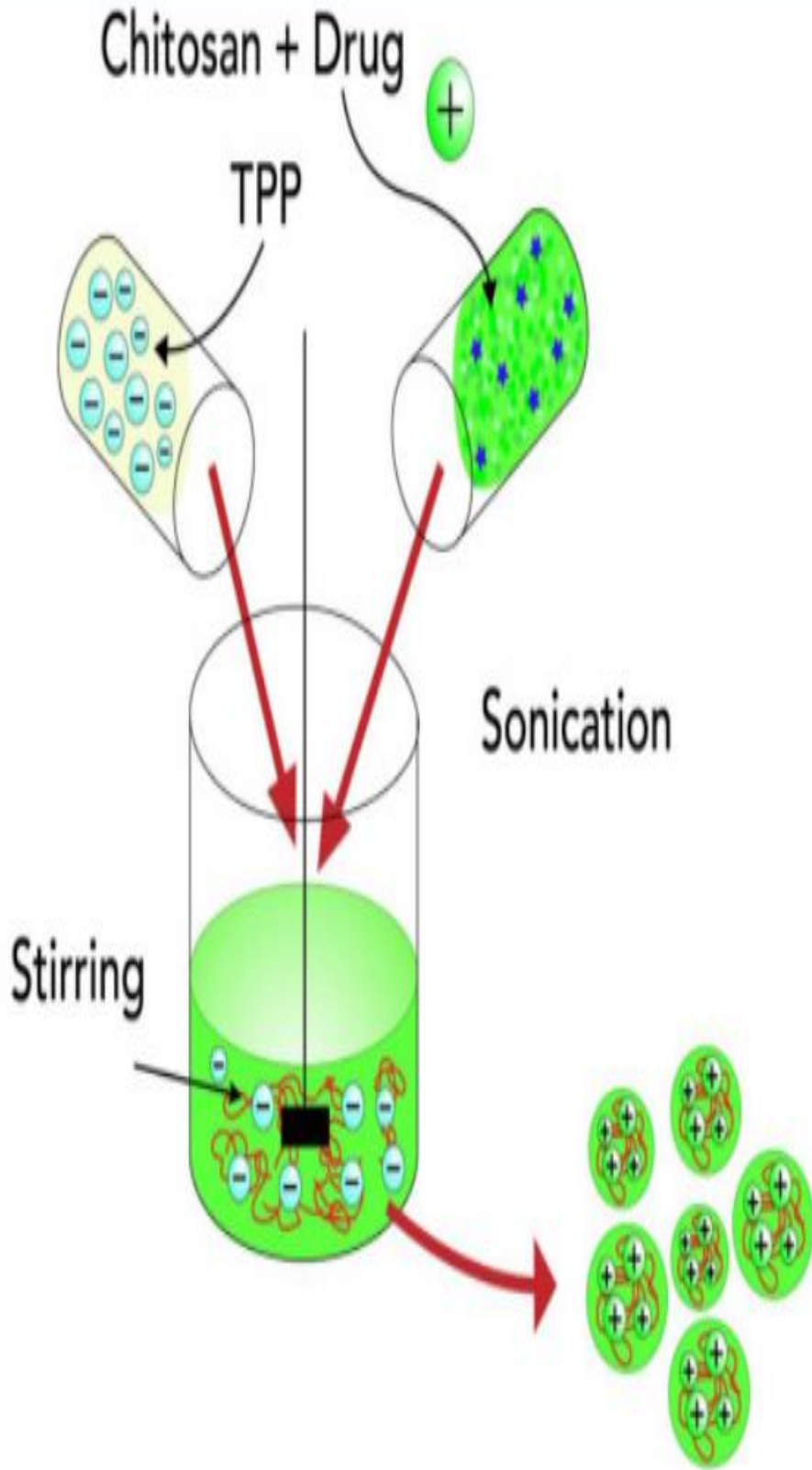
Kitosan zayıf stabilite, kontrol edilemeyen ve sürdürülemez ilaç salınımı ve direnç gelişimi gibi istenmeyen etkilere sahip geleneksel dağıtım sistemlerinin yerine, kimyasal olarak sentezlenen veya diğer organizmalardan izole edilen antibiyofilm ilaçlar için taşıyıcı bir molekül olarak kullanılır (Khan ve ark.. 2020). CS'nin polikasyonik doğası, onu suda çözünür ve mukoza zarları gibi negatif yüklü yüzeylere kolayca bağlanan bir biyo-yapışkan yapar. Böylece mukozaya adezyonu artırır ve sonuç olarak ilaç moleküllerinin buradan penetre olması için temas süresini uzatır (Mikušová and Mikuš 2021). İlaç dağıtım uygulamaları için etkileyici özellikler sergiler. Bunlardan bazıları; biyouyumluluk, düşük maliyet, mukus yapışması, immün reaksiyona neden olmaması ve sitotoksik etki göstermemesi olarak sayılabilir (Vırlan ve ark.. 2016). Klorheksidin, metronidazol ve nistatin gibi antiseptikleri taşıyabilecek ve iletebilecek özelliklere sahiptir (Aksungur ve ark.. 2004).

Nanopartiküller, morfolojilerine göre iki ana gruba ayrılabilir: (i) nanoküreler ve (ii) nanokapsüller (Mikušová and Mikuš 2021). Nanoküreler, kaynakların homojen bir şekilde dağıldığı homojen bir matris yapısına sahip katı yapıları temsil ederken, nanokapsüller, bir polimer membran ve dahil edilen ilacın bir iç çekirdeğinden oluşan geleneksel bir içi boş kabuk yapısı oluşturur (Shoueir ve ark.. 2021). Her iki malzemenin de ana hedefi aktif madde içermesi, yüksek taşıma kapasitesine sahip olması ve kontrollü salınım sağlamasıdır (Mikušová and Mikuš 2021).

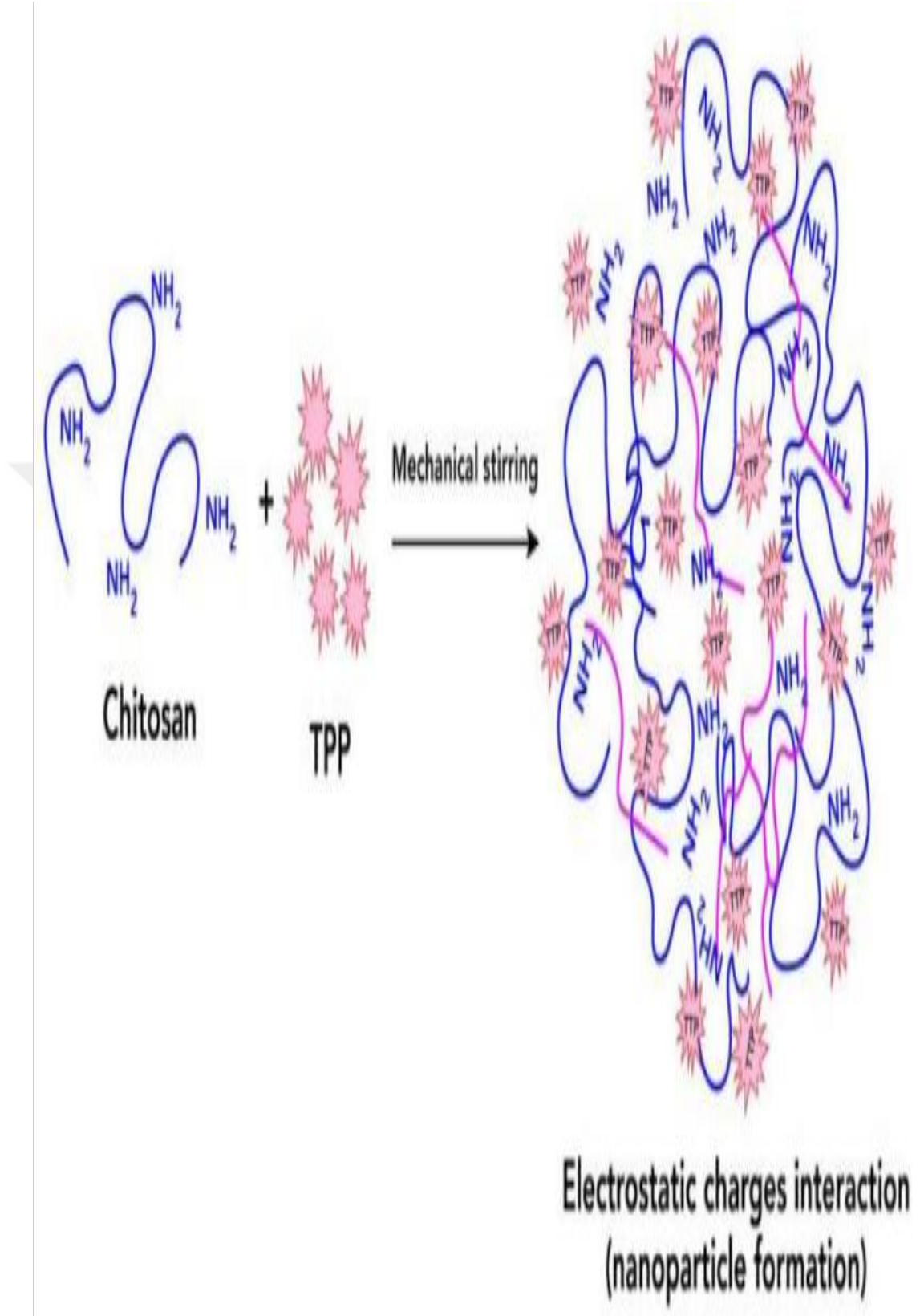


Şekil 2.15. Polimerik mikro veya nanokapsül ile mikro veya nanopartikül ilaç dağıtım sistemleri arasındaki şematik fark (Mikušová and Mikuš 2021).

İlacın çoğunlukla kitosan'a hidrojen bağı, elektrostatik etkileşim veya hidrofobik bağlantı ile bağlandığı kitosan mikro-/nanopartiküllerini hazırlamak için farklı yöntemler mevcuttur. Genel olarak terapötik ajanın kitosan mikro-/nanopartiküllerine yüklenmesi ya hazırlama işlemi sırasında ya da partiküller oluşturulduktan sonra gerçekleştirilebilir. Birincisinde, terapötik ajan kitosan matrisine dahil edilir ve gömülür, oysa ikincisinde terapötik ajan partikül yüzeyi üzerinde adsorbe edilir. Genellikle amaç, matrise dahil edilerek gerçekleştirilebilen yüksek yakalama verimliliği elde etmektir, ancak terapötik ajan, hazırlama yönteminden, katkı maddelerinden vb. etkilenebilir (Ahmed and Aljaeid 2016).

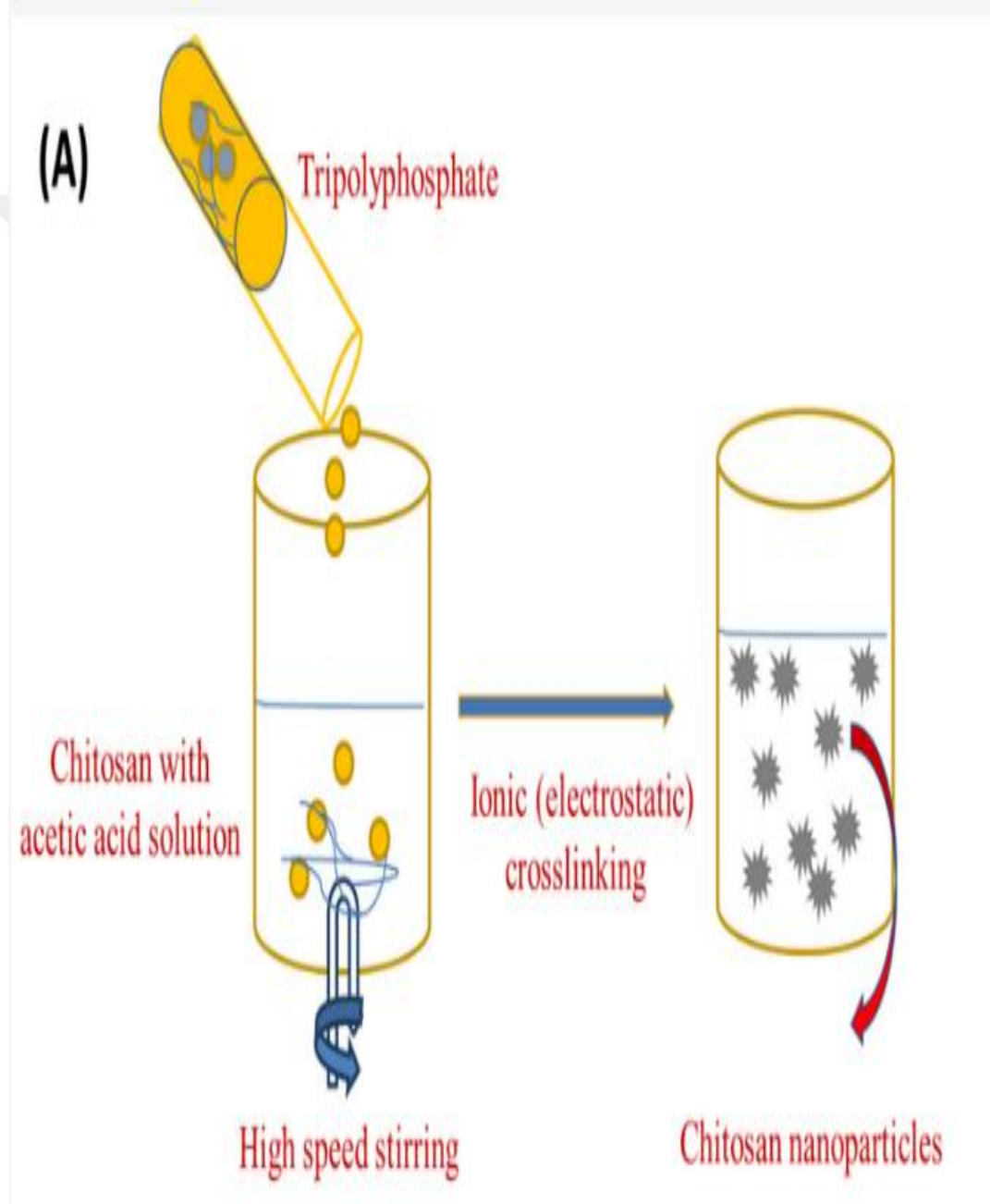


Şekil 2.16. İyonik çapraz bağlama (iyonik jelasyon) yöntemine dayalı nanopartiküllerin sentezi (Guadarrama-Escobar ve ark.. 2023).



Şekil 2.17. Kitosanın NH_2 grubu ile TPP'nin negatif yükü arasındaki elektrostatik etkileşim (Guadarrama-Escobar ve ark.. 2023).

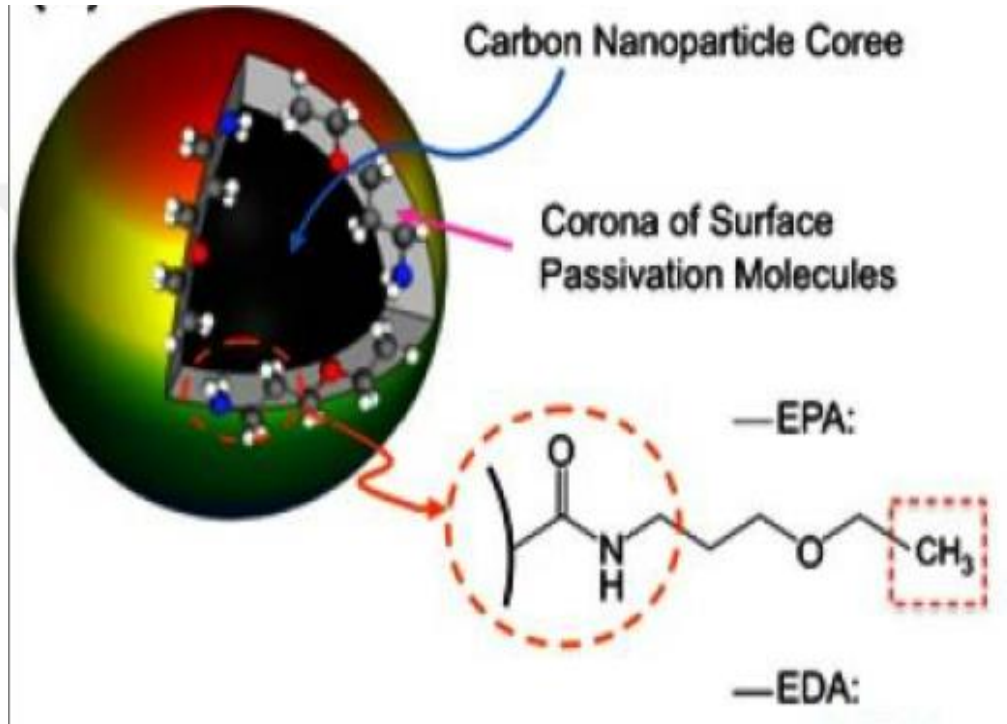
Örneğin stabilizasyon özelliği için, uçucu yağ gibi doğal antimikrobiyal ajanlar ve doğal maddeler kitosan nanopartiküller içinde kapsüllenecek çevresel bozulmadan etkili bir şekilde korunur. Nitekim jelatin nanolifler üzerine gömülmüş kitosan nanoparçacıkları tarafından taşınan karanfil yağı, in vitro olarak oluşan *Escherichia coli* biofilm popülasyonunu büyük ölçüde kesintiye uğratmış ve uzaklaştırmıştır (Cui ve ark.. 2018).



Şekil 2.18. kitosan nanoparçacıklarının (A) iyonotropik jelleşme ile üretimi

2.7.8. Karbon Dots (Karbon Quantum Dots) Nanopartikül

Karbon kuantum dotlar (CDot'lar), Scriven ve arkadaşları tarafından 2004 yılında keşfedilen karbon bazlı kuantum dotlardır (Shabbir ve ark.. 2022). CDot'ların yapısı, büyük ölçüde şekilsiz olan bir karbon nanopartikül çekirdeğinden ve yüzey işlevselleştirmesi için çeşitli seçenekler sunan yumuşak bir kabuktan oluşur (Abu Rabe ve ark.. 2019).



Şekil 2.19. CDot'ların yapıları (Abu Rabe ve ark.. 2019)

Karbon dotlar (CDot), karbon ailesinin 10 nm'den küçük yeni üyesidir ve ucuz ve kolay sentez yöntemleri, kolay yüzey modifikasyonu, mükemmel fotoluminesans, olağanüstü suda çözünürlük ve düşük toksisite gibi benzersiz özellikleri nedeniyle son on yıldan beri araştırmacıların büyük ilgisini çekmiştir (Sharma and Das 2019). Genellikle etkili yüzey fonksiyonlaştırma kolaylığına sahip ve 10 nm'nin altında boyutları olan küçük karbon nanoparçacıklar olarak tanımlanırlar (Yuan ve ark.. 2022). Amorf ya da küresel şekilde olabilirler (Sun ve ark.. 2006). Bir dizi organik öncüden hazırlanabilen karbon bazlı sıfır boyutlu nanomalzemelerdir (Shabbir ve ark.. 2022).

Karbon kuantum dotlar (CDots), görünür ışıqla aktive olan yeni bir antimikrobiyal nanomalzeme sınıfı olarak rapor edilmiştir. Aktivasyon için tipik olarak ultraviyole ışık gerektiren geleneksel nano ölçekli yarı iletken tabanlı ışığa duyarlı hale getiricilerin aksine, CDot'lar görünür ışıqla kolayca etkinleştirilebilir, böylece antimikrobiyal uygulamayı çok daha geniş bir aralığa, neredeyse ev ışığı/doğal ortam ışığı ile erişilebilen her yere genişletebilir (Dong ve ark.. 2018). Karbon dotlar (CDot) genellikle in vitro ve in vivo olarak iyi huylu ve toksik olmayan olarak bilinir (Dong ve ark.. 2020).

2.7.8.1. Antimikrobiyal Etkileri

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmaların bir yüzeye geri dönüşümsüz olarak bağlandığı ve üzerinde büyüdüğü ve hücre dışı bir matrisin bağlanmasını ve oluşumunu kolaylaştıran hücre dışı polimerik maddeler ürettiği karmaşık bir süreçtir (Donlan 2001). Olgun biyofilmlerdeki hücreler arası biofilm matrisinin mekanik ağları, mikroorganizmaları korur; suyu, organik bileşikleri, inorganik iyonları ve hücre dışı enzimleri tutar; redoks etkinliğini etkinleştirir ve yatay gen transferini kolaylaştırır. Biyofilmin bu tür yapısı, içerisindeki bakterilere çevre koşullarına dayanma konusunda güçlü bir yetenek sağlar ve planktonik bakteri muadilleriyle karşılaştırıldığında onu antibiyotiklere, dezenfeksiyona ve/veya sanitasyona karşı çok daha dirençli hale getirir (Dong ve ark.. 2021). Maalesef antibiyotiklerin biyofilmlere uygulanması, biyofilmlere sınırlı nüfuz etmelerinden veya daha da kötüsü, biyofilmle ilişkili hücreler tarafından daha fazla antibiyotik direncinin gelişimini teşvik etmelerinden dolayı genellikle etkisizdir (Dong ve ark.. 2021).

Antibiyotiklere alternatif olarak nanopartiküller, üstün performansları ve çevreye uyum sağlamaları nedeniyle büyük ilgi görmüştür (Varghese and Balachandran 2021). Nanopartiküller, son derece küçük boyutlarından dolayı kendilerine antimikrobiyal aktivite sağlayabilen, bakteriyel ve viral öldürücüler olarak hareket edebilen ve bulaşıcı hastalıkları tedavi edip önleyebilen bir dizi benzersiz özelliğe sahiptir (Miao ve ark.. 2023).

Bunların arasında, karbon dotlar (CDot'lar) gelmektedir. Eşsiz optik özellikleri, mükemmel biyoyumlulukları, düşük toksisite ve modifikasyon kolaylıkları

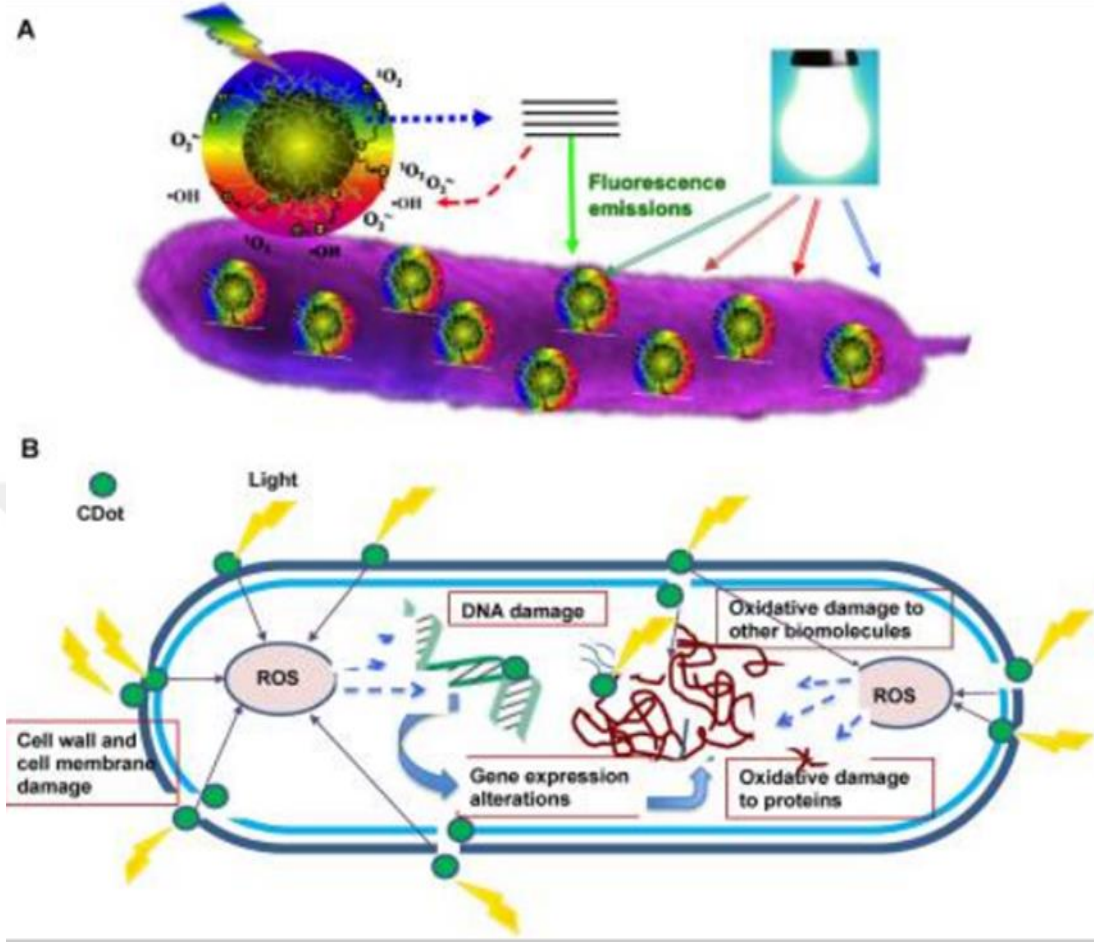
nedeniyle CDot'lar, biyomedikal alanda biyogörüntüleme, foto termal terapi, ilaç salınım ajanı olarak kullanılma, biyosensörler, kanser tedavisi ve antibakteriyel tedavi gibi geniş bir uygulama yelpazesine sahiptirler (Miao ve ark.. 2023).

CDot'lar bakteri üremesini engeller ve fototermal sterilizasyon, fotodinamik sterilizasyon ve DNA bozunması yoluyla hücreleri yok eder ve bu nedenle direnç gelişme olasılığı düşüktür (Miao ve ark.. 2023). Thakur ve arkadaşları, arap sakızından karbon dot sentezini araştırmışlar ve CDot moleküllerinin hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı potansiyel antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır (Thakur ve ark.. 2014).

Karbon dot uygulamasında yer alan antibakteriyel mekanizma, geleneksel antibiyotiklerden karmaşık ve farklı bir süreçtir (Jhonsi ve ark.. 2018). Fotodinamik etkiler açısından ilgili olduğu üzere, CDot'ların fotoaktif antimikrobiyal etkinliği, oksijen varlığında sitotoksik türler üretmek için toksik olmayan bir boyayı, yani bir ışığa duyarlılaştırıcıyı ve düşük yoğunluklu görünür ışığı birleştiren bir teknik üzerine kuruludur (Hamblin and Hasan 2004). Işık aydınlatması altında fotoduyarlılaştırıcı, hedef hücreleri öldüren reaktif oksijen radikalleri (ROS) üretmek için indüklenir (Dong ve ark.. 2020).

Kanser tedavisinde güçlü fotodinamik etkiler sergiledikleri gibi benzer şekilde, ışıkla uyarılmış CDot'lar, mikroorganizmaları öldürdüğü/engellediği bilinen reaktif oksijen türlerini (ROS) de üretebilir (Dong ve ark.. 2020). CDot'ların geniş ve güçlü optik absorpsiyonları, ev ışığı/doğal ortam ışığı dahil olmak üzere görünür ışık altındaki antimikrobiyal özelliklerinden sorumludur (Dong ve ark.. 2020). CDot'ların fotoaktif edilmiş antimikrobiyal aktivitesi, mekanik olarak CDot'larda fotoindüklenmiş redoks işlemleri ve sonucunda açığa çıkan reaktif oksijen radikalleriyle ilişkilidir (Meziani ve ark.. 2016).

CDotlar bakteri yüzeyine yapışırlar, floresan ışığa maruz kaldıklarında ROS üretimini indüklerler, bu reaktif oksijen radikalleri bakteri hücre duvarını/membranını parçalar ve penetre ederler, bakteri içine girip oksidatif stres oluştururlar ve böylece DNA/RNA hasarları, önemli gen ekspresyonlarının inhibisyonu, ve proteinlere ve diğer hücre içi biyomoleküllere ölümcül hasar verirler (Dong ve ark.. 2020).



Şekil 2.20. CDots'un fotoaktif edilmiş antibakteriyel aktivitelerinin etki mekanizmasına ilişkin karikatür çizimi. (A) CDotların bakteri yüzeyine yapışması ve görünür ışık kaynaklı ROS oluşumu. (B) Hücre içi ROS bakteri hücrelerine zarar vermesi (Dong ve ark.. 2020).

Görünür/doğal ışık aydınlatması altında, bakteri hücresi ile temas halindeki CDotlar, havadaki veya sudaki oksijeni aktive ederek verimli bir şekilde ROS üretebilir, bu da hücredeki kritik biyomoleküllerin bazılarını yok edebilen ve bakteri ölümüne neden olan hidroksil serbest radikallerinin ($OH\cdot$) ve/veya tekli oksijen radikallerinin üretimine yol açar (Jhonsi ve ark.. 2018). ROS'un hücre içi protein inaktivasyonuna, lipid peroksidasyonuna, mitokondri disfonksiyonuna ve hücre zarının kademeli parçalanmasına, ardından nekroz/apoptoz ve nihai hücre ölümüne neden olduğu iyi belgelenmiştir (Dong, Awak, ve ark.. 2017).

Biyolojik olarak, bakteri hücrelerinin ışıkla aktive olan CDot'lar tarafından inaktivasyonu, hücrelerde önemli hasarlar ile ilişkilidir, tipik olarak lipit karbon-karbon çift bağlarının serbest radikaller veya güçlü oksidanlar tarafından saldırıya uğradığı çok aşamalı bir süreç olan lipit peroksidasyonu ile olur (Yin, Xu, and Porter 2011).

CDot foto aktivasyonu için gereken ışık dalga boyları ile ilgili bir sınırlama, genel olarak zayıf penetrasyonları ve dokulardaki hemoglobin ve su molekülleri tarafından önemli ölçüde emilmeleri nedeniyle, yalnızca enfekte dokuların yüzeysel katmanlarını tedavi etmek için uygun olmalarıdır. Bu nedenle dokulara derin ışık penetrasyonu için, kırmızıdan kızıl ötesi bölgeye yakın spektral bölge (650-950 nm) üzerindeki biyolojik şeffaflık penceresinde yüksek absorpsiyon katsayılarına sahip CDot'ların geliştirilmesini gerektiren daha uzun dalga boylu ışık kaynakları gereklidir (Dong ve ark.. 2020).

2.7.8.2. Yüzey Modifikasyonları/İşlevselleştirilmeleri

Nanomalzemelerin yüzey işlevselleştirilmesi, genellikle nanomalzemeler ve biyolojik varlıklar arasındaki etkileşimleri etkilemede, hücre alım yolunu belirlemede ve nanomalzemelerin hücre içi trafiğini ve sitotoksitesini etkilemede önemli bir stratejidir (Zhao ve ark.. 2011). CDot'ların çekirdek-kabuk yapıları göz önüne alındığında, yüzey pasivasyonu/işlevselleştirmesi (kabuk) özellikle önemlidir, çünkü CDot'ların çeşitli özelliklerini, özellikle yüzey yük durumunu/karakteristiklerini ve optik özellikleri belirler (Abu Rabe ve ark.. 2019).

CDot'lar yapısal olarak çok yönlüdür ve yüzey yük durumunu/karakteristiklerini ve özellikle optik özellikleri değiştirmek gibi belirli uygulamalar için uyarlanmış özellikler vermek üzere yüzey modifikasyonlarında çok fazla esnekliğe sahiptir. CDot'ların yüzey fonksiyonel grupları ve yükü, bakteriyel hücrelerle etkileşimleri üzerinde kritik etkilere sahip olabilir ve antibakteriyel etkilerini önemli ölçüde etkileyebilir (Dong ve ark.. 2020).

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada Abu Rabe, ve arkadaşları. CDot'ların antibakteriyel etkinliğinde yüzey işlevselleştirmesinin rolünü incelemişler ve yüzey

yükünün, CDot'un bakteriyel yüzeylerle etkileşimlerinde kritik bir rol oynadığını bulmuşlardır ki bu, istenen etkili antibakteriyel aktiviteler için gereklidir (Abu Rabe ve ark.. 2019). Birçok biyolojik varlığın yüzey yükleri olduğundan, nanomalzemelerle etkileşimleri büyük ölçüde aralarındaki elektrostatik kuvvetlere/etkileşimlere bağlıdır, bu nedenle nanomalzemeler üzerindeki yüzey yükleri etkileşimleri etkileyen önemli bir faktör olabilir (Abu Rabe ve ark.. 2019).

Başka bir çalışmada Bing ve arkadaşları, pozitif yüklü için spermin, negatif yüklü için mum isinden türetilen ve nötr için glikoz dahil olmak üzere üç farklı yüzey işlevselliğine sahip CDot sentezlemişler ve E. coli'nin inhibisyonu üzerindeki yüzey etkisini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda, nötr CDot'larla bakteri büyümesi üzerinde hiçbir etki bulamamışlar, ancak hem negatif hem de pozitif yüklü CDotlar kullanıldığında bakteri apoptozu gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir (Bing ve ark.. 2016). Bildirilen sonuçlar, farklı yüzey yüklerine sahip üç CDot tarafından farklı seviyede ROS üretimi gösterdiğine işaret etti. Pozitif yüzey yüküne sahip olan CDot en fazla ROS üretimi gösterirken, ardından negatif yüklü olan CDot gelmekteydi. Bununla birlikte, şaşırtıcı bir şekilde nötr CDot'ların ROS üretmediği bildirildi (Dong ve ark.. 2020).

Popüler bir başka yaklaşımda ise CDot yüzey yükünün manipülasyonuna kavramsal olarak benzer şekilde, bakteriyel hücrelere olan yakınlığı veya etkileşimleri artıracak moleküller ile CDot'ların yüzey modifikasyonu olmuştur (Dong ve ark.. 2020). Örneğin, Li ve arkadaşları, Cdot'a pozitif yüzey yükü sağlamak ve böylece negatif yüklü hücre zarı, DNA, lipidler ve proteinlerle etkileşimi arttırmak için CDot molekülünü spermidin ile modifiye etmişlerdir. Değiştirilmiş CDot'lar, E. coli, S. aureus, B. subtilis ve P. aeruginosa'ya ve ayrıca metisiline dirençli S. aureus (MRSA) bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteler sergilemiştir (Li ve ark.. 2016).

2.7.8.3. Diğer Antimikrobiyal Ajanlar ile Hibrit Modifikasyonları

Birçok kimyasal ajan biyotoksiktir ve normal doku hücrelerini bozar. Yine birçok antibiyotik zayıf çözünürlüğe, düşük biyoyararlanıma sahiptir ve yüksek dozlarda sık kullanım gerektirir. Ayrıca antibiyotiklerin yaygın ve tedbirsiz kullanımı dirençli

bakterilerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu durum, bakteriyel enfeksiyonlardan kaynaklanan morbidite ve mortalitede artışa yol açmaktadır (Miao ve ark.. 2023).

Birkaç on yıl boyunca, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve sodyum hipoklorit ($NaOCl$) gibi oksitleyici antimikrobiyal kimyasallar, çok çeşitli mikroplara karşı evrensel dezenfektanlar olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bazı bakteri türleri, oksitleyici kimyasalların antiseptik etkisine karşı direnç göstermiştir ve bu nedenle, insan dokuları gibi diğer biyolojik sistemlerde büyük hasara neden olabilecek yüksek dozlarda maddelerin kullanılmasını gerektirmektedir (Dong, Awak, ve ark.. 2017).

Soruna bir çözüm olarak, seçilen antimikrobiyal ajanların toksik olmayan foto-aktif edilmiş CDot'larla kombinasyonu, bireysel ajanların minimum dozajında istenen maksimum antibakteriyel aktiviteyi elde etmesini ve böylece antimikrobiyal ajana karşı direnç gelişiminin önüne geçilmesini ayrıca halk sağlığı ve çevre üzerinde antimikrobiyal kimyasalların neden olduğu potansiyel toksisitenin etkili bir şekilde azaltılmasını sağlayabilir (Dong, Awak, ve ark.. 2017).

Antibiyotiklerin aşırı dozunun neden olduğu artan mikrobiyal direnci önlemek için kontrollü ilaç salımı gibi amaçlarla CDots'tan türetilen konjugatların antibiyotiklerle kullanımları da önemlidir (Dong, Awak, ve ark.. 2017). Jijie ve arkadaşları, ampisilin (AMP)'yi yüzey amino parçalarını taşıyan CDot'lara bağlamış ve CDot-AMP "konjugatlarını" görünür ışıqla tetiklenen antibakteriyel ajan haline getirmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda bu konfigürasyonun, AMP'nin stabilitesini serbest AMP'ninkinden daha iyi hale getirdiğini ve hem AMP'nin hem de CDot'ların antibakteriyel özelliklerini koruduğunu gözlemlemişlerdir (Jijie ve ark.. 2018). Yine bir başka çalışmada, CDot'lar, siprofloksasin salınımını düzenlemek için siprofloksasin ile konjuge edilmiş ve konjugatların, hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı geliştirilmiş antimikrobiyal aktivitelerle birlikte serbest siprofloksasine göre biyolojik olarak daha uyumlu olduğu bulunmuştur (Thakur ve ark.. 2014).

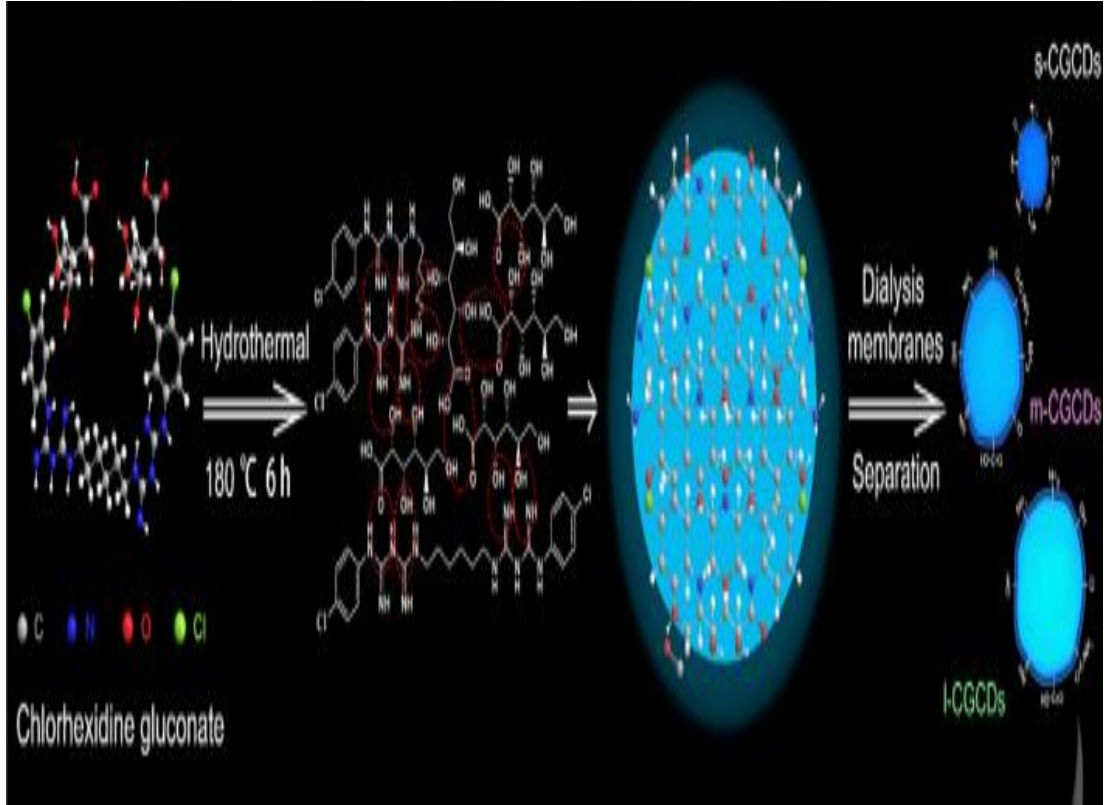
2.7.8.4. Biyouyumlulukları

CDot'lar genellikle toksik değildir ve metalik muadillerinden daha biyouyumlu kabul edilir (Ghosh ve ark.. 2016). Janus ve arkadaşları, biyomedikal uygulamalardaki güvenliklerini ve teşhis ve biyo-görüntüleme potansiyellerini doğrulamak için insan derisi fibroblastlarıyla biyouyumlulukları açısından karbon kuantum dotları değerlendirmiştir. Yaptıkları çalışmada primer hücreler üzerindeki toksik etkinin CDot'ların konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu gözlemlemişlerdir; ancak, hücre sağkalımı hiçbir durumda %80'in altına düşmemiştir. Ayrıca 48 saat boyunca kuantum karbon dotlara maruz kalan fibroblastların morfolojisinde de herhangi bir anormallik saptanmamıştır (Janus, Piątkowski, and Radwan-Pragłowska 2019).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Klorheksidin (CHX) Karbon Nano Dot (CD) Sentezi

Cdot sentezi için , 0,2 g sodyum sitrik asit ve %0,02 Klorheksidim Glukonat içeren 25,0 mL berrak ve şeffaf bir çözelti teflon astarlı paslanmaz çelik otoklava aktarıldı ve 190 C'de 3 saat etüvde ısıtıldı ve çözeltinin rengi yavaş yavaş renksizden sarıya değişti. Otoklav oda sıcaklığına soğutulduktan sonra, sentezlenen CHX-CD solüsyonu büyük partikülleri uzaklaştırmak için 4000 rpm'de 30 dakika santrifüjlendi. Süpernatant, 0.22 mikrometrelik bir zardan süzüldü ve daha sonra 24 saat boyunca ultra saf suya (500 Da, moleküler ağırlık kesme) karşı diyaliz edildi. Elde edilen CHX-CD solüsyonu daha fazla araştırma için 4°C'de saklandı.



Şekil 3.1. s-CHX-CD'lerin, m-CGCD'lerin ve l-CGCD'lerin hazırlanması için kullanılan stratejinin şematik gösterimi (Sun ve ark.. 2021)

3.2. CHX-CD Bağlı Kitosan Nanopartikül (CS-NP) Sentezi

Kitosan nanopartiküllerin bottom-up sentezi, daha önce Calvo ve arkadaşları (Calvo ve ark.. 1997) tarafından tarif edildiği gibi iyonik jelleşme yöntemi kullanılarak ancak üzerinde küçük modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirildi. Kitosan nanoparçacıkları, iyonotropik jelleşme yönteminde bir iyonik çapraz bağlayıcı kullanılarak tasarlandı. Genel olarak, iyonik çapraz bağlayıcı olarak tripolifosfat (TPP) kullanıldı.

Kısaca, kitosanın tripolyphosphate (TPP)'a farklı kütle oranları, moleküler ağırlık, pH ve hem TPP hem de kitosanın konsantrasyonları değerlendirildi. %0.4 w/v kitosan CS konsantrasyonları, %1 v/v asetik asit çözeltisi (pH 2.8) içinde ve 1 M NaOH kullanılarak ayarlanan pH 4.6 veya 5.5 çözeltisi içinde çözüldü.

Bu çözeltilere daha sonra CHX-CD solüsyonu eşit hacimde eklenerek manyetik bir karıştırıcı cihazda 700 rpm'de berrak homojen çözeltiler oluşana kadar karıştırıldı ve ardından 1 saat karışmaya bırakıldı.

Ayrı olarak, steril deiyonize su kullanılarak %0.1 w/v TPP çözeltisi hazırlandı ve TPP'nin çözelti içinde tamamen çözünmesini sağlamak için 700 rpm'de 1 saat karıştırıldı.

TPP (%0.1) solüsyonu, programlanabilir bir peristaltik pompa kullanılarak, 0,1 ml/min oranında, 700 rpm'de sabit karıştırma altında 3:1'lik bir nihai CS:TPP kütle oranına kadar kitosan (düşük molekül ağırlıklı ya da orta molekül ağırlıklı; pH 2.8, 4.6 ya da 5.5) solüsyonuna eklendi.

Kitosanın TPP ile eşit hacimde çapraz bağlanması manyetik karıştırıcı altında 700 rpm'de gerçekleştirildi. Nihai formülasyon, 10 dakika 10.000 rpm'de santrifüjlemeye tabi tutuldu ve pelet, ultra saf su içinde yeniden süspanse edildi, ardından 4 °C'de 100 saniye boyunca %80 pulsör oranında ultra sonikasyon yapıldı. Santrifüjleme ve ardından ultra-sonikasyon üç kez tekrarlandı ve çöken Klorheksidin Karbon Dot Bağlı Kitosan Nanopartikül (CHX-CD/CS-NP) liyofilize edildi ve daha fazla analiz için 4 °C'de saklandı.

3.3. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

3.3.1. UV-vis Spektrum Analizi

UV-görünür spektrumlar, NP oluşumunun doğrulanması için bir Shimadzu UV-Vis1800 Spektrofotometre kullanılarak kaydedildi.

Önce CHX-CD ardından da CHX-CD/CS parçacık boyutu çeşitliliğinin optik performansta (yani PL fenomeni) bir değişikliğe yol açacağı varsayıldı. Bu olasılığı test etmek için, ilk olarak, enerji bandında değişen elektron geçiş özelliklerini belirlemek için seçilen algılama aracı olarak UV-Vis absorpsiyon spektrumlarını kullanıldı.

3.3.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

CHX-CD bağlı CS nanopartiküllerin elemental bileşimi, OxfordInstruments X-Max 20 mm2EDS detektörlü Carl Zeiss SMT'den bir Auriga taramalı elektron mikroskobu (SEM) cihazı ve enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS) ile incelendi.

3.3.3. Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi

CHX-CD/CS nanopartikülün boyutu ve morfolojisi transmisyon elektron mikroskobu (TEM) (Philips CM200 EFG, FEI Company, Eindhoven, Hollanda) ile gözlemlendi.

3.3.4. FT-IR Analizi

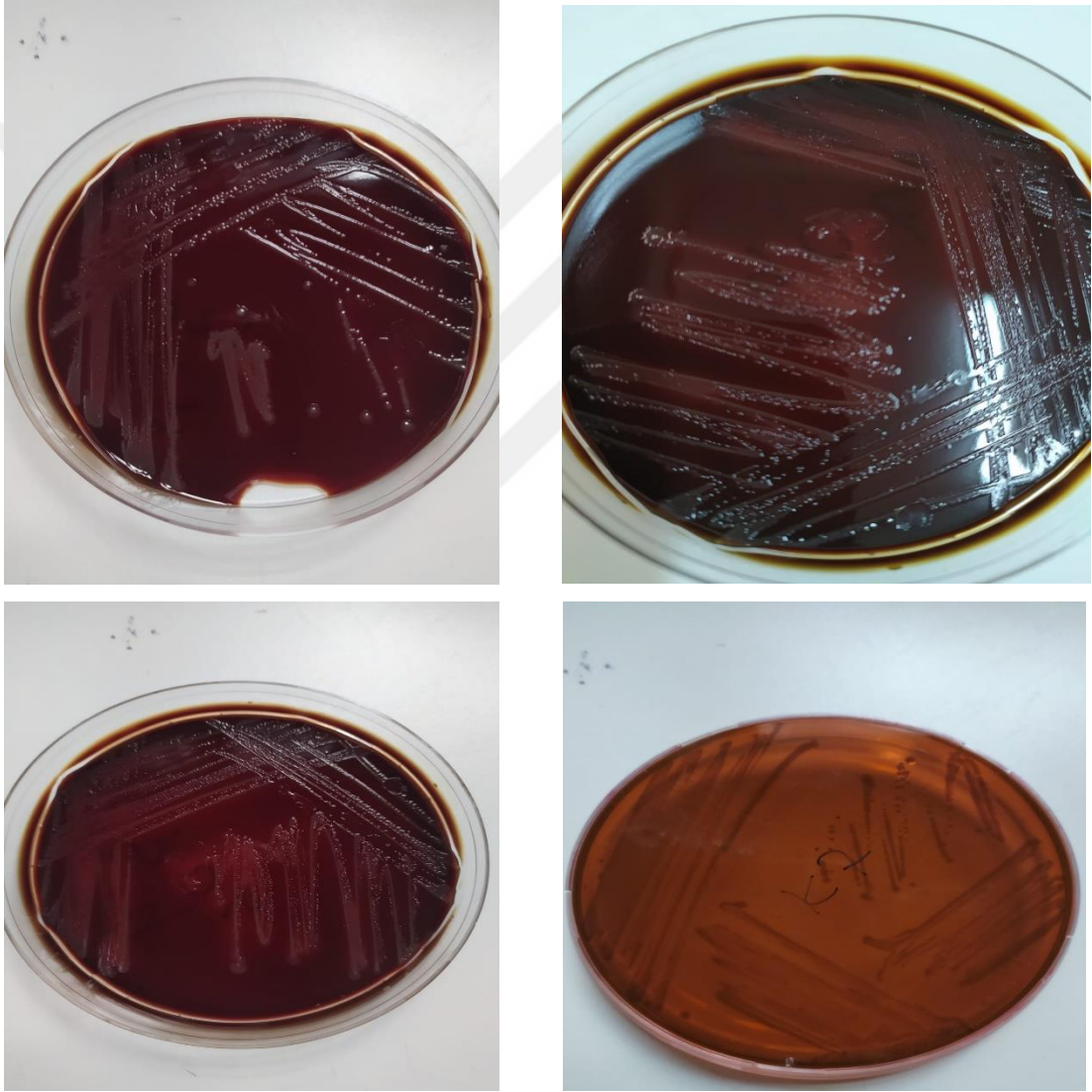
FT-IR spektrometresi, kimyasal bağlanma bilgisini belirlemek CHX-CD/CS nanopartikülün fonksiyonel gruplarını saptamak için kullanıldı.

3.4. CHX-CD/CS Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etkinliğinin İncelenmesi

Bu çalışmada, maddelerin dört farklı standart bakteriye karşı antibakteriyel aktivitelerinin alamar mavisi eklenmiş sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle (CLSI) minimal inhibitör konsantrasyonlarının (MİK) değerlendirilmesi amaçlandı.

3.4.1. Standart Bakteri İzolatlarının Hazırlanması

Streptococcus salivarius ATCC 13419, *Streptococcus mutants* ATCC 35668: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* DSM 111263, *Prevotella intermedia* DMS 20706 izolatları kullanıldı. Standart bakteri izolatları derin dondurucudan çıkartılarak oda ısısında bekletilerek çözüldü. Kanlı agar (Merck) ve Eosin Methylene Blue Agar (EMB, Merck) besiyerleri kullanılarak 37°C’de bir gece inkübe edilerek bakteriler canlandırıldı ve saflık kontrolleri yapıldı.



Şekil 3.2. Kanlı agar (Merck) ve Eosin Methylene Blue Agar (EMB, Merck) besiyerlerine ekimi gerçekleştirilip çoğaltılan bakteriler

3.4.2. Antibakteriyel Aktivite Test Yöntemi

Maddelerin antibakteriyel aktivite testi, Muller–Hinton Broth (MHB, Merck,) sıvı besiyeri kullanılarak çift kat seri sulandırım mikrodilüsyon sıvı test metodu (Broth Mikrodilüsyon Yöntemi) kullanılarak yapıldı.

Kanlı agarda üremiş olan bakteri kolonilerinden öze yardımıyla alınarak içerisinde 2 ml MHB besiyeri bulunan steril cam tüplere konuldu. Bu kültür tüpleri inkübatörde 37°C’de bir gece bekletilerek üremesi sağlandı. Bir gece bekletilmiş standart kültür izolatları MHB besiyeri eklenerek her ml’inde 10⁷-10⁸ kob/ml (koloni oluşturan birim) (CFU/ml) arasında olacak şekilde McFarland 0,5 bulanıklığı standardına göre ayarlanarak hazırlandı.

Maddelerin stok solüsyonu 0.45 µm çaplı steril membran filtreden geçirilerek süzüldü ve steril bir tüp içerisinde toplanarak sterilizasyonu sağlandı.

3.4.3. Antimikrobiyal Aktiviteye Bağlı MİK Değerinin Belirlenmesi

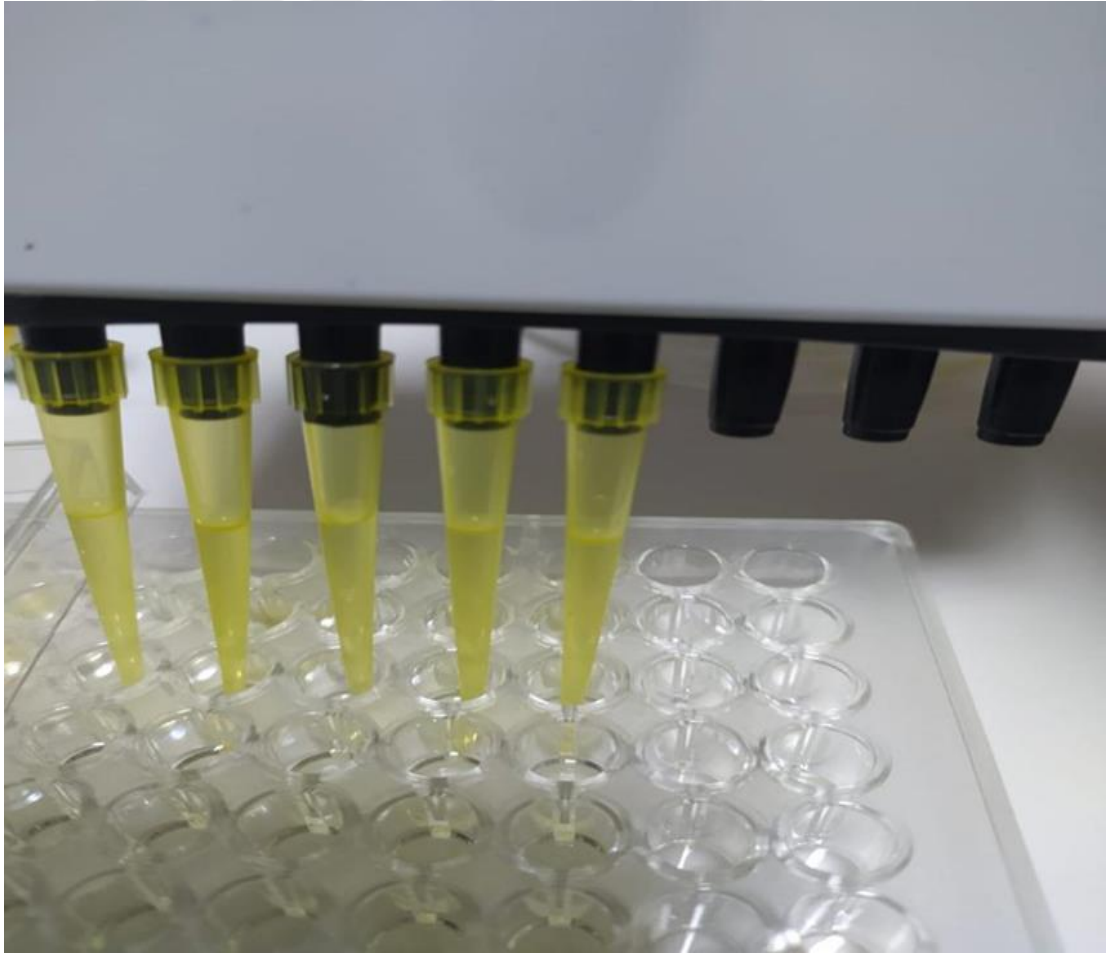
Antibakteriyel aktivite için maddenin minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) belirleme işlemi düz tabanlı 96 kuyucuklu steril mikropleytlar kullanılarak yapıldı.



Şekil 3.3. Steril kuyucuklu mikropleyt

Test edilecek her bir bakteri izolatı için mikropleyitin 12 kuyucuk içeren bir sırası kullanıldı. Öncelikle bütün kuyucuklara steril 100 µl MHB besiyeri eklendi ve ilk

kuyucuğa test edilecek maddenin stok solüsyonundan 100 µl alınarak en yüksek konsantrasyonu 5000 µg/ml olacak şekilde eklenerek pipetle karıştırıldı. Sonra bu ilk kuyucuktan 100 µl alınarak 2. kuyucuğa aktarılarak bileşiğin konsantrasyonu 2500 µg/ml'ye, yani yarıya düşürülerek indirildi ve bu kuyucuktan aynı şekilde 100 µl alınarak 3. kuyucuğa aktarıldı. Bu şekilde bu işlem tekrarlanarak 10. kuyucuğa kadar seri sulandırım yapılarak bileşiğin konsantrasyonu son kuyucukta 9,7 µg/ml olacak şekilde ayarlandı. Negatif kontrol olarak kullanılan 11. kuyucuğa bileşiğin stok solüsyonundan 100 µl ilave edildi. Pozitif kontrol olarak kullanılan 12. kuyucuğa ise bileşik eklenmedi. Kuyucuklarda seri sulandırımı yapılmış olan bileşiğin üzerine daha önce hazırlanmış olan standart bakteri izolatından negatif kontrol kuyucuğu hariç hepsine 100 µl eklendi. Bu işlem test edilecek tüm farklı bakteri izolatı için aynı şekilde yapıldı.



Şekil 3.4. Bileşiklerin kuyucuklara eklenmesi

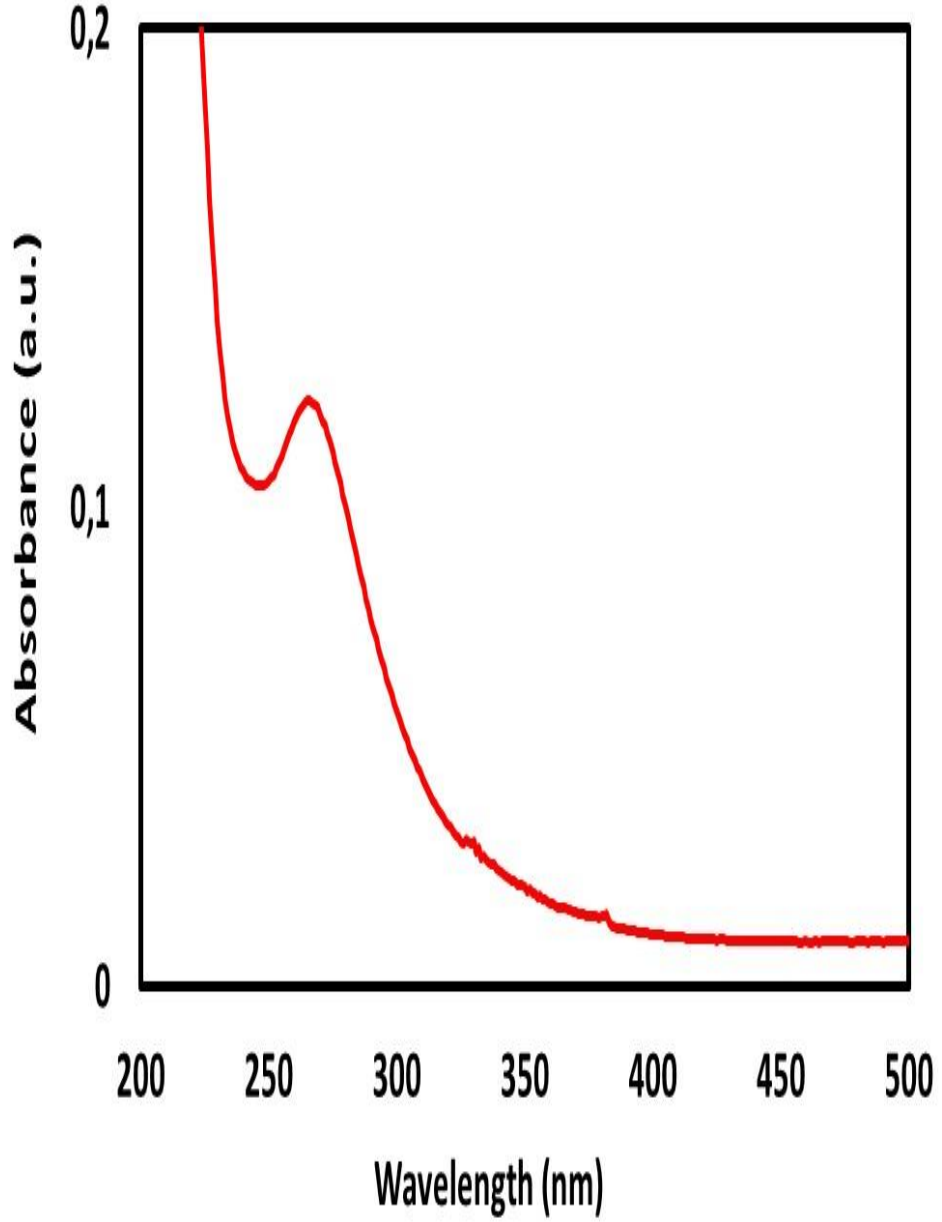
Mikropleytlerin üzeri steril kapakları ile kapatılarak, kontaminasyonu engellemek için kenarları parafilm ile sarıldı. Pleytler 37°C’de inübatörde 20 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda kapaklar açılarak tüm kuyucukların üzerine 20 µl steril alamar mavisi (Sigma-Aldrich, USA) stok solüsyonundan eklendi. Tekrar inkübatörde 4 saat inkübe edildi. Son inkübasyon sonrasında kuyucuktaki karışımın pembe renge dönmesi pozitif bakteriyel üreme olarak yorumlanırken, mavi rengin değişmeden kalması bakteri üremesinin olmadığı şeklinde yorumlanmıştır. MİK değeri maviden pembeye dönüşmeyen en son kuyucuk olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.5. CHX-CD/CS’ın, patojenler üzerindeki MİK değerini veren tüp dilüsyon yöntemi

4. BULGULAR

4.1. Klorheksidin Karbon Nanodot UV-vis Spektrum Değerlendirmesi

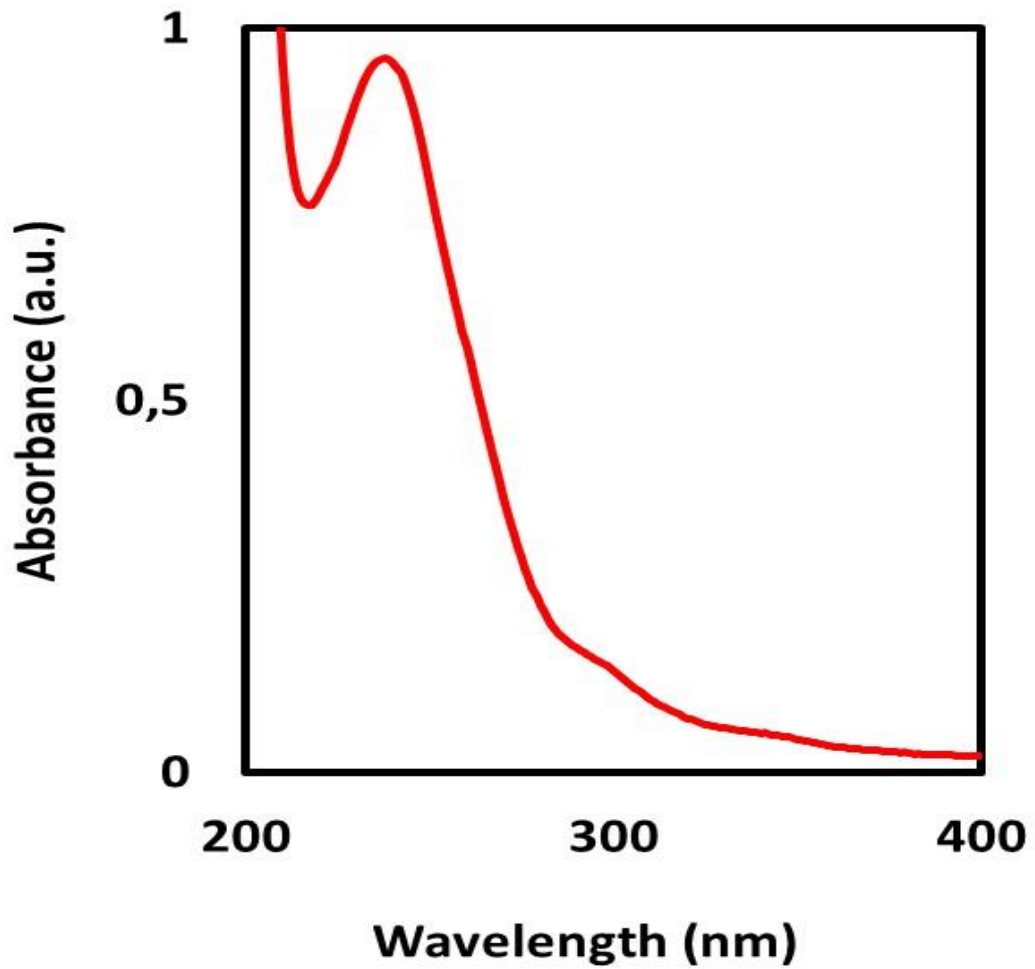


Şekil.4.1. Klorheksidin Karbon Nanodot UV-vis Spektrumu

CHX-CD'nin parçacık boyutu çeşitliliğinin optik performansta bir değişikliğe yol açacağını varsaydık. Bu olasılığı test etmek için, Şekil' 4.1 de gösterildiği gibi, enerji bandında değişen elektron geçiş özelliklerini belirlemek için nanomalzemenin

karakterizasyonunda belirleyici bir yöntem olarak ilk önce UV-Vis absorpsiyon spektrumlarını kullandık. ~ 268 nm'deki keskin spektrum zirvesi, karbon çekirdeği ile ilgili aromatik klorheksidine özgü sp^2 alanlarının karakteristik $\pi-\pi^*$ geçişi olarak tespit edilmiştir.

4.2. Klorheksidin Karbon Nanodot Bağlı Kitosan Nanopartiküllerin UV-vis Spektrumu



Şekil 4.2. Klorheksidin Karbon Nanodot Bağlı Kitosan Nanopartikül UV-vis Spektrumu

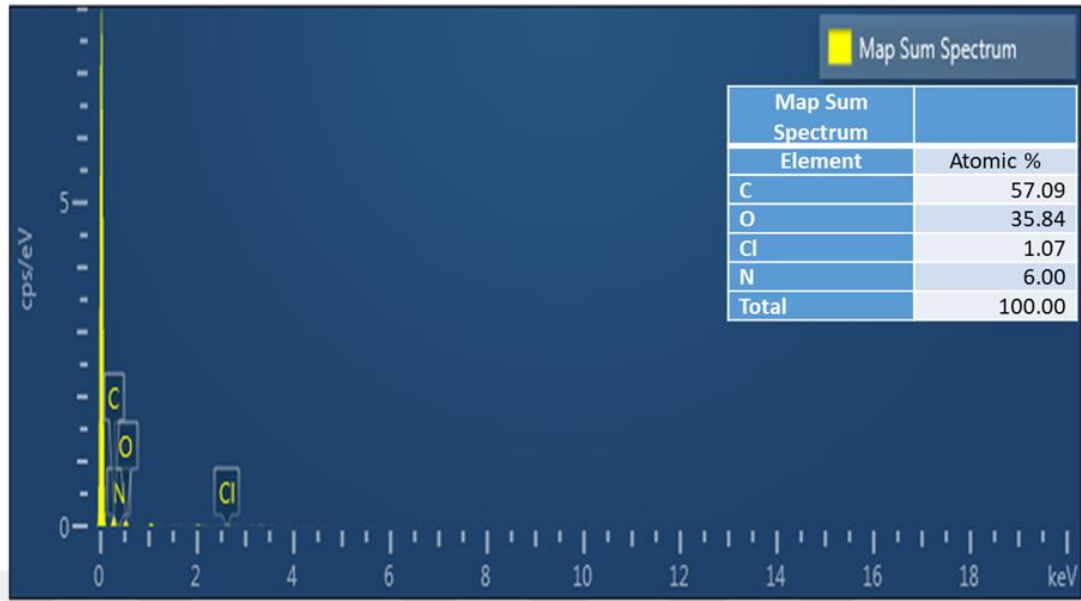
Biyopolimer malzemelerin optik özellikleri, UV Görünür spektroskopi ile analiz edildi ve Şekil 4.2'de gösterildi. CHX-CD/CS-NP'nin UV-Görünür spektrumu,

CNP'lere (keskin yoğunluk) kıyasla geniş bir soğurma bandı yoğunluğu elde etti ve soğurma tepe dalga boyu 230, 300 ve 345 nm UV bölgelerinde bulunmaktadır. Ancak CNP'ler söz konusu olduğunda, NP'lerin oluşumundan dolayı klorheksidin karbon nanodotlardan daha yüksek bir yoğunluk seviyesi gözlemlendi. İlk olarak sentezlenen CHX-CD UV-vis spektrum sonucuna bakıldığında 268 nm dalga boyunda pik verirken, CHX-CD/CS-NP sentezi sonucunda elde edilen spektrumlara baktığımızda karakteristik olarak bilinen spektrumlarda shift meydana geldiği görülmektedir. Özellikle kitosan nanopartiküllerin karakteristik UV-vis spektrumları 330 ve 480 nm olarak belirlenmiştir ama sentezlemiş olduğumuz nanomalzemede 300 ve 345 nm dalga boyların shift yaptığı görülmüştür. Bu sonuçlar sentezlenen malzemenin iki malzemenin karışımı olan tek dağılımlı bir bütün malzeme olduğunu göstermektedir.

4.3. CHX-CDot/CS Nanopartiküllerin SEM Analizi

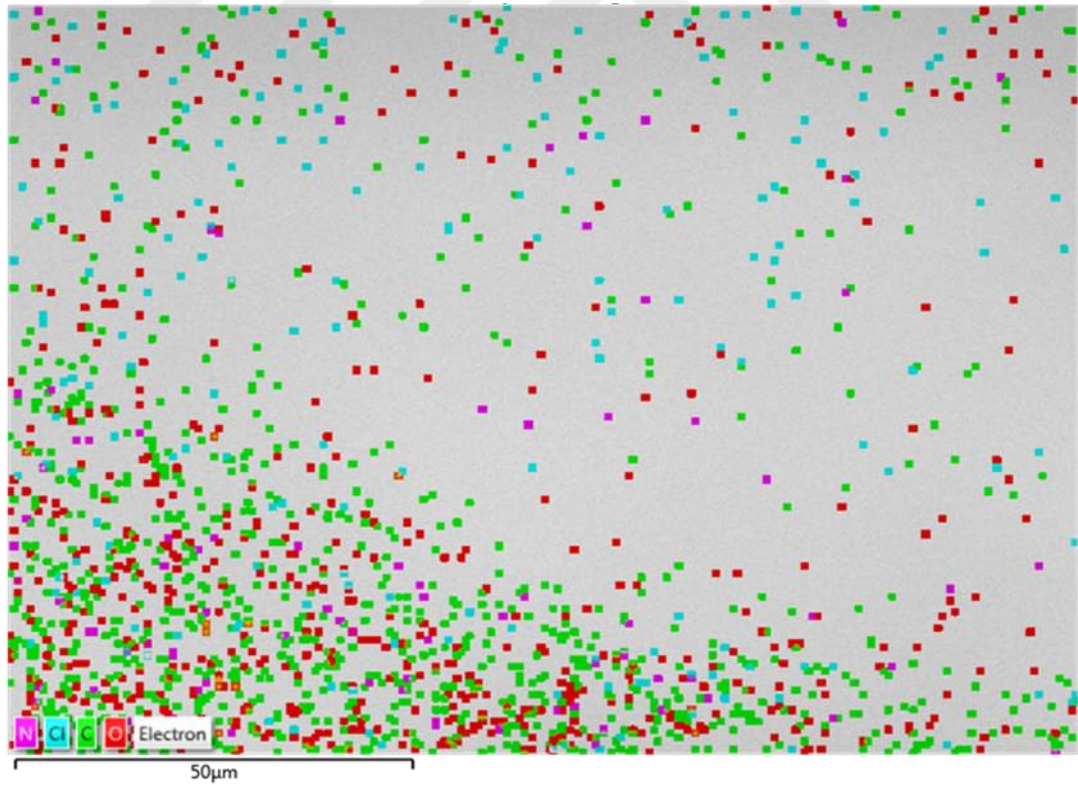
4.3.1. SEM-EDS/EDX Element Analizi

Şekil 4.1. CHX-CD/CS nanopartikül numunesi için bir kırılma yüzeyinin EDX haritalarını ve spektrumlarını göstermektedir. EDX element analizi, sentezlenen nanopartiküllerin içeriğinde bulunan atomların miktarları sırasıyla %57,09 karbon, % 35,84 O, % 6 N % 1,07 Cl olarak tespit edilmiştir. Yüksek karbon (C) içeriği, kitosan, sitrik asit varlığını tanımlamaktadır. Sentezlen nanomalzemenin klorheksidin içermesinden dolayı yüksek C oranı elde edilmiştir. Sonuçlara baktığımızda düşük oranlarda N ve Cl içerdiği görülmektedir. Bu da sentezlemiş olduğumuz nanopartiküllerin yapısında bulunan kitosan ve klorheksidin bileşiklerinden kaynaklanmaktadır. Kitosan nanopartiküllerin yapısı gözönünde bulundurulduğunda içeriğinde bulunan amin gruplarından dolayı nanomalzemenin yüzeyinde düşük oranda N atomunun varlığını göstermiştir. Yine CHX-CD yapısında bulunan klor iyonlarının varlığında EDX spektrum ile doğrulamış olduk.

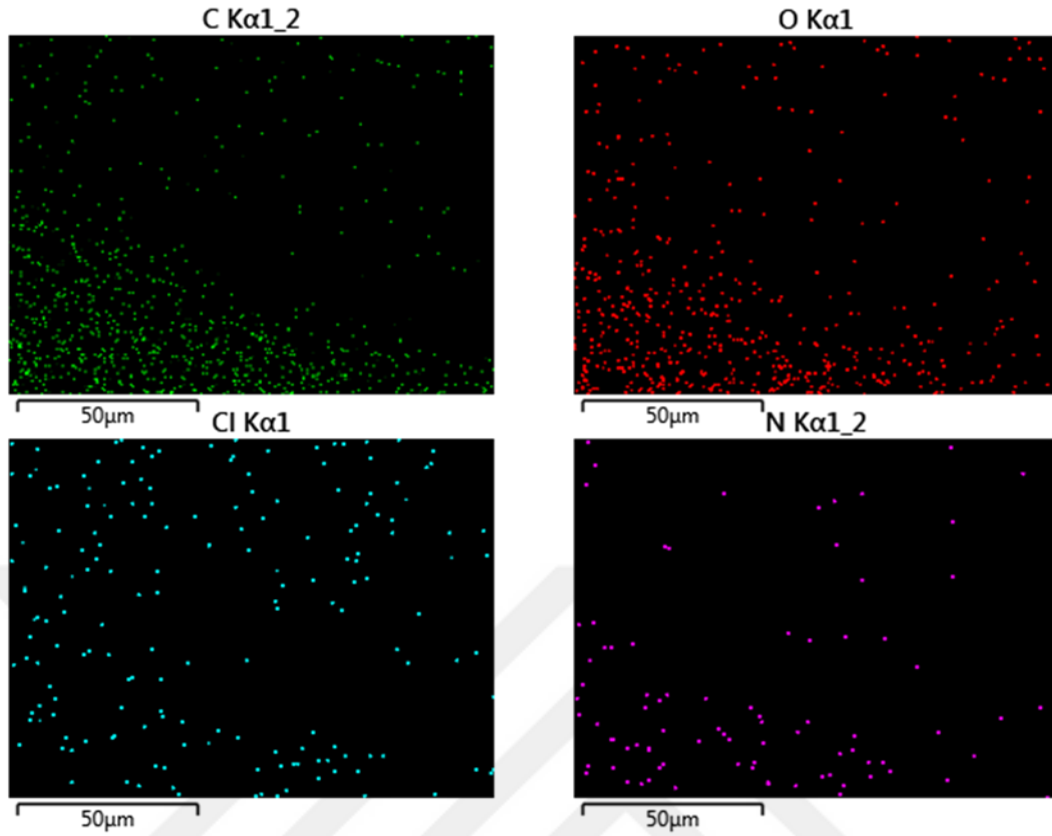


Tablo 4.1. CHX-CD yüklü CS NP'nin SEM-EDS/EDX element analizi

4.3.2. SEM Elemental Haritalandırma



Resim4.3. CHX-CD/CS nanopartiküllerinin toplam SEM elemental haritalandırılması

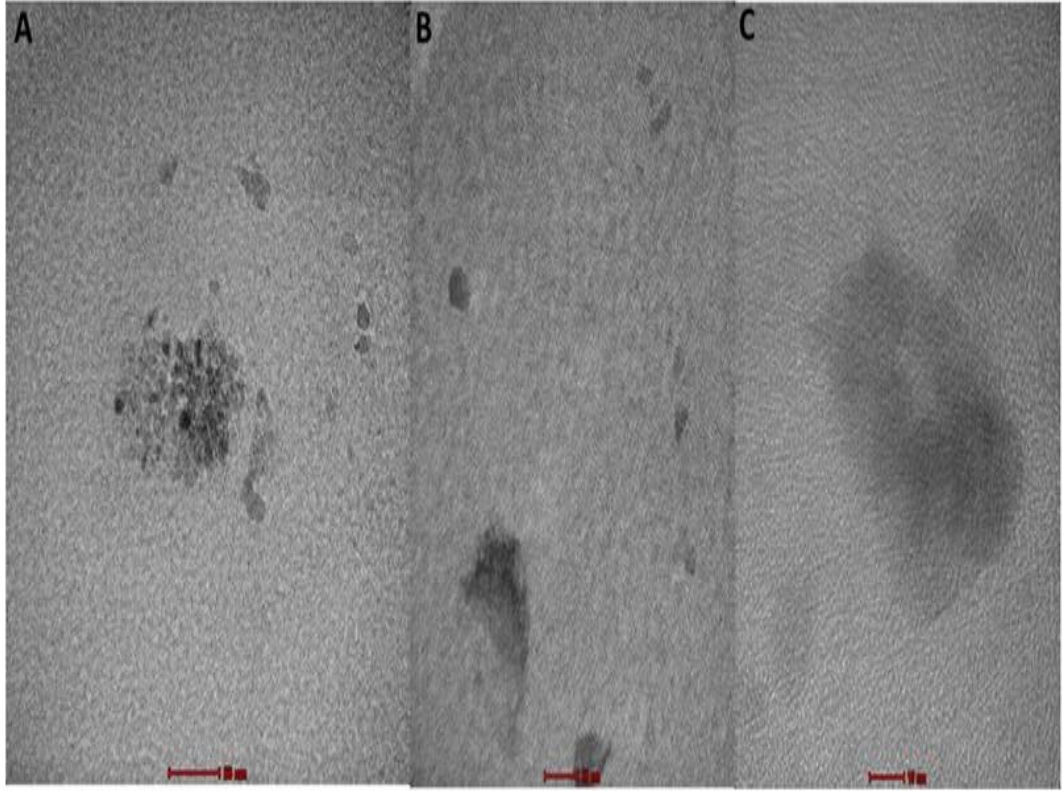


Şekil 4.4. CHX-CD/CS nanopartiküllerin içeriğindeki atomların SEM haritalandırma görüntüleri

Şekiller, malzemedeki elementlerin dağılımını temsil eden SEM görüntülerini ve EDX eşlemelerini göstermektedir. Yukarıda EDX spektrumunda atomların ağırlıkça yüzdeleri hakkında gerekli bilgiler verildi. Şekil 4.4 de sentezlenen nanomalzemenin yüzeyinde bulunan C, O gibi atomların haritalandırması verilmiştir. Deney aşamasında bir grit üzerine 1 yada 2 damla nanopartikül eklenir, daha sonra kuruyan kısım SEM cihazı yardımı ile haritalandırma işlemi yapılır. Burada eklenen nanomalzeme sıvı olduğu için damlatılan yüzeyin bir kısmında agregasyon oluşturabilir. Ama sonuç olarak malzemenin bulunduğu bölgenin haritalandırmasını doğru bir şekilde gösterir. Bizim yapmış olduğumuz deneyde nanomalzemenin dağılımını gösteren EDX haritalandırma yöntemi ile C ve O nin daha yoğun olarak bir dağılım gösterdiğini aksine N ve Cl dağılımının daha seyrek ve belli yerlerde toplandığı görülmektedir. Bu tamamen nanopartiküllerin içeriğindeki malzemelerin kimyasal yapısından ve bağlanma çeşitlerinden kaynaklanmaktadır.

4.4. CHX-CDot/CS Nanopartiküllerin Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi

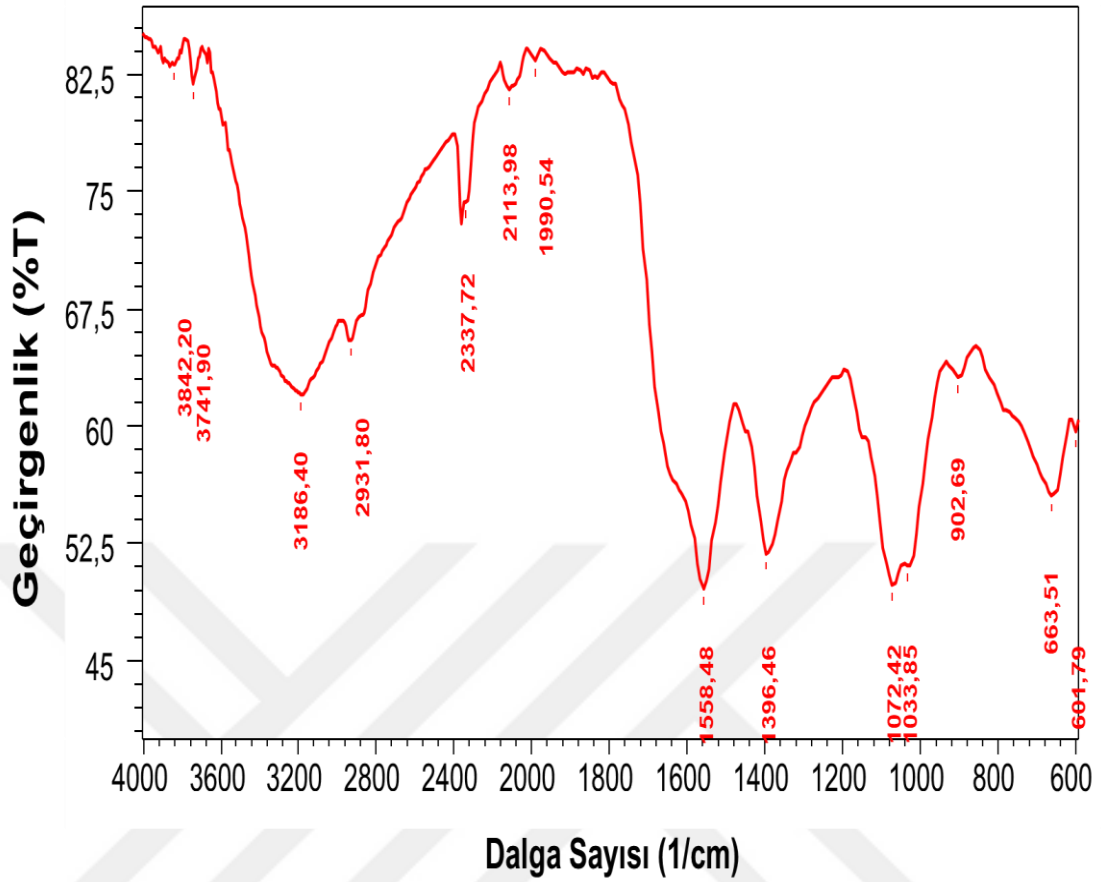
Transmisyon elektron mikroskobundan (TEM) yapılan gözlem, bize parçacık şekli ve parçacık boyutunun morfolojik yapısının belirlenmesi hakkında bilgi vermektedir. Klorheksidin karbon nanodotlar ile modifiye edilmiş kitosan nanopartiküllerin tipik TEM mikro grafisi Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Mevcut çalışmada, TEM görüntüleri, CHX-CD/CS nanoparçacıklarının fiziksel toplanmasını (agregasyonu) göstermiştir. Elektron mikroskobuna göre, esas olarak tek dağılmış CHX-CD/CS nanopartiküllerinin küresel yapıda oldukları ve çaplarının 20-30 nm arasında olduğu görülmüştür. Sonuç olarak sentezlenen nanopartiküllerin nano boyutta başarılı bir şekilde sentezlendiği doğrulanmıştır.



Şekil 4.5. CHX-CD/CS nanopartiküllerin TEM görüntüsü

4.5. CHX-CD/CS Nanopartikül FTIR İncelemesi

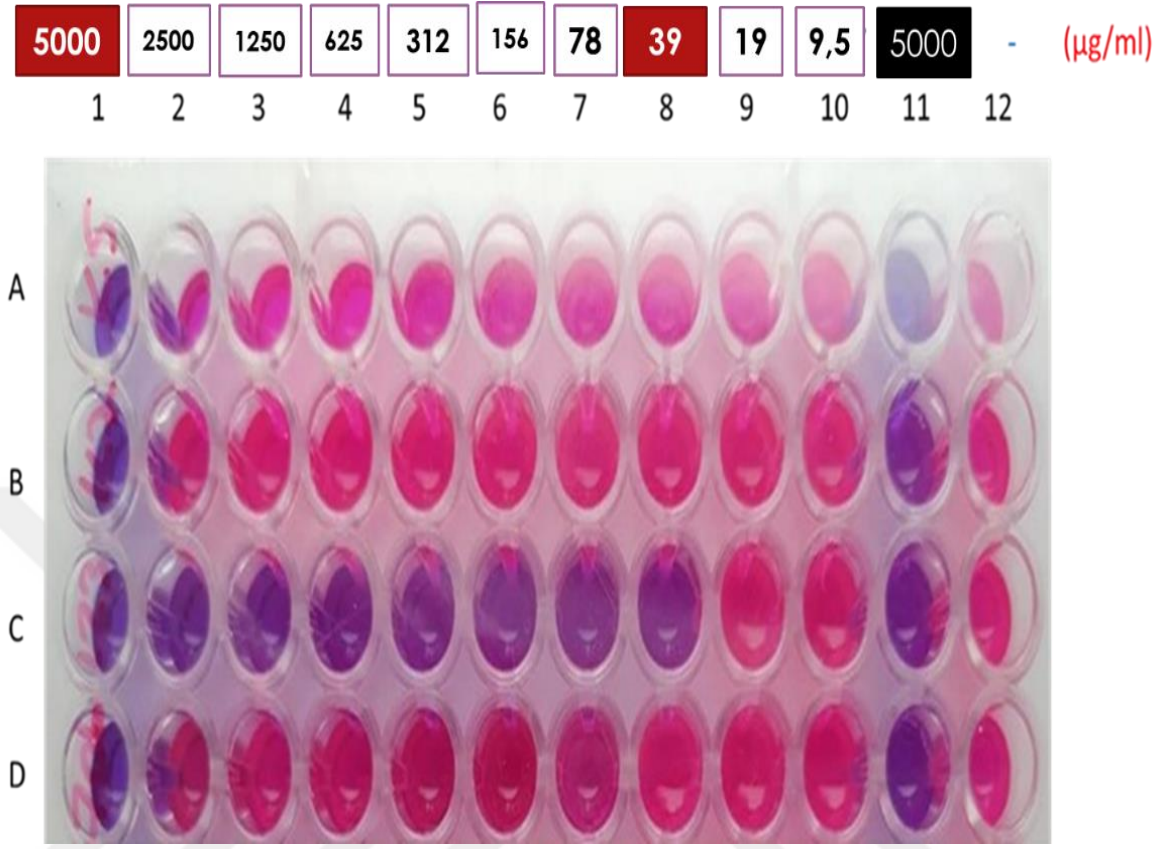
FT-IR spektrometresi, kimyasal bağlanma bilgisini belirlemek CHX-CD/CS nanopartikülün fonksiyonel gruplarını saptamak için kullanıldı.



Şekil 4.6. CHX-CD yüklü CS NP'nin FTIR spektrumu

Sentezlenen klorheksidin karbon nanodotlar ile modifiye edilmiş olan kitosan nanopartiküllerin fonksiyonel gruplarını belirlemek için FT-IR analizi yapıldı (Şekil 4.5). 3186 cm^{-1} 'deki geniş tepe noktası, amin ve hidroksil gruplarının yanı sıra CS zincirleri üzerindeki gerilme titreşimi CHX amin grupları (NH, OH) ile ilgilidir. 2931 cm^{-1} 'deki sinyal, alifatik karbon-hidrojen bağı gerilmesinin (CH) titreşimlerine bağlanır. 1558 cm^{-1} 'deki bir pik, karbon-azot çift bağ germe titreşimi (C = N) ile ilgilidir, absorpsiyon 1396 cm^{-1} , karbon-azot bağı germe CS ve CHX yapısı ile ilgilidir. 1072 cm^{-1} 'de gözlenen pik, CS'deki karbon-oksijen bağının (COC) bükülme titreşimleriyle ilgilidir. Ayrıca, CN'nin FTIR spektrumunda görünen 1033 cm^{-1} 'deki zirve, fosfat gruplarından P=O gerilme titreşiminin karakteristiğini gösterir. TPP ile muamele edilmiş kitosan nanoparçacıklarının oluşumunun benzer sonuçları önceki çalışmada rapor edilmiştir.

4.6. CHX-CD/CS Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etkinlik Analizi



Şekil 4.7. CHX-CD/CS'in, patojenler üzerindeki MİK değerini veren tüp dilüsyon testi sonucu

A	Streptococcus Salivarius
B	Streptococcus Mutans
C	Aggregatibacter Actinomycetemcomitans
D	<u>Prevotella Intermedia</u>

Tablo 4.2. Deneye tabi tutulan bakteriler

Yaptığımız deneyde MHB besiyeri solüsyonu, mikroplatelerde bütün oyuntulara yeleştirilmiştir. Ardından ilgili bakteriler, 11 nolu negatif kontrol grubu oyuntusu hariç diğer oyuntuların hepsine ekilmiştir. Son olarak CHX-CD/CS nanopartikül solüsyonu, 12 numaralı pozitif kontrol grubu oyuntusu hariç diğer bütün oyuntulara, Broth Mikrodilüsyon Yöntemine uygun olarak kademeli olarak (her defasında 1/2 oranında) azaltılarak uygulanmıştır.

Elde edilen gözlemler ışığında;

Streptococcus Salivarius, *Streptococcus Mutans* ve *Prevotella İntermedia* bakterilerinin bulunduğu oyuntu sıralarında, oyuntulara uygulanan CHX-CD/CS nanopartikül solüsyon konsantrasyonları 10. oyuntudan 1. oyuntuya doğru düzenli olarak artmış olmasına rağmen, ancak 1. oyuntuda MİK değerine ulaşılabilmiştir.

Bu üç bakteri için, bizim sentezlemiş olduğumuz CHX-CD/CS nanopartiküler antibakteriyel ajanın MİK değeri 5000 µg/ml olarak bulunmuştur.

Aggregatibacter Actinomyhetemcomitans (A.a) bakterisinin bulunduğu 'C' sırasında ise MİK değeri 39 µg/ml olarak saptanmıştır.

Elde edilen bulgular, nano düzeyde sentezlemiş olduğumuz terapötik ajanımızın A.a bakterisine karşı oldukça etkili olduğunu göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Periodontal hastalık, insanların yaşam standartlarını etkileyen dünya çapında bir sağlık sorunudur. Periodontitisin prevalansını azaltmanın en iyi yolu ise özellikle bakteri plağı oluşumunu engellemek ya da mevcut plak ile etkili bir mücadele vermektir (Baranov ve ark.. 2021).

Plak biyofilmi (çürük, periodontitis ve diğer diş hastalıklarının ana nedeni), patojenik mikroorganizmaları, harici ilaç ajanlarından koruyarak ve onların konak savunma mekanizmalarından kaçmalarını sağlayarak enfeksiyona neden olan karmaşık bir bakteri topluluğudur (Song and Ge 2019).

Periodontal ceplerde 500'den fazla mikrobiyal tür tanımlanmıştır (How, Song, and Chan 2016). Bu patojenlerin çoğu gram negatif ve anaerobiktir, ancak gram pozitif, fakültatif kok ve çubuk türleri de bulunur (Khattri ve ark.. 2020). Biofilm içindeki hangi türlerin özellikle patolojik olduğu ve hastalık başlangıcına neden olabileceği konusundaki tartışma yıllarca sürmüştür ve henüz tam olarak çözülememiştir (Kinane, Stathopoulou, and Papapanou 2017). Varsayılan patojenler arasında Gram-negatif anaerobik bakteriler, spiroketler ve hatta virüsler bulunur, ancak tek bir patojenin tek başına nedensel olmaması muhtemeldir. Bunun yerine disbiyozun (mikrobik biyofilmin dengesizliği) kendisinin patojenik 'birim' olması üzerinde durulmaktadır (Feres ve ark.. 2016). Mikrobiyal biyofilmin varlığı da periodontal hastalığın patogenezi için tek başına yeterli olmayabilir. Hastalık, mikrobiyal biyofilm ile konakçı arasındaki simbiyotik dengenin disbiyozla kayması ile ortaya çıkar (Kinane and Hajishengallis 2009).

Yine de biofilm içindeki türler arasında en önemlileri *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium* ve *Prevotella intermedia* olarak görülür (Khattri ve ark.. 2020). Prospektif kohort çalışmalarında şiddetli periodontal hastalık formları, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'ın spesifik klonları tarafından kolonizasyon ile ilişkilendirilmiştir (Haubek ve ark.. 2008). *Porphyromonas gingivalis* dahil diğer türler de şiddetli veya ilerleyici periodontitiste etken olarak görülmüştür (Amaliya ve ark.. 2015).

Biofilm içinde patojen özellik göstermeyip aksine simbiyotik duruma katkı sağlayan bakteriler de mevcuttur. Örneğin *Streptococcus salivarius* (S. Salivarius), konakçının yaşamı boyunca insan ağız boşluğunda kolonize olan ve genellikle sağlıklı ilişkilendirilen Gram pozitif probiyotik bir bakteridir (Burton ve ark.. 2011).

Mekanik debridman, dental plak biyofilmini ortadan kaldırmayı amaçlayan, cerrahi olmayan periodontal tedavinin temel dayanağıdır. Bununla birlikte, subgingival bölge içindeki tüm patojenik bakterileri enstrümantasyon yoluyla ortadan kaldırmak mümkün değildir (Deas ve ark.. 2016). Bundan dolayı mekanik tedavi sonrası patolojik sahada yaşamaya devam eden subgingival mikroorganizmaları elimine etmek için antimikrobiyaller kullanılabilir (Mombelli 2012).

Literatürde periodontitisin cerrahi olmayan tedavisi için reçete edilen çeşitli ilaçlar bildirilmiştir. Bu antimikrobiyallerin bir kısmı sistemik olarak uygulanırken bir kısmı da lokal olarak uygulanır.

Periodontitis tedavisinde sistemik antibiyotik kullanımı oldukça yaygındır. Sistemik olarak uygulanan antibiyotikler, serum yoluyla periodontal dokulara ulaşır ve mekanik aletlerin erişemeyeceği mikroorganizmaları hedef alır (Slots and Ting 2002). Sistemik antibiyotiklerin lokal olarak uygulanan antibiyotiklere göre dezavantajları vardır. Bunlar; ilaç yan etki reaksiyonları, bakteriyel direnç gelişimi, belirsiz hasta uyumu ve subgingival bölgelerde ilacın daha düşük konsantrasyonudur (Feres ve ark.. 2016). Bu nedenle lokal ilaç salınımı yapan tedaviler üzerinde durulmaktadır.

Antimikrobiyal ajanların veya antibiyotiklerin lokal salınımı normalde lifler, jeller, çipler, yongalar veya mikroküreler kullanılarak gerçekleştirilir (Rams and Slots 1996). Bu kullanımın en büyük avantajı, sistemik olarak reçete edilen ilaçların yan etkilerinin önlenmesi ve ilaçlara karşı bakteriyel direnç gelişme olasılığının azalmasıdır. Bu nedenle, çok sayıda çalışma, periodontal tedaviye ek olarak lokal olarak verilen antiseptiklerin ve antibiyotiklerin etkilerini değerlendirmiştir (Feres ve ark.. 2015). Yardımcı lokal uygulamalı ilaçlar arasında minosiklin ve doksisisiklin gibi antibiyotikler ve klorheksidin gibi antimikrobiyaller vardır ve lokalize tedavi için bir toz, jel, çip veya fiber dağıtım sistemi ile doğrudan periodontal cebin içine uygulanırlar

(Kinane, Stathopoulou, and Papapanou 2017). Lokal ilaç dağıtım yöntemlerine yönelik çalışmaların sistematik bir incelemesi ve meta-analizi, minosiklin jeli ve mikroküreleri, klorheksidin çipi ve doksisisiklin jelinin faydalarını desteklemek için orta düzeyde kanıtın mevcut olduğu sonucuna varmıştır (Hanes and Purvis 2003).

Lokal antimikrobiyal ajan uygulamasının dezavantajları da vardır. Cep içine yerleştirilen ajan taşıyıcı aparatların mevcut yerlerinden çıkması, cep içinde değişen pH vb değişikliklerinin lokal antimikrobiyal ajanın etkinliğini bozması, dental biyofilmin antimikrobiyal ajanın tam olarak etki göstermesini engellemesi bunlardan bazılarıdır.

Bir başka yardımcı medikaman ise Klorheksidin (CHX) gargaraıdır. Klorheksidin (CHX), 1940'larda geliştirilmiş bir katyonik bisbiguaniddir. CHX'in katyonik özellikleri, bakteriler, hücre dışı polisakkaritler ve glikoproteinler dahil olmak üzere biyofilm içindeki negatif yüklü bölgelere bir bağ ile sonuçlanır. Bu durum, bakteri hücresinin yüzeyini oluşturan fosfat içeren bileşenlere spesifik ve güçlü bir adezyon sağlar. Pasif difüzyon sonucunda bakteri hücre duvarından penetrasyon meydana gelir ve CHX, hücrenin sitoplazmik zarına doğru girer, ona zarar verir ve bütünlüğünü bozar. Bu olay, CHX'in hücre içine sızmasına izin vererek daha fazla geçirgenlik sağlar. Sonuç olarak potasyum iyonları gibi düşük moleküler ağırlıklı moleküller ve sitoplazmik bileşenler dışarı sızar ve sitoplazmik zarla ilişkili bazı enzimlerin aktivitesi inhibe olur (Poppo Deus and Ouanounou 2022).

Ancak klorheksidin gargara kullanımının da bazı dezavantajları vardır. Ne yazık ki, CHX insan hücreleri üzerinde sitotoksik aktivite gösterir, diş ve dolgularda renklenmeye neden olabilir ve aktivitesi ortamın pH'ına ve organik maddelerin varlığına bağlıdır (Karpiński and Szkaradkiewicz 2015). Dişlerde ve dilde renk değişikliği, tat algısında geçici bir değişiklik, diş taşı birikintilerinde artış, yanma hissi ve bukkal epitel hücrelerinin genotoksitesi kabaca yan etkileridir (Pandıyan ve ark.. 2022).

Bütün bunlar göz önüne alındığında hastalığı tedavi etmede klasik yöntemlerinin etkisiz olduğu görülmektedir. Bu eksiklik, son zamanlarda nanoteknolojinin periodontitis tedavisinde yeni bir yöntem olarak kullanılmasının önünü açmıştır

(Baranov ve ark.. 2021). Bu aşamada nanopartiküller, biyofilmler için oldukça umut verici bir tedavi yöntemi olarak görülmektedir (Benoit, Sims, and Fraser 2019).

Biyofilm ve terapötik arasındaki etkileşimler, tedavinin etkinliğini belirlemede çok önemlidir. Nanopartiküller, yüzeylerindeki reaktif gruplar vasıtasıyla yüzey modifikasyonuna tabi tutulabilir. Böylece nanomalzemenin bakteriler ve dokular ile arasındaki ilişki ve temas özellikleri, elektrostatik, hidrofobik veya diğer kovalent olmayan etkileşimler kullanılarak kontrol edilebilir. Bu yüzey modifikasyonları, sadece stabilize edici ajanlar olarak hizmet etmekle kalmaz, aynı zamanda biyofilm matrisi ve/veya biyofilmde bulunan bakterilerle çok yönlü olarak etkileşime girebilen yüzey fonksiyonellikleri sağlayarak, biofilm içine nüfuz edemeyen diğer terapötikler için taşıma görevi görür (Wang, Gupta, and Rotello 2016). Bu işlev son derece önemlidir çünkü antimikrobiyal ajanların biyofilmlere alınması ve penetrasyonu, terapötiklerin uygulanmasında kritik bir husustur (Stewart 2003). Topikal ajanların bileşenleri olarak nanopartiküllerin, biyosidal veya biyofilm adezyonunu önleyici özellikleri aracılığıyla oral biyofilmleri kontrol etme potansiyeli, artık ciddi bir şekilde değerlendirilmesi gereken bir alan olarak ortaya çıkmıştır (Allaker and Yuan 2019).

Biz, gerçekleştirdiğimiz çalışmada Klorheksidini (CHX), Karbon Dot (CD) şeklinde nano boyuta dönüştürdükten sonra CHX-CD nano partikülünü Kitosan (CS) nanopartikül sentezi işlemine dahil ettik ve bu işlem ile Kitosan nanopartikülleri sentezlenirken, CHX-CD nanopartiküllerini de Kitosan nanopartiküllerine yüklemiş olduk. Böylece CHX-CD/CS nanopartikülünü sentezledik.

Sentezlediğimiz yeni nanopartiküllerin, antimikrobiyal etkinliğini in vitro olarak üzerlerinde denemek için *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, *Prevotella Intermedia*, *Streptococcus Mutans* ve *Streptococcus Salivarius* bakterilerini seçtik ve uygun besiyerlerinde çoğalttık. (Çalışmaya *Porphyromonas Gingivalis* de dahil edilmişti ancak kültür ortamına ekilip çoğaltılma prosedürü başarısız oldu.)

Bu bakterilerin seçilme nedeni;

Aggregatibacter Actinomycetemcomitans, periodontitis patogeneziyle ilişkili olabilecek birçok konak yanıtını aktive eden virülans faktörlerine sahip, fakültatif,

anaerobik gram negatif bakteridir (Belibasakis ve ark.. 2019). *A. Actinomycetemcomitans*, diş yüzeyine, oral epitelyuma ve matür supragingival plağa tutunup kolonize olmasını sağlayan adezin molekülleri üretir (Henderson, Ward, and Ready 2010). *A. actinomycetemcomitans*'ın lokal disbiyoza ve enfeksiyona duyarlılığa neden olabilecek diğer bakteriyel türlerin aşırı çoğalmasını pozitif yönde etkilediği öne sürülmektedir. Ayrıca *A. Actinomycetemcomitans*'ın sistemik hastalıklarla ilişkisi de mevcuttur. Endokardit, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, Alzheimer hastalığı ve romatoid artrit gibi birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Bu ilişkilerin arkasındaki mekanizmalar bilinmemektedir, ancak *A. Actinomycetemcomitans*'ın doku invazivliği, ekzotoksin üretimi, serum direnci ve dış membran vezikül salgısı gibi çeşitli virülans özellikleri bu durumdan sorumlu tutulmaktadır (Oscarsson ve ark.. 2019). Ayrıca *Agregatibacter Actinomycetemcomitans*, diş eti sulkusunu kolonize eden, epitel dokuları preapoptotik virülans mekanizmaları ile istila eden ve preinflamatuvar stokin salınımını sitümüle eden ve daha birçok disbiyotik mekanizmaya neden olan çeşitli virülans faktörlere sahiptir (Herbert, Novince, and Kirkwood 2016).

Prevotella intermedia da periodontitis ile ilişkili önemli bir türdür (Karched ve ark.. 2022). Genellikle akut nekrotizan diş eti iltihabı, gebelik diş eti iltihabı ve kronik periodontitis hastalarında subgingival plaktan izole edilir (Loesche ve ark.. 1982). Ayrıca Artan sayıda literatür, periodontal hastalık ile prematüre düşük doğum ağırlığı arasında bir bağlantı olduğunu ileri sürmektedir (Ye ve ark.. 2020). N-R Calixto ve arkadaşları, yeni annelerin biyofilm örneklerinden yola çıkarak yaptıkları çalışmada, periodontal patojenlerin yüksek varlığı göz önüne alındığında, periodontitis ile prematüre bebek ve/veya düşük doğum ağırlığı arasında patofizyolojik ilişki kurulabileceğini öne sürmüşlerdir (Calixto ve ark.. 2019).

Streptococcus mutans, yapışkan glukan ile kaplı zarını diş üzerindeki pelikula tutturma yeteneğine sahiptir. Bu yapışkan glukan, diğer oral bakterilerin bağlanmasına aracılık ederek diş yüzeyinde biyofilm gelişimini destekler. Bu nedenle *S. mutans*, birçok oral bakteri türü ile etkileşime girerek, diş plaklarında diğer oral bakterilerle rekabet etmesine veya iş birliği yapmasına izin veren mekanizmalar geliştirir (Watanabe ve ark.. 2021). Dahası *S. mutans*, geçici bakteriyemi yoluyla riskli hasta

gruplarında endokarditi başlatabilir (Nakano ve ark.. 2006). Oral streptokok türleri, zaman zaman bakteriyemi ve enfektif endokardite neden olduğu bilinen oral mikrofloranın ana bileşenleridir (Moreillon and Que 2004).

Streptococcus salivarius (S. Salivarius), konakçının yaşamı boyunca insan ağız boşluğunda kolonize olan ve genellikle sağlıklı ilişkilendirilen Gram pozitif probiotik bir bakteridir (Burton ve ark.. 2011). Bu nedenle çalışmamızda, sentezlediğimiz nanopartiküler ajanın diğer üç patojene karşı yüksek antibakteriyel etki göstermesini amaçlamış olmamıza rağmen, S. Salivarius'a karşı düşük antibakteriyel etki hedefledik.

Literatürde çeşitli nanopartiküllerin ve CHX'in antibakteriyel etkinliğini değerlendiren çalışmalar mevcut olmasına rağmen birden fazla nanopartikülün bir araya getirildiği kompleks nano yapılara dair çok fazla araştırma mevcut değildir. Gerek CHX gerek Karbon Dot (CD), gerekse Kitosan (CS) nanopartiküllere dair ayrı ayrı çalışmalar bulunmasına rağmen bu üçünün tek bir bileşik içinde sentezlendiği nano yapılara dair bir çalışma yoktur. Yapmış olduğumuz çalışma ile literatürdeki bu eksikliği kapatmak ayrıca bu üç bileşiğin her birinin pozitif özelliklerini tek bir ajan içinde birleştirmek için CHX-CD/CS nanopartikülü sentezleyip, bu ajanın bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinliğinin in vitro olarak araştırması amaçlanmıştır.

CHX-CD/CS nanopartikül solüsyonunun antibakteriyel etkinliğini ve Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIC_{100}) değerini bulmak için Muller–Hinton Broth (MHB, Merck,) sıvı besiyeri kullanılarak çift kat seri sulandırım mikrodilüsyon sıvı test metodu (Broth Mikrodilüsyon Yöntemi) kullanıldı.

CHX-CD/CS nanopartikül ajanımızın *Prevotella Intermedia*, *Streptococcus Mutans* ve *Streptococcus Salivarius* bakterileri için MIC_{100} değeri 5000 µg/ml olarak bulundu.

Dikkat çekici bir biçimde, CHX-CD/CS nanopartiküllerin *A. Actinomyces comitans* olan antibakteriyel etkinliği daha fazla olarak gözlemlendi. Bu patojene karşı antibakteriyel solüsyonumuzun MIC_{100} değeri 39 µg/ml olarak saptandı.

Bhat ve arkadaşları (Bhat ve ark.. 2019), yaptıkları bir çalışmada, farklı antibiyotiklerin *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* üzerindeki antibakteriyel etkinliklerine bakmışlar ve MİK değerleri belirlemişlerdir. Ancak onlar bizden farklı olarak; antibakteriyel test yöntemi olarak Broth Mikrodilüsyon yöntemi yerine E-test gradyan difüzyon yöntemini kullanmışlardır. Yaptıkları bu çalışma sonunda;

- Metronidazol için MİK₉₀ değerini >256 µg/ml şeklinde bulmuşlardır.
- Klindamisin için MİK₉₀ değerini 64 µg/ml şeklinde bulmuşlardır.
- Azitromisin için MİK₉₀ değerini 16 µg/ml şeklinde bulmuşlardır.
- Tetrasiklin için MİK₉₀ değerini 8 µg/ml şeklinde bulmuşlardır.
- Doksisiklin için MİK₉₀ değerini 2 µg/ml şeklinde bulmuşlardır.
- Amoksisilin Klavulanik Asit için buldukları MİK₉₀ değeri ise 1 µg/ml'dır.

Biz ise yaptığımız çalışmada CHX-CD/CS nanopartikül ajanımızın *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*a karşı olan MİK₁₀₀ değerini 39 µg/ml olarak saptamıştık.

Bu verilerin karşılaştırmasından yola çıkarak, CHX-CD/CS nanopartikülün, *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*a karşı olan antibakteriyel etkinliğinin Metronidazol ve Klindamisinden fazla, Azitromisin ile yakın değerinde, Tetrasiklin, Doksisiklin ve Amoksisilin Klavulanattan ise daha az olduğu sonucuna ulaşılabilir.

Najafi ve arkadaşlarının (Najafi ve ark.. 2016) yaptığı bir başka çalışmada ise Klorheksidinin *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*a karşı antimikrobiyal etkinliği in vitro olarak araştırıldı. Test yöntemi olarak bizimkinde olduğu gibi Broth Mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Ancak bizim çalışmamızda nano malzememize eklenen CHX %0,02'lik iken, bu çalışmada %2'lik CHX tercih edildi. Çalışma sonucunda MİK değeri 0.12 µg/ml olarak saptanmıştır.

Bizim ajanımızda da CHX olmasına rağmen bu çalışmadaki antibakteriyel aktivenin bizimkinden fazla çıkması CHX konsantrasyonuna bağlanabilir. Nitekim kendi çalışmamızda %0,02 olan CHX konsantrasyonu, bu çalışmada %2 şeklindedir. Ayrıca deneyin in vitro ortamda yapılması ve bakterinin kendisini antimikrobiyal ajandan koruyabilecek güçlü bir biyofilm yapısı oluşturamaması da sonuçların böyle

çıkmasına neden olmuş olabilir. Nitekim nano molekül haline getirilmiş CHX, biofilm içine daha güçlü penetrasyon, dokulara daha güçlü adezyon gibi avantajlara sahiptir. Dolayısıyla hasta ağzında, biyofilm içindeki *A. Actinomyces* *comitans* karşı olan antibakteriyel aktivite test sonuçlarının karşılaştırılmasının in vitro yöntemine göre daha sağlıklı olacağı düşünülmektedir.

Leung ve arkadaşları (Leung ve ark.. 2016) yaptıkları çalışmada klorheksidini nanopartikül haline getirmiş (Nano-CHX), *S. sobrinus*, *F. Nucleatum*, *P. gingivalis* *S. mutans*, *F. Nucleatum* ve *A. actinomyces* *comitans* patojenleri üzerindeki antibakteriyel etkinliğini incelemişlerdir. Bu bakteriler için elde ettikleri MİK değeri ise 25 µg/ml'dir.

Biz ise çalışmamızda Klorheksidini Karbon Dot şeklinde nano boyuta indirgedik ve bu bileşiği de Kitosan nanopartikül içine yükledik. Bizim *S. mutans* için elde ettiğimiz MİK değeri 5000 µg/ml iken, *A. Actinomyces* *comitans* için bulduğumuz MİK değeri ise 39 µg/ml'dir. Buradan yola çıkarak, CHX-CD/CS nanopartikül ajanının antibakteriyel etkinliği Nano-CHX nanopartikülününkü ile kıyaslanacak olursa, *S. Mutans* karşı Nano-CHX daha güçlü antibakteriyel etkiye sahipken, *A. Actinomyces* *comitans* karşı ise CHX-CD/CS nanopartikülün daha güçlü antibakteriyel etkinlik gösterdiği görülmektedir.

Literatüre göre kitosan nanopartikül, ilaç taşıyıcı olarak kullanılmasının yanında kendisi de bizzat bir dizi Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriye karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Qi ve ark.. 2004). Kitosan, biyolojik olarak uyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir, toksik olmayan ve antijenik olmayan özelliklere sahiptir. Polimer pozitif yüklüdür ve asidik ila nötr çözeltide çözünür, bu da onun mukozal yüzeylere bağlanmasını sağlar. Hem kitosan nanopartiküller, ilaçların lokal olarak verilmesi için potansiyel bir platform olarak sıkça araştırılmıştır (Wu ve ark.. 2005).

Çalışmamızda, kitosan nanopartikülü aynı anda hem CHX-CD nanopartikül için taşıyıcı olarak kullanmayı hem de kitosan nanopartikülün kendi antibakteriyel etkinliğinden yararlanmayı amaçladık. Klorheksidini organik bir nanopolimer olan kitosan nanopartikül içine yükleyerek, klorheksidin konak hücreler için sitotoksik etki gösterme dezavantajını da ortadan kaldırmayı öngördük.

Qi ve arkadaşları (Qi ve ark.. 2004) yaptıkları in vitro çalışmada, kitosan nanopartiküllerinin çeşitli mikroorganizmaların büyümesini önemli ölçüde engelleyebileceğini ve kitosan veya doksisisiklin'den daha yüksek antibakteriyel aktivite sergilediğini belirtmişlerdir. *S. aureus* ATCC 25923 için saptadıkları MİK değerleri normal kitosan polimeri için 8 µg/ml, doksisisiklin için 0,25 µg/ml ve kitosan nanopartikül için ise 0,125 µg/ml'dir.

Buradan da anlaşılmaktadır ki kitosan, nano malzeme haline getirildiğinde, antibakteriyel etkinliğinde dramatik bir artış olmaktadır.

Bir başka çalışmada, hazırlanan CNP'lerin antibakteriyel etkinliği, pH 5.5'te broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak gonokok suşlarına karşı test edildi. Çalışma sonucunda *N. Gonorrhoea* için elde edilen MİK₉₀ değeri 16 µg/ml olarak bulundu (Alqahtani ve ark.. 2020).

Bu değer bizim CHX-CD/CS nanopartikül kullanarak *A. Actinomichetemcomitans*a karşı bulduğumuz MİK değeri ile oldukça yakındır. Buradan yola çıkarak ajanımızın *N. Gonorrhoea* üzerinde de antibakteriyel etkinliğinin yüksek olabilme ihtimali üzerinde durulabilir.

Nanopartiküller, küçük boyutlarından dolayı, diş eti altındaki periodontal cep alanları gibi diğer dağıtım sistemlerinin erişemeyeceği bölgelere nüfuz eder. Bu sistemler, uygulama sıklığını azaltmakta ve ayrıca aktif maddenin uzun bir süre boyunca üniform bir dağılımını sağlamaktadır (Kong ve ark.. 2006). Bu nedenle kitosan nanopartiküller gibi organik nanopolimer taşıyıcı ajanlar, literatürde oldukça fazla irdelenmektedir.

Alqahtani ve arkadaşları (Alqahtani ve ark.. 2019) yaptıkları çalışmada, Diklofenak (DIC) yüklü kitosan nanopartikül sentezlemiş ve *Staphylococcus aureus* ile *Bacillus subtilis* üzerinde antibakteriyel özelliklerini denemişlerdir. Birçok çalışma, DIC'nin antimikrobiyal özelliklerini bildirmiştir. Yapılan bu çalışma ile DIC nano boyuta indirgenmekle kalmamış, aynı zamanda Kitosan nanopartikül içine yüklenerek kendisine birçok avantaj sağlanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre standart formdaki DIC'in, *Staphylococcus aureus*'a karşı MİK değeri 250 µg/ml iken DIC yüklü CS

nanopartikülün *Staphylococcus aureus*'a karşı MİK değeri ise 18 µg/ml'dir. Yine DIC'in *Bacillus subtilis*'a karşı MİK değeri 50 µg/ml iken, DIC yüklü Kitosan nanopartikülün *Bacillus subtilis*'a karşı MİK değeri ise 9 µg/ml olarak bulunmuştur.

Bu araştırma göstermektedir ki, standart hallerdeki antibakteriyel bileşikler, nano düzeye indirgenip, kitosan nanopartikül içine yüklenilirse, antibakteriyel etkinlikleri artmaktadır. Bunun nedenleri arasında kitosan nanopartiküllerin de kendi antibakteriyel etkilerinin olması ve nano boyuttaki taşıyıcı kitosan nanopartiküllerin, içlerinde taşıdıkları terapötik ajana birçok ek avantaj sağlamalarıdır. Biz de bu araştırmaya benzer olarak, aynı amaçlarla CHX molekülünü nano düzeyde Kitosan nanopartikül içine yükledik ve patojenler üzerinde denedik.

Sah ve arkadaşlarının (Sah, Dewangan, and Suresh 2019), CHX yüklü Kitosan ile tek başına CHX'in antibakteriyel etkinliğini karşılaştırdığı bir çalışmada, CHX yüklü Kitosan nanopartikül tek başına klorheksidinden daha yüksek aktivite göstermiştir. Bu sonuç göstermektedir ki klorheksidin, kitosan nanopartikül içine yüklenme yöntemi sayesinde daha düşük konsantrasyonlarda daha yüksek etki gösterebilir ve bu da CHX'e bağlı istenmeyen yan etkileri azaltır.

Nanomalzemeler biyolojik zarları geçebilir ve daha büyük boyutlu parçacıkların normalde ulaşmadığı hücrelere, dokulara ve organlara erişebilir (Yang ve ark.. 2010). Bu nedenle konak doku ve hücreler için patolojik etkiler gösterme ihtimali gözardı edilmemelidir.

Terapötik kullanıma yönelik yaklaşık 130 nanopartikülün in vivo taranması, biyouyumluluk açısından ayrıntılı değerlendirmelere olanak sağlamıştır. Bu çalışma sonucunda, uyumluluğu belirleyen ana etkenlerin partiküllerin değişken boyut, yüzey yükü ve dağılabilirlik (özellikle hidrofobikliğin etkisi) olduğu gösterilmiştir. Katyonik parçacıkların veya yüksek yüzey reaktivitesine sahip parçacıkların toksik olma olasılığının hem ökaryotlar hem de prokaryotlar için daha yüksek olduğu vurgulanmıştır (Nel ve ark.. 2009b). Retiküloendotelial sistem tarafından hızla çıkarılacak olan daha büyük, daha hidrofobik veya zayıf dağılmış parçacıkların ise daha az toksik olduğu gösterilmiştir (Allaker and Yuan 2019). Karlsson ve arkadaşları, metal oksit nanoparçacıklarının 40 µg/mL'ye kadar olan konsantrasyonlarda ilk başta

öngörülenden daha toksik olduğunu ve sitotoksisiteye, DNA hasarına ve oksidatif DNA lezyonlarına olduğunu bildirmişlerdir. (Karlsson ve ark.. 2008).

Biz bu dezavantajların üstesinden gelmek için kitosan ve karbon dot gibi organik yapılı ve biyolojik yollarla konak tarafından metabolize edilen nanopartikülleri seçtik. Nitekim toksikoloji ve biyodinamik çalışmalar, kitosan nanopartiküllerin oral yoldan verildiğinde nispeten güvenli olduğunu göstermektedir (Seetharam and Sridhar 2007). Çünkü kitosan, yara rejenerasyonu, antimikrobiyal aktivite ve biyolojik olarak parçalanabilirlik dahil olmak üzere benzersiz biyolojik özelliklere sahip katyonik bir biyopolimerdir (Costa, Silva, Veiga, ve ark.. 2017).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Periodontitis ile mücadelenin temel dinamiği periodontal patojenler ile mücadele etmektir. Bugüne kadar bu patojenler ve onları koruyan biyofilm yapısı ile mücadelede mekanik tedaviye yardımcı olarak çok fazla terapötik ajan denenmiştir. Tam etkili çözüm için araştırmaların son hız devam ettiği günümüzde, nanopartiküller artık yadsınamaz bir önem kazanmışlardır.

Standart terapötiklere nazaran büyük avantajlara sahip olan nanopartiküller, gerek antibakteriyel ajan olarak gerekse diğer antibakteriyel ilaçlar için taşıyıcı ve lokal salınım yapıcı ajan olarak oldukça sık kullanılır hale gelmişlerdir.

Yaptığımız ün vitro çalışma ile CHX-CD/CS nanopartikülün, belirli patojenler üzerindeki antibakteriyel etkinliğini araştırdık. Aggregatibacter actinomycetemcomitans'a karşı yüksek etki gösterdiğini, ancak konak için ve simbiyotik ilişkinin devamı için son derece yararlı olan Streptococcus salivarius'a karşı antibakteriyel etkisinin az olduğunu saptadık. Bu iki bulgudan yola çıkarak, ajanımızın mikroflora ve konak arasındaki simbiyotik ilişkiyi güçlendirebileceği sonucuna ulaşılabilir.

Sentezlemiş olduğumuz CHX-CD/CS nanopartikül ajanımıza dair literatürde çalışma bulunmamaktadır. Bunun yerine, ajanımızı oluşturan bileşenler ayrı ayrı ele alınmış ve antibakteriyel etkileri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu nedenle CHX-CD/CS nanopartiküllerin antibakteriyel etkinliğini değerlendirecek çok daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Her ne kadar metalik nanopartiküllerin konak toksisitesine sebep olma riski fazla olmamasından dolayı organik temelli bir nanopartikül seçmiş olsak da CHX-CD/CD nanopartikülünün klinik deneylere tabi tutulması, in vivo çalışmalarla sitotoksitesinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

- Abed, N., and P. Couvreur. 2014. 'Nanocarriers for antibiotics: a promising solution to treat intracellular bacterial infections', *Int J Antimicrob Agents*, 43: 485-96.
- Åberg, C. H., P. Kelk, and A. Johansson. 2015. 'Aggregatibacter actinomycetemcomitans: virulence of its leukotoxin and association with aggressive periodontitis', *Virulence*, 6: 188-95.
- Abrahamian, L., A. Pascual-LaRocca, L. Barallat, C. Valles, D. Herrera, M. Sanz, J. Nart, and E. Figuero. 2022. 'Intra- and inter-examiner reliability in classifying periodontitis according to the 2018 classification of periodontal diseases', *J Clin Periodontol*, 49: 732-39.
- Abu Rabe, D. I., M. M. Al Awak, F. Yang, P. A. Okonjo, X. Dong, L. R. Teisl, P. Wang, Y. Tang, N. Pan, Y. P. Sun, and L. Yang. 2019. 'The dominant role of surface functionalization in carbon dots' photo-activated antibacterial activity', *Int J Nanomedicine*, 14: 2655-65.
- Abusleme, L., A. K. Dupuy, N. Dutzan, N. Silva, J. A. Burleson, L. D. Strausbaugh, J. Gamonal, and P. I. Diaz. 2013. 'The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation', *Isme j*, 7: 1016-25.
- Agarwal, E., A. R. Pradeep, P. Bajaj, and S. B. Naik. 2012. 'Efficacy of local drug delivery of 0.5% clarithromycin gel as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in the treatment of current smokers with chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial', *J Periodontol*, 83: 1155-63.
- Ahmed, T. A., and B. M. Aljaeid. 2016. 'Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery', *Drug Des Devel Ther*, 10: 483-507.
- Akcalı, A., and N. P. Lang. 2018. 'Dental calculus: the calcified biofilm and its role in disease development', *Periodontol 2000*, 76: 109-15.
- Aksungur, P., A. Sungur, S. Unal, A. B. Iskit, C. A. Squier, and S. Senel. 2004. 'Chitosan delivery systems for the treatment of oral mucositis: in vitro and in vivo studies', *J Control Release*, 98: 269-79.
- Alexander, C., and E. T. Rietschel. 2001. 'Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity', *J Endotoxin Res*, 7: 167-202.
- Aliasghari, A., M. Rabbani Khorasgani, S. Vaezifar, F. Rahimi, H. Younesi, and M. Khoroushi. 2016. 'Evaluation of antibacterial efficiency of chitosan and chitosan nanoparticles on cariogenic streptococci: an in vitro study', *Iran J Microbiol*, 8: 93-100.
- Allaker, Robert P., and Zhiyu Yuan. 2019. 'Chapter 10 - Nanoparticles and the control of oral biofilms.' in Karthikeyan Subramani and Waqar Ahmed (eds.), *Nanobiomaterials in Clinical Dentistry (Second Edition)* (Elsevier).
- Alqahtani, Fulwah, Fadilah Aleanizy, Eram El Tahir, Hiba Alhabib, Raghad Alsaif, Gamal Shazly, Hajar AlQahtani, Ibrahim Alsarra, and Jafar Mahdavi. 2020. 'Antibacterial activity of chitosan nanoparticles against pathogenic N. gonorrhoea', *International Journal of Nanomedicine*: 7877-87.
- Alqahtani, Fulwah Yahya, Fadilah Sfouq Aleanizy, Eram El Tahir, Bushra T. Alquadeib, Ibrahim A. Alsarra, Jouri S. Alanazi, and Hosam Gharib

- Abdelhady. 2019. 'Preparation, characterization, and antibacterial activity of diclofenac-loaded chitosan nanoparticles', *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27: 82-87.
- Amaliya, A., M. L. Laine, J. R. Delanghe, B. G. Loos, A. J. Van Wijk, and U. Van der Velden. 2015. 'Java project on periodontal diseases: periodontal bone loss in relation to environmental and systemic conditions', *J Clin Periodontol*, 42: 325-32.
- Arabaci, T., Y. Çiçek, and C. F. Canakçi. 2007. 'Sonic and ultrasonic scalers in periodontal treatment: a review', *Int J Dent Hyg*, 5: 2-12.
- Arsiwala, A., P. Desai, and V. Patravale. 2014. 'Recent advances in micro/nanoscale biomedical implants', *J Control Release*, 189: 25-45.
- Aukhil, I. 2000. 'Biology of wound healing', *Periodontol 2000*, 22: 44-50.
- Bachtiar, E. W., V. A. Kusuma, F. P. Gultom, and R. D. Soejoedono. 2022. 'Quantity of the antigens of Streptococcus mutans serotype e and Candida albicans and its correlation with the salivary flow rate in early childhood caries', *J Res Med Sci*, 27: 47.
- Baker, J. L., R. C. Faustoferri, and R. G. Quivey, Jr. 2017. 'Acid-adaptive mechanisms of Streptococcus mutans-the more we know, the more we don't', *Mol Oral Microbiol*, 32: 107-17.
- Bartha, V., S. Steinmacher, R. Wittlinger, S. Boutin, J. Pauluschke-Fröhlich, C. von Ohle, S. Y. Brucker, T. Bruckner, and D. Wolff. 2022. 'Gain a Baby Lose a Tooth-Is There an Association between Periodontitis and Preterm Birth?', *J Clin Med*, 11.
- Basudan, A. M. 2022. 'Nanoparticle based periodontal drug delivery - A review on current trends and future perspectives', *Saudi Dent J*, 34: 669-80.
- Beighton, D., J. Decker, and K. A. Homer. 1991. 'Effects of chlorhexidine on proteolytic and glycosidic enzyme activities of dental plaque bacteria', *J Clin Periodontol*, 18: 85-9.
- Belibasakis, G. N., T. Maula, K. Bao, M. Lindholm, N. Bostanci, J. Oscarsson, R. Ihalin, and A. Johansson. 2019. 'Virulence and Pathogenicity Properties of Aggregatibacter actinomycetemcomitans', *Pathogens*, 8.
- Benoit, D. S. W., K. R. Sims, Jr., and D. Fraser. 2019. 'Nanoparticles for Oral Biofilm Treatments', *ACS Nano*, 13: 4869-75.
- Benso, B. 2017. 'Virulence factors associated with Aggregatibacter actinomycetemcomitans and their role in promoting periodontal diseases', *Virulence*, 8: 111-14.
- Besinis, A., T. De Peralta, C. J. Tredwin, and R. D. Handy. 2015. 'Review of nanomaterials in dentistry: interactions with the oral microenvironment, clinical applications, hazards, and benefits', *ACS Nano*, 9: 2255-89.
- Bhat, K. G., P. Khot, S. Patil, G. Pattar, and S. Majukar. 2019. 'Antimicrobial susceptibility pattern of oral isolates of Aggregatibacter actinomycetemcomitans', *J Oral Maxillofac Pathol*, 23: 231-35.
- Bing, W., H. Sun, Z. Yan, J. Ren, and X. Qu. 2016. 'Programmed Bacteria Death Induced by Carbon Dots with Different Surface Charge', *Small*, 12: 4713-8.
- Bonilla-Represa, V., C. Abalos-Labruzzi, M. Herrera-Martinez, and M. O. Guerrero-Pérez. 2020. 'Nanomaterials in Dentistry: State of the Art and Future Challenges', *Nanomaterials (Basel)*, 10.

- Bostanci, N., and G. N. Belibasakis. 2012. 'Porphyromonas gingivalis: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen', *FEMS Microbiol Lett*, 333: 1-9.
- Branda, S. S., S. Vik, L. Friedman, and R. Kolter. 2005. 'Biofilms: the matrix revisited', *Trends Microbiol*, 13: 20-6.
- Brun, A., N. Moignot, M. L. Colombier, and E. Dursun. 2020. 'Emerging Nanotechnology in Non-Surgical Periodontal Therapy in Animal Models: A Systematic Review', *Nanomaterials (Basel)*, 10.
- Burton, J. P., P. A. Wescombe, P. A. Cadieux, and J. R. Tagg. 2011. 'Beneficial microbes for the oral cavity: time to harness the oral streptococci?', *Benef Microbes*, 2: 93-101.
- Byrne, D. P., S. P. Manandhar, J. Potempa, and J. W. Smalley. 2015. 'Breakdown of albumin and haemalbumin by the cysteine protease interpain A, an albuminase of *Prevotella intermedia*', *BMC Microbiol*, 15: 185.
- Cafferata, E. A., C. Terraza-Aguirre, R. Barrera, N. Faúndez, N. González, C. Rojas, S. Melgar-Rodríguez, M. Hernández, P. Carvajal, C. Cortez, F. E. González, C. Covarrubias, and R. Vernal. 2020. 'Interleukin-35 inhibits alveolar bone resorption by modulating the Th17/Treg imbalance during periodontitis', *J Clin Periodontol*, 47: 676-88.
- Calixto, N. R., C. M. Alves, L. M. Abreu, E. B. Thomaz, F. C. Vidal, I. S. Filho, and F. F. Lopes. 2019. 'Detection of periodontal pathogens in mothers of preterm birth and/or low weight', *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 24: e776-e81.
- Calvo, Pilar, Carmen Remuñan-López, Jose Luis Vila-Jato, and María José Alonso. 1997. 'Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines', *Pharmaceutical research*, 14: 1431-36.
- Cao, W., Y. Zhang, X. Wang, Y. Chen, Q. Li, X. Xing, Y. Xiao, X. Peng, and Z. Ye. 2017. 'Development of a novel resin-based dental material with dual biocidal modes and sustained release of Ag(+) ions based on photocurable core-shell AgBr/cationic polymer nanocomposites', *J Mater Sci Mater Med*, 28: 103.
- Cao, W., Y. Zhang, X. Wang, Q. Li, Y. Xiao, P. Li, L. Wang, Z. Ye, and X. Xing. 2018. 'Novel resin-based dental material with anti-biofilm activity and improved mechanical property by incorporating hydrophilic cationic copolymer functionalized nanodiamond', *J Mater Sci Mater Med*, 29: 162.
- Caton, J. G., G. Armitage, T. Berglundh, I. L. C. Chapple, S. Jepsen, K. S. Kornman, B. L. Mealey, P. N. Papapanou, M. Sanz, and M. S. Tonetti. 2018. 'A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification', *J Clin Periodontol*, 45 Suppl 20: S1-s8.
- Chandra Hembram, K., S. Prabha, R. Chandra, B. Ahmed, and S. Nimesh. 2016. 'Advances in preparation and characterization of chitosan nanoparticles for therapeutics', *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 44: 305-14.
- Chapple, I. L. C., B. L. Mealey, T. E. Van Dyke, P. M. Bartold, H. Dommisch, P. Eickholz, M. L. Geisinger, R. J. Genco, M. Glogauer, M. Goldstein, T. J. Griffin, P. Holmstrup, G. K. Johnson, Y. Kapila, N. P. Lang, J. Meyle, S. Murakami, J. Plemons, G. A. Romito, L. Shapira, D. N. Tatakis, W. Teughels, L. Trombelli, C. Walter, G. Wimmer, P. Xenoudi, and H. Yoshie. 2018. 'Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World

- Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions', *J Clin Periodontol*, 45 Suppl 20: S68-s77.
- Chatzopoulos, G. S., V. P. Koidou, and L. Tsalikis. 2023. 'Local drug delivery in the treatment of furcation defects in periodontitis: a systematic review', *Clin Oral Investig*, 27: 955-70.
- Chávez-Andrade, G. M., M. Tanomaru-Filho, E. M. Rodrigues, A. L. Gomes-Cornélio, G. Faria, M. I. B. Bernardi, and J. M. Guerreiro-Tanomaru. 2017. 'Cytotoxicity, genotoxicity and antibacterial activity of poly(vinyl alcohol)-coated silver nanoparticles and farnesol as irrigating solutions', *Arch Oral Biol*, 84: 89-93.
- Cheng, Y., J. W. Chen, M. K. Ge, Z. Y. Zhou, X. Yin, and S. J. Zou. 2016. 'Efficacy of adjunctive laser in non-surgical periodontal treatment: a systematic review and meta-analysis', *Lasers Med Sci*, 31: 151-63.
- Cho, E. C., J. Xie, P. A. Wurm, and Y. Xia. 2009. 'Understanding the role of surface charges in cellular adsorption versus internalization by selectively removing gold nanoparticles on the cell surface with a I2/KI etchant', *Nano Lett*, 9: 1080-4.
- Cobb, C. M. 2006. 'Lasers in periodontics: a review of the literature', *J Periodontol*, 77: 545-64.
- Cook, L. C., and M. J. Federle. 2014. 'Peptide pheromone signaling in *Streptococcus* and *Enterococcus*', *FEMS Microbiol Rev*, 38: 473-92.
- Costa, E. M., S. Silva, S. Vicente, C. Neto, P. M. Castro, M. Veiga, R. Madureira, F. Tavaría, and M. M. Pintado. 2017. 'Chitosan nanoparticles as alternative anti-staphylococci agents: Bactericidal, antibiofilm and antiadhesive effects', *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 79: 221-26.
- Costa, Eduardo Manuel, Sara Silva, Mariana Veiga, Freni Kekhasharú Tavaría, and Maria Manuela Pintado. 2017. 'A review of chitosan's effect on oral biofilms: Perspectives from the tube to the mouth', *Journal of Oral Biosciences*, 59: 205-10.
- Cui, H., M. Bai, M. M. A. Rashed, and L. Lin. 2018. 'The antibacterial activity of clove oil/chitosan nanoparticles embedded gelatin nanofibers against *Escherichia coli* O157:H7 biofilms on cucumber', *Int J Food Microbiol*, 266: 69-78.
- Curtis, M. A., P. I. Diaz, and T. E. Van Dyke. 2020. 'The role of the microbiota in periodontal disease', *Periodontol 2000*, 83: 14-25.
- Cyktor, J. C., and J. Turner. 2011. 'Interleukin-10 and immunity against prokaryotic and eukaryotic intracellular pathogens', *Infect Immun*, 79: 2964-73.
- Da Rocha, H. A., C. F. Silva, F. L. Santiago, L. G. Martins, P. C. Dias, and D. De Magalhães. 2015. 'Local Drug Delivery Systems in the Treatment of Periodontitis: A Literature Review', *J Int Acad Periodontol*, 17: 82-90.
- de Faria, A. F., F. Perreault, E. Shaulsky, L. H. Arias Chavez, and M. Elimelech. 2015. 'Antimicrobial Electrospun Biopolymer Nanofiber Mats Functionalized with Graphene Oxide-Silver Nanocomposites', *ACS Appl Mater Interfaces*, 7: 12751-9.
- Deas, D. E., A. J. Moritz, R. S. Sagun, Jr., S. F. Gruwell, and C. A. Powell. 2016. 'Scaling and root planing vs. conservative surgery in the treatment of chronic periodontitis', *Periodontol 2000*, 71: 128-39.

- Delorme, Christine, Anne-Laure Abraham, Pierre Renault, and Eric Guédon. 2015. 'Genomics of *Streptococcus salivarius*, a major human commensal', *Infection, Genetics and Evolution*, 33: 381-92.
- Deng, H., A. Dong, J. Song, and X. Chen. 2019. 'Injectable thermosensitive hydrogel systems based on functional PEG/PCL block polymer for local drug delivery', *J Control Release*, 297: 60-70.
- Desai, K. G. 2016. 'Chitosan Nanoparticles Prepared by Ionotropic Gelation: An Overview of Recent Advances', *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 33: 107-58.
- Dickinson, B. C., C. E. Moffatt, D. Hagerty, S. E. Whitmore, T. A. Brown, D. T. Graves, and R. J. Lamont. 2011. 'Interaction of oral bacteria with gingival epithelial cell multilayers', *Mol Oral Microbiol*, 26: 210-20.
- Dige, I., H. Nilsson, M. Kilian, and B. Nyvad. 2007. 'In situ identification of streptococci and other bacteria in initial dental biofilm by confocal laser scanning microscopy and fluorescence in situ hybridization', *Eur J Oral Sci*, 115: 459-67.
- DiRienzo, J. M. 2014. 'Breaking the Gingival Epithelial Barrier: Role of the *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Cytolethal Distending Toxin in Oral Infectious Disease', *Cells*, 3: 476-99.
- Divaris, K., K. L. Monda, K. E. North, A. F. Olshan, E. M. Lange, K. Moss, S. P. Barros, J. D. Beck, and S. Offenbacher. 2012. 'Genome-wide association study of periodontal pathogen colonization', *J Dent Res*, 91: 21s-28s.
- Dobson, A., P. D. Cotter, R. P. Ross, and C. Hill. 2012. 'Bacteriocin production: a probiotic trait?', *Appl Environ Microbiol*, 78: 1-6.
- Dong, Fuping, Izabela Firkowska-Boden, Matthias ML Arras, and Klaus D Jandt. 2017. 'Responsive copolymer–graphene oxide hybrid microspheres with enhanced drug release properties', *RSC advances*, 7: 3720-26.
- Dong, X., M. A. Awak, N. Tomlinson, Y. Tang, Y. P. Sun, and L. Yang. 2017. 'Antibacterial effects of carbon dots in combination with other antimicrobial reagents', *PLoS One*, 12: e0185324.
- Dong, X., A. E. Bond, N. Pan, M. Coleman, Y. Tang, Y. P. Sun, and L. Yang. 2018. 'Synergistic photoactivated antimicrobial effects of carbon dots combined with dye photosensitizers', *Int J Nanomedicine*, 13: 8025-35.
- Dong, X., W. Liang, M. J. Mezziani, Y. P. Sun, and L. Yang. 2020. 'Carbon Dots as Potent Antimicrobial Agents', *Theranostics*, 10: 671-86.
- Dong, X., C. M. Overton, Y. Tang, J. P. Darby, Y. P. Sun, and L. Yang. 2021. 'Visible Light-Activated Carbon Dots for Inhibiting Biofilm Formation and Inactivating Biofilm-Associated Bacterial Cells', *Front Bioeng Biotechnol*, 9: 786077.
- Donlan, R. M. 2001. 'Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process', *Clin Infect Dis*, 33: 1387-92.
- Donos, N., E. Calciolari, N. Brusselaers, M. Goldoni, N. Bostanci, and G. N. Belibasakis. 2020. 'The adjunctive use of host modulators in non-surgical periodontal therapy. A systematic review of randomized, placebo-controlled clinical studies', *J Clin Periodontol*, 47 Suppl 22: 199-238.
- Doyle, C. J., T. R. Fitzsimmons, C. Marchant, A. A. Dharmapatri, R. Hirsch, and P. M. Bartold. 2015. 'Azithromycin suppresses *P. gingivalis* LPS-induced pro-inflammatory cytokine and chemokine production by human gingival fibroblasts in vitro', *Clin Oral Investig*, 19: 221-7.

- Dreaden, E. C., M. A. Mackey, X. Huang, B. Kang, and M. A. El-Sayed. 2011. 'Beating cancer in multiple ways using nanogold', *Chem Soc Rev*, 40: 3391-404.
- Drisko, C H, and L H Lewis. 1996. 'Ultrasonic instruments and antimicrobial agents in supportive periodontal treatment and retreatment of recurrent or refractory periodontitis', *Periodontology* 2000, 12: 90-115.
- Drisko, C. H. 1998. 'Root instrumentation. Power-driven versus manual scalers, which one?', *Dent Clin North Am*, 42: 229-44.
- . 2001. 'Nonsurgical periodontal therapy', *Periodontol* 2000, 25: 77-88.
- Eastham, Jane E, and Robin A Seymour. 2014. 'Local drug delivery in the management of periodontal diseases part 2: Specific agents', *Dental Update*, 41: 796-810.
- Elias, CN, JHC Lima, R Valiev, and MA Meyers. 2008. 'Biomedical applications of titanium and its alloys', *Jom*, 60: 46-49.
- Ellis, T. N., and M. J. Kuehn. 2010. 'Virulence and immunomodulatory roles of bacterial outer membrane vesicles', *Microbiol Mol Biol Rev*, 74: 81-94.
- Elnagdy, S., M. Raptopoulos, I. Kormas, A. Pedercini, and L. F. Wolff. 2021. 'Local Oral Delivery Agents with Anti-Biofilm Properties for the Treatment of Periodontitis and Peri-Implantitis. A Narrative Review', *Molecules*, 26.
- Ertas, K., I. Pence, M. S. Cesmeli, and Z. Y. Ay. 2023. 'Determination of the stage and grade of periodontitis according to the current classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions (2018) using machine learning algorithms', *J Periodontal Implant Sci*, 53: 38-53.
- Feres, M., L. C. Figueiredo, G. M. Soares, and M. Faveri. 2015. 'Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis', *Periodontol* 2000, 67: 131-86.
- Feres, M., F. Teles, R. Teles, L. C. Figueiredo, and M. Faveri. 2016. 'The subgingival periodontal microbiota of the aging mouth', *Periodontol* 2000, 72: 30-53.
- Figuro, E., Y. W. Han, and Y. Furuichi. 2020. 'Periodontal diseases and adverse pregnancy outcomes: Mechanisms', *Periodontol* 2000, 83: 175-88.
- Fine, D. H., D. Furgang, J. Kaplan, J. Charlesworth, and D. H. Figurski. 1999. 'Tenacious adhesion of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strain CU1000 to salivary-coated hydroxyapatite', *Arch Oral Biol*, 44: 1063-76.
- Fine, D. H., A. G. Patil, and S. K. Velusamy. 2019. 'Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Aa) Under the Radar: Myths and Misunderstandings of Aa and Its Role in Aggressive Periodontitis', *Front Immunol*, 10: 728.
- Flemmig, T. F., G. Petersilka, A. Völpl, M. Gravemeier, M. Zilly, D. Mross, K. Prior, J. Yamamoto, and T. Beikler. 2011. 'Efficacy and safety of adjunctive local moxifloxacin delivery in the treatment of periodontitis', *J Periodontol*, 82: 96-105.
- Flemming, H. C., and J. Wingender. 2010. 'The biofilm matrix', *Nat Rev Microbiol*, 8: 623-33.
- Fons-Badal, C., A. Fons-Font, C. Labaig-Rueda, M. Fernanda Solá-Ruiz, E. Selva-Otaolauruchi, and R. Agustín-Panadero. 2020. 'Analysis of Predisposing Factors for Rapid Dental Calculus Formation', *J Clin Med*, 9.
- Gannon, S. C., M. D. Cantley, D. R. Haynes, R. Hirsch, and P. M. Bartold. 2013. 'Azithromycin suppresses human osteoclast formation and activity in vitro', *J Cell Physiol*, 228: 1098-107.
- Garrett, S., L. Johnson, C. H. Drisko, D. F. Adams, C. Bandt, B. Beiswanger, G. Bogle, K. Donly, W. W. Hallmon, E. B. Hancock, P. Hanes, C. E. Hawley, R. Kiger,

- W. Killoy, J. T. Mellonig, A. Polson, F. J. Raab, M. Ryder, N. H. Stoller, H. L. Wang, L. E. Wolinsky, G. H. Evans, C. Q. Harrold, R. M. Arnold, G. L. Southard, and ve ark.. 1999. 'Two multi-center studies evaluating locally delivered doxycycline hyclate, placebo control, oral hygiene, and scaling and root planing in the treatment of periodontitis', *J Periodontol*, 70: 490-503.
- Gautami, P. S., A. V. Ramaraju, and M. Gunashekhar. 2012. 'Adjunctive use of tetracycline fibers with nonsurgical periodontal therapy in an adult with Down syndrome: a case report', *Spec Care Dentist*, 32: 61-5.
- Ghosh, Biplab, Satyabrata Gogoi, Suman Thakur, and Niranjana Karak. 2016. 'Bio-based waterborne polyurethane/carbon dot nanocomposite as a surface coating material', *Progress in Organic Coatings*, 90: 324-30.
- Golub, L. M., and H. M. Lee. 2020. 'Periodontal therapeutics: Current host-modulation agents and future directions', *Periodontol 2000*, 82: 186-204.
- Gomes, S. C., R. Romagna, V. Rossi, P. C. Corvello, and P. D. Angst. 2014. 'Supragingival treatment as an aid to reduce subgingival needs: a 450-day investigation', *Braz Oral Res*, 28.
- Gonçalves, P. F., H. Huang, S. McAninley, B. Alfant, P. Harrison, I. Aukhil, C. Walker, and L. M. Shaddox. 2013. 'Periodontal treatment reduces matrix metalloproteinase levels in localized aggressive periodontitis', *J Periodontol*, 84: 1801-8.
- Goy, Rejane C, Douglas de Britto, and Odilio BG Assis. 2009. 'A review of the antimicrobial activity of chitosan', *Polímeros*, 19: 241-47.
- Grassi, R., G. M. Nardi, M. Mazur, R. Di Giorgio, L. Ottolenghi, and F. Guerra. 2022. 'The Dental-BIOfilm Detection TECHnique (D-BioTECH): A Proof of Concept of a Patient-Based Oral Hygiene', *Medicina (Kaunas)*, 58.
- Gron, P., G. J. Van Campen, and I. Lindstrom. 1967. 'Human dental calculus. Inorganic chemical and crystallographic composition', *Arch Oral Biol*, 12: 829-37.
- Gu, Y., H. M. Lee, T. Sorsa, S. R. Simon, and L. M. Golub. 2010. 'Doxycycline [corrected] inhibits mononuclear cell-mediated connective tissue breakdown', *FEMS Immunol Med Microbiol*, 58: 218-25.
- Guadarrama-Escobar, O. R., P. Serrano-Castañeda, E. Anguiano-Almazán, A. Vázquez-Durán, M. C. Peña-Juárez, R. Vera-Graziano, M. I. Morales-Florido, B. Rodríguez-Pérez, I. M. Rodríguez-Cruz, J. E. Miranda-Calderón, and J. J. Escobar-Chávez. 2023. 'Chitosan Nanoparticles as Oral Drug Carriers', *Int J Mol Sci*, 24.
- Guo, L., X. He, and W. Shi. 2014. 'Intercellular communications in multispecies oral microbial communities', *Front Microbiol*, 5: 328.
- H, R. R., D. Dhamecha, S. Jagwani, M. Rao, K. Jadhav, S. Shaikh, L. Puzhankara, and S. Jalalpure. 2019. 'Local drug delivery systems in the management of periodontitis: A scientific review', *J Control Release*, 307: 393-409.
- Hajishengallis, G. 2015. 'Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation', *Nat Rev Immunol*, 15: 30-44.
- Hajishengallis, G., R. P. Darveau, and M. A. Curtis. 2012. 'The keystone-pathogen hypothesis', *Nat Rev Microbiol*, 10: 717-25.
- Hajishengallis, G., T. Kajikawa, E. Hajishengallis, T. Maekawa, E. S. Reis, D. C. Mastellos, D. Yancopoulou, H. Hasturk, and J. D. Lambris. 2019.

- 'Complement-Dependent Mechanisms and Interventions in Periodontal Disease', *Front Immunol*, 10: 406.
- Hamblin, M. R., and T. Hasan. 2004. 'Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease?', *Photochem Photobiol Sci*, 3: 436-50.
- Hanes, P. J., and J. P. Purvis. 2003. 'Local anti-infective therapy: pharmacological agents. A systematic review', *Ann Periodontol*, 8: 79-98.
- Hau, H., R. Rohanizadeh, M. Ghadiri, and W. Chrzanowski. 2014. 'A mini-review on novel intraperiodontal pocket drug delivery materials for the treatment of periodontal diseases', *Drug Deliv Transl Res*, 4: 295-301.
- Haubek, D., O. K. Ennibi, K. Poulsen, M. Vaeth, S. Poulsen, and M. Kilian. 2008. 'Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study', *Lancet*, 371: 237-42.
- He, X., F. X. Reichl, Y. Wang, B. Michalke, S. Milz, Y. Yang, P. Stolper, G. Lindemaier, M. Graw, R. Hickel, and C. Högg. 2016. 'Analysis of titanium and other metals in human jawbones with dental implants - A case series study', *Dent Mater*, 32: 1042-51.
- Heitz-Mayfield, L. J. 2009. 'Systemic antibiotics in periodontal therapy', *Aust Dent J*, 54 Suppl 1: S96-101.
- Helander, I. M., E. L. Nurmiaho-Lassila, R. Ahvenainen, J. Rhoades, and S. Roller. 2001. 'Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria', *Int J Food Microbiol*, 71: 235-44.
- Hemeg, H. A. 2017. 'Nanomaterials for alternative antibacterial therapy', *Int J Nanomedicine*, 12: 8211-25.
- Henderson, B., J. M. Ward, and D. Ready. 2010. '*Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*: a triple A* periodontopathogen?', *Periodontol 2000*, 54: 78-105.
- Herbert, B. A., C. M. Novince, and K. L. Kirkwood. 2016. '*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, a potent immunoregulator of the periodontal host defense system and alveolar bone homeostasis', *Mol Oral Microbiol*, 31: 207-27.
- Herrera, D., B. Alonso, R. León, S. Roldán, and M. Sanz. 2008. 'Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm', *J Clin Periodontol*, 35: 45-66.
- Hieke, C., K. Kriebel, R. Engelmann, B. Müller-Hilke, H. Lang, and B. Kreikemeyer. 2016. 'Human dental stem cells suppress PMN activity after infection with the periodontopathogens *Prevotella intermedia* and *Tannerella forsythia*', *Sci Rep*, 6: 39096.
- How, K. Y., K. P. Song, and K. G. Chan. 2016. '*Porphyromonas gingivalis*: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line', *Front Microbiol*, 7: 53.
- Höglund Åberg, C., G. Antonoglou, D. Haubek, F. Kwamin, R. Claesson, and A. Johansson. 2013. 'Cytotoxic distending toxin in isolates of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* from Ghanaian adolescents and association with serotype and disease progression', *PLoS One*, 8: e65781.
- Höglund Åberg, C., D. Haubek, F. Kwamin, A. Johansson, and R. Claesson. 2014. 'Leukotoxic activity of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and periodontal attachment loss', *PLoS One*, 9: e104095.

- Hu, L., Q. Mao, P. Zhou, X. Lv, H. Hua, and Z. Yan. 2019. 'Effects of Streptococcus salivarius K12 with nystatin on oral candidiasis-RCT', *Oral Dis*, 25: 1573-80.
- Huang, Y., X. Zhao, L. Cui, and S. Huang. 2021. 'Metagenomic and Metatranscriptomic Insight Into Oral Biofilms in Periodontitis and Related Systemic Diseases', *Front Microbiol*, 12: 728585.
- Jaferník, K., A. Ładniak, E. Blicharska, K. Czarnek, H. Ekiert, A. E. Wiącek, and A. Szopa. 2023. 'Chitosan-Based Nanoparticles as Effective Drug Delivery Systems-A review', *Molecules*, 28.
- Jain, N., G. K. Jain, S. Javed, Z. Iqbal, S. Talegaonkar, F. J. Ahmad, and R. K. Khar. 2008. 'Recent approaches for the treatment of periodontitis', *Drug Discov Today*, 13: 932-43.
- James, P., H. V. Worthington, C. Parnell, M. Harding, T. Lamont, A. Cheung, H. Whelton, and P. Riley. 2017. 'Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health', *Cochrane Database Syst Rev*, 3: Cd008676.
- Jandt, K. D., and D. C. Watts. 2020. 'Nanotechnology in dentistry: Present and future perspectives on dental nanomaterials', *Dent Mater*, 36: 1365-78.
- Janus, Ł., M. Piątkowski, and A. J. Radwan-Pragłowska. 2019. 'Microwave-Assisted Synthesis and Characterization of Poly(L-lysine)-Based Polymer/Carbon Quantum Dot Nanomaterials for Biomedical Purposes', *Materials (Basel)*, 12.
- Jentsch, H. F., A. Buchmann, A. Friedrich, and S. Eick. 2016. 'Nonsurgical therapy of chronic periodontitis with adjunctive systemic azithromycin or amoxicillin/metronidazole', *Clin Oral Investig*, 20: 1765-73.
- Jhonsi, M. A., D. A. Ananth, G. Nambirajan, T. Sivasudha, R. Yamini, S. Bera, and A. Kathiravan. 2018. 'Antimicrobial activity, cytotoxicity and DNA binding studies of carbon dots', *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 196: 295-302.
- Jia, L., N. Han, J. Du, L. Guo, Z. Luo, and Y. Liu. 2019. 'Pathogenesis of Important Virulence Factors of Porphyromonas gingivalis via Toll-Like Receptors', *Front Cell Infect Microbiol*, 9: 262.
- Jijie, R., A. Barras, J. Bouckaert, N. Dumitrascu, S. Szunerits, and R. Boukherroub. 2018. 'Enhanced antibacterial activity of carbon dots functionalized with ampicillin combined with visible light triggered photodynamic effects', *Colloids Surf B Biointerfaces*, 170: 347-54.
- Jinadasa, R. N., S. E. Bloom, R. S. Weiss, and G. E. Duhamel. 2011. 'Cytolethal distending toxin: a conserved bacterial genotoxin that blocks cell cycle progression, leading to apoptosis of a broad range of mammalian cell lineages', *Microbiology (Reading)*, 157: 1851-75.
- Johansson, A. 2011. 'Aggregatibacter actinomycetemcomitans leukotoxin: a powerful tool with capacity to cause imbalance in the host inflammatory response', *Toxins (Basel)*, 3: 242-59.
- Jung, T., W. Kamm, A. Breitenbach, E. Kaiserling, J. X. Xiao, and T. Kissel. 2000. 'Biodegradable nanoparticles for oral delivery of peptides: is there a role for polymers to affect mucosal uptake?', *Eur J Pharm Biopharm*, 50: 147-60.
- Karched, M., R. G. Bhardwaj, M. Qudeimat, A. Al-Khabbaz, and A. Ellepola. 2022. 'Proteomic analysis of the periodontal pathogen Prevotella intermedia secretomes in biofilm and planktonic lifestyles', *Sci Rep*, 12: 5636.
- Karlsson, Hanna L, Pontus Cronholm, Johanna Gustafsson, and Lennart Moller. 2008. 'Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal

- oxide nanoparticles and carbon nanotubes', *Chemical research in toxicology*, 21: 1726-32.
- Karpiński, T. M., and A. K. Szkaradkiewicz. 2015. 'Chlorhexidine--pharmacobiological activity and application', *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 19: 1321-6.
- Kato, H., A. Yoshida, S. Awano, T. Ansai, and T. Takehara. 2005. 'Quantitative detection of volatile sulfur compound- producing microorganisms in oral specimens using real-time PCR', *Oral Dis*, 11 Suppl 1: 67-71.
- Kaur, G., V. Grover, N. Bhaskar, R. K. Kaur, and A. Jain. 2018. 'Periodontal Infectogenomics', *Inflamm Regen*, 38: 8.
- Khan, F., D. T. N. Pham, S. F. Oloketuyi, P. Manivasagan, J. Oh, and Y. M. Kim. 2020. 'Chitosan and their derivatives: Antibiofilm drugs against pathogenic bacteria', *Colloids Surf B Biointerfaces*, 185: 110627.
- Khattari, S., S. Kumbargere Nagraj, A. Arora, P. Eachempati, C. K. Kusum, K. G. Bhat, T. M. Johnson, and G. Lodi. 2020. 'Adjunctive systemic antimicrobials for the non-surgical treatment of periodontitis', *Cochrane Database Syst Rev*, 11: Cd012568.
- Killooy, W. J. 1998. 'The use of locally delivered chlorhexidine in the treatment of periodontitis. Clinical results', *J Clin Periodontol*, 25: 953-8; discussion 78-9.
- Kim, J., and S. Amar. 2006. 'Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship', *Odontology*, 94: 10-21.
- Kinane, D. F. 2000. 'Local antimicrobial therapies in periodontal disease', *Ann R Australas Coll Dent Surg*, 15: 57-60.
- Kinane, D. F., and G. Hajishengallis. 2009. 'Polymicrobial infections, biofilms, and beyond', *J Clin Periodontol*, 36: 404-5.
- Kinane, D. F., P. G. Stathopoulou, and P. N. Papapanou. 2017. 'Periodontal diseases', *Nat Rev Dis Primers*, 3: 17038.
- Kishen, Anil. 2016. *Nanotechnology in endodontics* (Springer).
- Kishi, M., Y. Ohara-Nemoto, M. Takahashi, K. Kishi, S. Kimura, F. Aizawa, and M. Yonemitsu. 2013. 'Prediction of periodontopathic bacteria in dental plaque of periodontal healthy subjects by measurement of volatile sulfur compounds in mouth air', *Arch Oral Biol*, 58: 324-30.
- Klein, M. I., G. Hwang, P. H. Santos, O. H. Campanella, and H. Koo. 2015. 'Streptococcus mutans-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms', *Front Cell Infect Microbiol*, 5: 10.
- Kong, Ling Xue, Zheng Peng, Si Dong Li, and P Mark Bartold. 2006. 'Nanotechnology and its role in the management of periodontal diseases', *Periodontology 2000*, 40: 184.
- Kong, M., X. G. Chen, K. Xing, and H. J. Park. 2010. 'Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review', *Int J Food Microbiol*, 144: 51-63.
- Konopka, K., and T. Goslinski. 2007. 'Photodynamic therapy in dentistry', *J Dent Res*, 86: 694-707.
- Kopp-Hoolihan, L. 2001. 'Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review', *J Am Diet Assoc*, 101: 229-38; quiz 39-41.
- Krishna, R., and J. A. De Stefano. 2016. 'Ultrasonic vs. hand instrumentation in periodontal therapy: clinical outcomes', *Periodontol 2000*, 71: 113-27.
- Kriswandini, I. L., D. I, Tantiana, N. P, B. T, P. Ia, and T. Pnbn. 2020. 'The forming of bacteria biofilm from Streptococcus mutans and Aggregatibacter

- actinomycetemcomitans as a marker for early detection in dental caries and periodontitis', *Infect Dis Rep*, 12: 8722.
- Kruse, A. B., B. J. Wölki, J. P. Woelber, E. Frisch, K. Vach, and P. Ratka-Krüger. 2022. 'Subgingival air polishing with trehalose powder during supportive periodontal therapy: use of a conical shaped tip during a randomized clinical trial', *BMC Oral Health*, 22: 70.
- Krzyściak, W., A. Jurczak, D. Kościelniak, B. Bystrowska, and A. Skalniak. 2014. 'The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms', *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 33: 499-515.
- Kumar, M. S., G. Vamsi, R. Sripriya, and P. K. Sehgal. 2006. 'Expression of matrix metalloproteinases (MMP-8 and -9) in chronic periodontitis patients with and without diabetes mellitus', *J Periodontol*, 77: 1803-8.
- Lang, N. P., G. E. Salvi, and A. Sculean. 2019. 'Nonsurgical therapy for teeth and implants-When and why?', *Periodontol 2000*, 79: 15-21.
- Lang, Niklaus Peter, and Thorkild Karring. 1994. *Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology, Charter House at Ittingen, Thurgau, Switzerland, February 1-4, 1993* (Quintessence Publishing Company).
- Lawrence, G. W., N. McCarthy, C. J. Walsh, T. M. Kunyoshi, E. M. Lawton, P. M. O'Connor, M. Begley, P. D. Cotter, and C. M. Guinane. 2022. 'Effect of a bacteriocin-producing *Streptococcus salivarius* on the pathogen *Fusobacterium nucleatum* in a model of the human distal colon', *Gut Microbes*, 14: 2100203.
- Leung, Ken C., Chaminda J. Seneviratne, Xuan Li, Ping C. Leung, Clara B. Lau, Chi-Hin Wong, Ka Y. Pang, Chun W. Wong, Elaine Wat, and Lijian Jin. 2016. "Synergistic Antibacterial Effects of Nanoparticles Encapsulated with *Scutellaria baicalensis* and Pure Chlorhexidine on Oral Bacterial Biofilms." In *Nanomaterials*.
- Li, Q., K. Luo, Z. Su, F. Huang, Y. Wu, F. Zhou, Y. Li, X. Peng, J. Li, and B. Ren. 2022. 'Dental calculus: A repository of bioinformation indicating diseases and human evolution', *Front Cell Infect Microbiol*, 12: 1035324.
- Li, X., Y. C. Yeh, K. Giri, R. Mout, R. F. Landis, Y. S. Prakash, and V. M. Rotello. 2015. 'Control of nanoparticle penetration into biofilms through surface design', *Chem Commun (Camb)*, 51: 282-5.
- Li, Y. J., S. G. Harroun, Y. C. Su, C. F. Huang, B. Unnikrishnan, H. J. Lin, C. H. Lin, and C. C. Huang. 2016. 'Synthesis of Self-Assembled Spermidine-Carbon Quantum Dots Effective against Multidrug-Resistant Bacteria', *Adv Healthc Mater*, 5: 2545-54.
- Lindhe, J., and S. Nyman. 1985. 'Scaling and granulation tissue removal in periodontal therapy', *J Clin Periodontol*, 12: 374-88.
- Listgarten, M. A., and L. Helldén. 1978. 'Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans', *J Clin Periodontol*, 5: 115-32.
- Liu, H., E. B. Slamovich, and T. J. Webster. 2006. 'Less harmful acidic degradation of poly(lactico-glycolic acid) bone tissue engineering scaffolds through titania nanoparticle addition', *Int J Nanomedicine*, 1: 541-5.
- Loesche, W. J., S. A. Syed, B. E. Laughon, and J. Stoll. 1982. 'The bacteriology of acute necrotizing ulcerative gingivitis', *J Periodontol*, 53: 223-30.
- MacDonald, I. A., and M. J. Kuehn. 2012. 'Offense and defense: microbial membrane vesicles play both ways', *Res Microbiol*, 163: 607-18.

- Macdonald, Ian J, and Thomas J Dougherty. 2001. 'Basic principles of photodynamic therapy', *Journal of porphyrins and Phthalocyanines*, 5: 105-29.
- MacDonald, K. W., R. M. Chanyi, J. M. Macklaim, P. A. Cadieux, G. Reid, and J. P. Burton. 2021. 'Streptococcus salivarius inhibits immune activation by periodontal disease pathogens', *BMC Oral Health*, 21: 245.
- Macias, J. H., M. F. Alvarez, V. Arreguin, J. M. Muñoz, A. E. Macias, and J. A. Alvarez. 2016. 'Chlorhexidine avoids skin bacteria recolonization more than triclosan', *Am J Infect Control*, 44: 1530-34.
- Magalhães, A. P., F. C. Moreira, D. R. Alves, C. R. Estrela, C. Estrela, M. S. Carrião, A. F. Bakuzis, and L. G. Lopes. 2016. 'Silver nanoparticles in resin luting cements: Antibacterial and physiochemical properties', *J Clin Exp Dent*, 8: e415-e22.
- Marcaccini, A. M., C. A. Meschiari, L. R. Zuardi, T. S. de Sousa, M. Taba, Jr., J. M. Teofilo, A. L. Jacob-Ferreira, J. E. Tanus-Santos, A. B. Novaes, Jr., and R. F. Gerlach. 2010. 'Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy', *J Clin Periodontol*, 37: 180-90.
- Marsh, P. D. 1994. 'Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease', *Adv Dent Res*, 8: 263-71.
- Mashburn-Warren, L., D. A. Morrison, and M. J. Federle. 2010. 'A novel double-tryptophan peptide pheromone controls competence in Streptococcus spp. via an Rgg regulator', *Mol Microbiol*, 78: 589-606.
- McDonnell, G., and A. D. Russell. 1999. 'Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance', *Clin Microbiol Rev*, 12: 147-79.
- Medzhitov, R. 2001. 'Toll-like receptors and innate immunity', *Nat Rev Immunol*, 1: 135-45.
- Meziani, M. J., X. Dong, L. Zhu, L. P. Jones, G. E. LeCroy, F. Yang, S. Wang, P. Wang, Y. Zhao, L. Yang, R. A. Tripp, and Y. P. Sun. 2016. 'Visible-Light-Activated Bactericidal Functions of Carbon "Quantum" Dots', *ACS Appl Mater Interfaces*, 8: 10761-6.
- Miani, P. K., C. do Nascimento, S. Sato, A. V. Filho, M. J. da Fonseca, and V. Pedrazzi. 2012. 'In vivo evaluation of a metronidazole-containing gel for the adjuvant treatment of chronic periodontitis: preliminary results', *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 31: 1611-8.
- Miao, H., P. Wang, Y. Cong, W. Dong, and L. Li. 2023. 'Preparation of Ciprofloxacin-Based Carbon Dots with High Antibacterial Activity', *Int J Mol Sci*, 24.
- Mikušová, V., and P. Mikuš. 2021. 'Advances in Chitosan-Based Nanoparticles for Drug Delivery', *Int J Mol Sci*, 22.
- Miranda, T. S., M. Feres, P. J. Perez-Chaparro, M. Faveri, L. C. Figueiredo, N. S. Tamashiro, M. F. Bastos, and P. M. Duarte. 2014. 'Metronidazole and amoxicillin as adjuncts to scaling and root planing for the treatment of type 2 diabetic subjects with periodontitis: 1-year outcomes of a randomized placebo-controlled clinical trial', *J Clin Periodontol*, 41: 890-9.
- Mok, Z. H., G. Proctor, and M. Thanou. 2020. 'Emerging nanomaterials for dental treatments', *Emerg Top Life Sci*, 4: 613-25.
- Mombelli, A. 2012. 'Antimicrobial advances in treating periodontal diseases', *Front Oral Biol*, 15: 133-48.
- Moreillon, P., and Y. A. Que. 2004. 'Infective endocarditis', *Lancet*, 363: 139-49.

- Motamedifar, M., H. Khosropanah, and S. Dabiri. 2016. 'Antimicrobial Activity of Peganum Harmala L. on Streptococcus mutans Compared to 0.2% Chlorhexidine', *J Dent (Shiraz)*, 17: 213-8.
- Mout, R., D. F. Moyano, S. Rana, and V. M. Rotello. 2012. 'Surface functionalization of nanoparticles for nanomedicine', *Chem Soc Rev*, 41: 2539-44.
- Muniz, F. W., C. C. de Oliveira, R. de Sousa Carvalho, M. M. Moreira, M. E. de Moraes, and R. S. Martins. 2013. 'Azithromycin: a new concept in adjuvant treatment of periodontitis', *Eur J Pharmacol*, 705: 135-9.
- Mysak, J., S. Podzimek, P. Sommerova, Y. Lyuya-Mi, J. Bartova, T. Janatova, J. Prochazkova, and J. Duskova. 2014. 'Porphyromonas gingivalis: major periodontopathogenic pathogen overview', *J Immunol Res*, 2014: 476068.
- Nagaoka, K., K. Yanagihara, Y. Morinaga, S. Nakamura, T. Harada, H. Hasegawa, K. Izumikawa, Y. Ishimatsu, H. Kakeya, M. Nishimura, and S. Kohno. 2014. 'Prevotella intermedia induces severe bacteremic pneumococcal pneumonia in mice with upregulated platelet-activating factor receptor expression', *Infect Immun*, 82: 587-93.
- Najafi, S., M. Khayamzadeh, M. Paknejad, G. Poursepanj, M. J. Kharazi Fard, and A. Bahador. 2016. 'An In Vitro Comparison of Antimicrobial Effects of Curcumin-Based Photodynamic Therapy and Chlorhexidine, on Aggregatibacter actinomycetemcomitans', *J Lasers Med Sci*, 7: 21-5.
- Nakano, K., H. Inaba, R. Nomura, H. Nemoto, M. Takeda, H. Yoshioka, H. Matsue, T. Takahashi, K. Taniguchi, A. Amano, and T. Ooshima. 2006. 'Detection of cariogenic Streptococcus mutans in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens', *J Clin Microbiol*, 44: 3313-7.
- Nannan, M., L. Xiaoping, and J. Ying. 2022. 'Periodontal disease in pregnancy and adverse pregnancy outcomes: Progress in related mechanisms and management strategies', *Front Med (Lausanne)*, 9: 963956.
- Nascimento, G. G., F. R. M. Leite, P. R. C. Pennisi, R. López, and L. R. Paranhos. 2021. 'Use of air polishing for supra- and subgingival biofilm removal for treatment of residual periodontal pockets and supportive periodontal care: a systematic review', *Clin Oral Investig*, 25: 779-95.
- Nel, A. E., L. Mädler, D. Velegol, T. Xia, E. M. Hoek, P. Somasundaran, F. Klaessig, V. Castranova, and M. Thompson. 2009a. 'Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface', *Nat Mater*, 8: 543-57.
- Nel, Andre E, Lutz Mädler, Darrell Velegol, Tian Xia, Eric MV Hoek, Ponisseril Somasundaran, Fred Klaessig, Vince Castranova, and Mike Thompson. 2009b. 'Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface', *Nature materials*, 8: 543-57.
- Nikitkova, A. E., E. M. Haase, and F. A. Scannapieco. 2013. 'Taking the starch out of oral biofilm formation: molecular basis and functional significance of salivary α -amylase binding to oral streptococci', *Appl Environ Microbiol*, 79: 416-23.
- Olsen, I., J. D. Lambris, and G. Hajishengallis. 2017. 'Porphyromonas gingivalis disturbs host-commensal homeostasis by changing complement function', *J Oral Microbiol*, 9: 1340085.
- Olsen, I., and Ö Yilmaz. 2016. 'Modulation of inflammasome activity by Porphyromonas gingivalis in periodontitis and associated systemic diseases', *J Oral Microbiol*, 8: 30385.

- Orsini, S. S., A. M. Lewis, and K. C. Rice. 2017. 'Investigation of simulated microgravity effects on *Streptococcus mutans* physiology and global gene expression', *NPJ Microgravity*, 3: 4.
- Oscarsson, J., R. Claesson, M. Lindholm, C. Höglund Åberg, and A. Johansson. 2019. 'Tools of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* to Evade the Host Response', *J Clin Med*, 8.
- Ögrendik, M. 2017. 'Oral Anaerobic Bacteria in the Etiology of Ankylosing Spondylitis', *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord*, 10: 1179544117712992.
- Page, R. C. 2004. 'The microbiological case for adjunctive therapy for periodontitis', *J Int Acad Periodontol*, 6: 143-9.
- Pal, A., S. Paul, R. Perry, and J. Purver. 2019. 'Is the Use of Antimicrobial Photodynamic Therapy or Systemic Antibiotics More Effective in Improving Periodontal Health When Used in Conjunction with Localised Non-Surgical Periodontal Therapy? A Systematic Review', *Dent J (Basel)*, 7.
- Pandiyan, I., P. K. Rathinavelu, M. I. Arumugham, S. D., and A. Balasubramaniam. 2022. 'Efficacy of Chitosan and Chlorhexidine Mouthwash on Dental Plaque and Gingival Inflammation: A Systematic Review', *Cureus*, 14: e23318.
- Papapanou, P. N., M. Sanz, N. Buduneli, T. Dietrich, M. Feres, D. H. Fine, T. F. Flemmig, R. Garcia, W. V. Giannobile, F. Graziani, H. Greenwell, D. Herrera, R. T. Kao, M. Kebschull, D. F. Kinane, K. L. Kirkwood, T. Kocher, K. S. Kornman, P. S. Kumar, B. G. Loos, E. Machtei, H. Meng, A. Mombelli, I. Needleman, S. Offenbacher, G. J. Seymour, R. Teles, and M. S. Tonetti. 2018. 'Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions', *J Clin Periodontol*, 45 Suppl 20: S162-s70.
- Paquette, D. W., M. E. Ryan, and R. S. Wilder. 2008. 'Locally delivered antimicrobials: clinical evidence and relevance', *J Dent Hyg*, 82 Suppl 3: 10-5.
- Parnham, M. J., V. Erakovic Haber, E. J. Giamarellos-Bourboulis, G. Perletti, G. M. Verleden, and R. Vos. 2014. 'Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications', *Pharmacol Ther*, 143: 225-45.
- Patravale, V. B., A. A. Date, and R. M. Kulkarni. 2004. 'Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy', *J Pharm Pharmacol*, 56: 827-40.
- Pattnaik, S., N. Anand, S. C. Chandrasekaran, L. Chandrashekar, K. Mahalakshmi, and A. Satpathy. 2015. 'Clinical and antimicrobial efficacy of a controlled-release device containing chlorhexidine in the treatment of chronic periodontitis', *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 34: 2103-10.
- Persson, G. R., G. E. Salvi, L. J. Heitz-Mayfield, and N. P. Lang. 2006. 'Antimicrobial therapy using a local drug delivery system (Arestin) in the treatment of peri-implantitis. I: Microbiological outcomes', *Clin Oral Implants Res*, 17: 386-93.
- Petersilka, G. J. 2011. 'Subgingival air-polishing in the treatment of periodontal biofilm infections', *Periodontol 2000*, 55: 124-42.
- Petrescu, N., B. Crisan, O. Aghiorghiesei, C. Sarosi, I. C. Mirica, O. Lucaciu, S. A. L. Iuşan, N. Dirzu, and D. Apostu. 2022. 'Gradual Drug Release Membranes and Films Used for the Treatment of Periodontal Disease', *Membranes (Basel)*, 12.
- Piras, A. M., S. Esin, A. Benedetti, G. Maisetta, A. Fabiano, Y. Zambito, and G. Batoni. 2019. 'Antibacterial, Antibiofilm, and Antiadhesive Properties of Different Quaternized Chitosan Derivatives', *Int J Mol Sci*, 20.

- Poppolo Deus, F., and A. Ouanounou. 2022. 'Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects', *Int Dent J*, 72: 269-77.
- Potempa, M., J. Potempa, T. Kantyka, K. A. Nguyen, K. Wawrzzonek, S. P. Manandhar, K. Popadiak, K. Riesbeck, S. Eick, and A. M. Blom. 2009. 'Interpaina A, a cysteine proteinase from *Prevotella intermedia*, inhibits complement by degrading complement factor C3', *PLoS Pathog*, 5: e1000316.
- Pretzl, B., S. Sälzer, B. Ehmke, U. Schlagenhauf, B. Dannewitz, H. Dommisch, P. Eickholz, and Y. Jockel-Schneider. 2019. 'Administration of systemic antibiotics during non-surgical periodontal therapy-a consensus report', *Clin Oral Investig*, 23: 3073-85.
- Puri, K., and N. Puri. 2013. 'Local drug delivery agents as adjuncts to endodontic and periodontal therapy', *J Med Life*, 6: 414-9.
- Qi, Lifeng, Zirong Xu, Xia Jiang, Caihong Hu, and Xiangfei Zou. 2004. 'Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles', *Carbohydrate Research*, 339: 2693-700.
- Raafat, D., K. von Bargen, A. Haas, and H. G. Sahl. 2008. 'Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound', *Appl Environ Microbiol*, 74: 3764-73.
- Raja, M., F. Ummer, and C. P. Dhivakar. 2014. 'Aggregatibacter actinomycetemcomitans - a tooth killer?', *J Clin Diagn Res*, 8: Ze13-6.
- Rams, T. E., and J. Slots. 1996. 'Local delivery of antimicrobial agents in the periodontal pocket', *Periodontol 2000*, 10: 139-59.
- Rathor, S., D. C. Bhatt, S. Aamir, S. K. Singh, and V. Kumar. 2017. 'A Comprehensive Review on Role of Nanoparticles in Therapeutic Delivery of Medicine', *Pharm Nanotechnol*, 5: 263-75.
- Reischl, D., and A. Zimmer. 2009. 'Drug delivery of siRNA therapeutics: potentials and limits of nanosystems', *Nanomedicine*, 5: 8-20.
- Roberts-Harry, E. A., and V. Clerehugh. 2000. 'Subgingival calculus: where are we now? A comparative review', *J Dent*, 28: 93-102.
- Roberts, H. M., Z. Yonel, A. Kantarci, M. M. Grant, and I. L. C. Chapple. 2022. 'Impact of Gingivitis on Circulating Neutrophil Reactivity and Gingival Crevicular Fluid Inflammatory Proteins', *Int J Environ Res Public Health*, 19.
- Robinson, J. C., N. Rostami, J. Casement, W. Vollmer, A. H. Rickard, and N. S. Jakubovics. 2018. 'ArcR modulates biofilm formation in the dental plaque colonizer *Streptococcus gordonii*', *Mol Oral Microbiol*, 33: 143-54.
- Rodrigues, I. F., L. Machion, M. Z. Casati, F. H. Nociti, Jr., S. de Toledo, A. W. Sallum, and E. A. Sallum. 2007. 'Clinical evaluation of the use of locally delivered chlorhexidine in periodontal maintenance therapy', *J Periodontol*, 78: 624-8.
- Rosa, Cddrd, J. M. L. Gomes, S. L. D. Moraes, C. A. A. Lemos, T. P. da Fonte, Jpjo Limirio, and E. P. Pellizzer. 2021. 'Use of chlorhexidine chip after scaling and root planning on periodontal disease: A systematic review and meta-analysis', *Saudi Dent J*, 33: 1-10.
- Rosenberg, M., I. Septon, I. Eli, R. Bar-Ness, I. Gelernter, S. Brenner, and J. Gabbay. 1991. 'Halitosis measurement by an industrial sulphide monitor', *J Periodontol*, 62: 487-9.

- Rosier, B. T., M. De Jager, E. Zaura, and B. P. Krom. 2014. 'Historical and contemporary hypotheses on the development of oral diseases: are we there yet?', *Front Cell Infect Microbiol*, 4: 92.
- Russo, E., N. Gaglianone, S. Baldassari, B. Parodi, S. Cafaggi, C. Zibana, M. Donalisio, V. Cagno, D. Lembo, and G. Caviglioli. 2014. 'Preparation, characterization and in vitro antiviral activity evaluation of foscarnet-chitosan nanoparticles', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 118: 117-25.
- S, E., R. N. T, K. R. V, G. Baranwal, R. Biswas, J. R, and S. S. 2017. 'Fucoidan coated ciprofloxacin loaded chitosan nanoparticles for the treatment of intracellular and biofilm infections of Salmonella', *Colloids Surf B Biointerfaces*, 160: 40-47.
- Saafan, A., M. H. Zaazou, M. K. Sallam, O. Mosallam, and H. A. El Danaf. 2018. 'Assessment of Photodynamic Therapy and Nanoparticles Effects on Caries Models', *Open Access Maced J Med Sci*, 6: 1289-95.
- Sachdeva, S., and V. Agarwal. 2011. 'Evaluation of commercially available biodegradable tetracycline fiber therapy in chronic periodontitis', *J Indian Soc Periodontol*, 15: 130-4.
- Sadeghi, A.M.M., M. Amini, M.R. Avadi, F. Siedi, M. Rafiee-Tehrani, and H.E. Junginger. 2008. 'Synthesis, Characterization, and Antibacterial Effects of Trimethylated and Triethylated 6-NH₂-6-Deoxy Chitosan', *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 23: 262-75.
- Sah, A. K., M. Dewangan, and P. K. Suresh. 2019. 'Potential of chitosan-based carrier for periodontal drug delivery', *Colloids Surf B Biointerfaces*, 178: 185-98.
- Saha, K., A. Bajaj, B. Duncan, and V. M. Rotello. 2011. 'Beauty is skin deep: a surface monolayer perspective on nanoparticle interactions with cells and biomacromolecules', *Small*, 7: 1903-18.
- Salem, II, D. L. Flasher, and N. Düzgüneş. 2005. 'Liposome-encapsulated antibiotics', *Methods Enzymol*, 391: 261-91.
- Samy, M., S. H. Abd El-Alim, A. E. G. Rabia, A. Amin, and M. M. H. Ayoub. 2020. 'Formulation, characterization and in vitro release study of 5-fluorouracil loaded chitosan nanoparticles', *Int J Biol Macromol*, 156: 783-91.
- Sanz, I., B. Alonso, M. Carasol, D. Herrera, and M. Sanz. 2012. 'Nonsurgical treatment of periodontitis', *J Evid Based Dent Pract*, 12: 76-86.
- Sanz, M., D. Herrera, M. Kebschull, I. Chapple, S. Jepsen, T. Beglundh, A. Sculean, and M. S. Tonetti. 2020. 'Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline', *J Clin Periodontol*, 47 Suppl 22: 4-60.
- Sanz, M., and K. Kornman. 2013. 'Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases', *J Periodontol*, 84: S164-9.
- Schenk, G., T. F. Flemmig, S. Lob, G. Ruckdeschel, and R. Hickel. 2000. 'Lack of antimicrobial effect on periodontopathic bacteria by ultrasonic and sonic scalers in vitro', *J Clin Periodontol*, 27: 116-9.
- Schmalz, G., R. Hickel, K. L. van Landuyt, and F. X. Reichl. 2017. 'Nanoparticles in dentistry', *Dent Mater*, 33: 1298-314.
- . 2018. 'Scientific update on nanoparticles in dentistry', *Int Dent J*, 68: 299-305.
- Seetharam, Raviraja N, and Kandikere R Sridhar. 2007. 'Nanotoxicity: Threat posed by nanoparticles [9]', *Current science*, 93: 769-70.

- Sgolastra, F., M. Severino, A. Petrucci, R. Gatto, and A. Monaco. 2014. 'Effectiveness of metronidazole as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis', *J Periodontal Res*, 49: 10-9.
- Shabbir, H., K. Wojtaszek, B. Rutkowski, E. Csapó, M. Bednarski, A. Adamiec, M. Głuch-Lutwin, B. Mordyl, J. Druciarek, M. Kotańska, P. Ozga, and M. Wojnicki. 2022. 'Milk-Derived Carbon Quantum Dots: Study of Biological and Chemical Properties Provides Evidence of Toxicity', *Molecules*, 27.
- Sharma, A., and J. Das. 2019. 'Small molecules derived carbon dots: synthesis and applications in sensing, catalysis, imaging, and biomedicine', *J Nanobiotechnology*, 17: 92.
- Sherman, P. R., L. H. Hutchens, Jr., L. G. Jewson, J. M. Moriarty, G. W. Greco, and W. T. McFall, Jr. 1990. 'The effectiveness of subgingival scaling and root planning. I. Clinical detection of residual calculus', *J Periodontol*, 61: 3-8.
- Sholapurkar, A., D. Sharma, B. Glass, C. Miller, A. Nimmo, and E. Jennings. 2020. 'Professionally Delivered Local Antimicrobials in the Treatment of Patients with Periodontitis-A Narrative Review', *Dent J (Basel)*, 9.
- Shoueir, K. R., N. El-Desouky, M. M. Rashad, M. K. Ahmed, I. Janowska, and M. El-Kemary. 2021. 'Chitosan based-nanoparticles and nanocapsules: Overview, physicochemical features, applications of a nanofibrous scaffold, and bioprinting', *Int J Biol Macromol*, 167: 1176-97.
- Siddiqui, D. A., A. B. Fidai, S. G. Natarajan, and D. C. Rodrigues. 2022. 'Succession of oral bacterial colonizers on dental implant materials: An in vitro biofilm model', *Dent Mater*, 38: 384-96.
- Sima, C., A. Viniegra, and M. Glogauer. 2019. 'Macrophage immunomodulation in chronic osteolytic diseases-the case of periodontitis', *J Leukoc Biol*, 105: 473-87.
- Skurska, A., E. Dolinska, M. Pietruska, J. K. Pietruski, V. Dymicka, H. Kemon, N. B. Arweiler, R. Milewski, and A. Sculean. 2015. 'Effect of nonsurgical periodontal treatment in conjunction with either systemic administration of amoxicillin and metronidazole or additional photodynamic therapy on the concentration of matrix metalloproteinases 8 and 9 in gingival crevicular fluid in patients with aggressive periodontitis', *BMC Oral Health*, 15: 63.
- Slavin, Y. N., J. Asnis, U. O. Häfeli, and H. Bach. 2017. 'Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity', *J Nanobiotechnology*, 15: 65.
- Slots, J., and M. Ting. 2002. 'Systemic antibiotics in the treatment of periodontal disease', *Periodontol 2000*, 28: 106-76.
- Song, W., and S. Ge. 2019. 'Application of Antimicrobial Nanoparticles in Dentistry', *Molecules*, 24.
- Sotozono, M., N. Kuriki, Y. Asahi, Y. Noiri, M. Hayashi, D. Motooka, S. Nakamura, H. Machi, T. Iida, and S. Ebisu. 2021. 'Impacts of sleep on the characteristics of dental biofilm', *Sci Rep*, 11: 138.
- Stanley, A., M. Wilson, and H. N. Newman. 1989. 'The in vitro effects of chlorhexidine on subgingival plaque bacteria', *J Clin Periodontol*, 16: 259-64.
- Stašková, A., M. Sondorová, R. Nemcová, J. Kačírová, and M. Maďar. 2021. 'Antimicrobial and Antibiofilm Activity of the Probiotic Strain *Streptococcus salivarius* K12 against Oral Potential Pathogens', *Antibiotics (Basel)*, 10.

- Stewart, Philip S. 2003. 'Diffusion in biofilms', *Journal of bacteriology*, 185: 1485-91.
- Sun, B., F. Wu, Q. Zhang, X. Chu, Z. Wang, X. Huang, J. Li, C. Yao, N. Zhou, and J. Shen. 2021. 'Insight into the effect of particle size distribution differences on the antibacterial activity of carbon dots', *J Colloid Interface Sci*, 584: 505-19.
- Sun, Y. P., B. Zhou, Y. Lin, W. Wang, K. A. Fernando, P. Pathak, M. J. Meziani, B. A. Harruff, X. Wang, H. Wang, P. G. Luo, H. Yang, M. E. Kose, B. Chen, L. M. Veca, and S. Y. Xie. 2006. 'Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence', *J Am Chem Soc*, 128: 7756-7.
- Szafranski, S. P., Z. L. Deng, J. Tomasch, M. Jarek, S. Bhuj, M. Rohde, H. Sztajer, and I. Wagner-Döbler. 2017. 'Quorum sensing of *Streptococcus mutans* is activated by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and by the periodontal microbiome', *BMC Genomics*, 18: 238.
- Szulc, M., A. Zakrzewska, and J. Zborowski. 2018. 'Local drug delivery in periodontitis treatment: A review of contemporary literature', *Dent Med Probl*, 55: 333-42.
- Tan, Y., S. Ma, M. Leonhard, D. Moser, G. M. Haselmann, J. Wang, D. Eder, and B. Schneider-Stickler. 2018. 'Enhancing antibiofilm activity with functional chitosan nanoparticles targeting biofilm cells and biofilm matrix', *Carbohydr Polym*, 200: 35-42.
- Thakur, M., S. Pandey, A. Mewada, V. Patil, M. Khade, E. Goshi, and M. Sharon. 2014. 'Antibiotic conjugated fluorescent carbon dots as a theranostic agent for controlled drug release, bioimaging, and enhanced antimicrobial activity', *J Drug Deliv*, 2014: 282193.
- Thay, B., A. Damm, T. A. Kufer, S. N. Wai, and J. Oscarsson. 2014. 'Aggregatibacter actinomycetemcomitans outer membrane vesicles are internalized in human host cells and trigger NOD1- and NOD2-dependent NF- κ B activation', *Infect Immun*, 82: 4034-46.
- Thompson, J. A., R. A. Oliveira, and K. B. Xavier. 2016. 'Chemical conversations in the gut microbiota', *Gut Microbes*, 7: 163-70.
- Thurnheer, T., L. Karygianni, M. Flury, and G. N. Belibasakis. 2019. 'Fusobacterium Species and Subspecies Differentially Affect the Composition and Architecture of Supra- and Subgingival Biofilms Models', *Front Microbiol*, 10: 1716.
- Toker, H., H. B. Yuce, A. Yildirim, M. B. Tekin, and F. Gevrek. 2019. 'The effect of colchicine on alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis', *Braz Oral Res*, 33: e001.
- Tonetti, M. S., H. Greenwell, and K. S. Kornman. 2018. 'Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition', *J Periodontol*, 89 Suppl 1: S159-s72.
- Topoll, H. H., D. E. Lange, and R. F. Müller. 1990. 'Multiple periodontal abscesses after systemic antibiotic therapy', *J Clin Periodontol*, 17: 268-72.
- Uhlir, BE, J Oscarsson, SN Wai, and S Morabito. 2014. 'Pathogenic *Escherichia coli*: molecular and cellular microbiology'.
- Valiev, Ruslan Z, Irina P Semenova, Vladimir V Latysh, Henry Rack, Terry C Lowe, Jiri Petruzalka, Ludek Dluhos, Daniel Hrusak, and Jarmila Sochova. 2008. 'Nanostructured titanium for biomedical applications', *Advanced engineering materials*, 10: B15-B17.

- Valm, A. M. 2019. 'The Structure of Dental Plaque Microbial Communities in the Transition from Health to Dental Caries and Periodontal Disease', *J Mol Biol*, 431: 2957-69.
- van den Broek, A. M., L. Feenstra, and C. de Baat. 2008. 'A review of the current literature on management of halitosis', *Oral Dis*, 14: 30-9.
- Van der Weijden, F. A., E. Van der Sluijs, S. G. Ciancio, and D. E. Slot. 2015. 'Can Chemical Mouthwash Agents Achieve Plaque/Gingivitis Control?', *Dent Clin North Am*, 59: 799-829.
- Varghese, Meera, and Manoj Balachandran. 2021. 'Antibacterial efficiency of carbon dots against Gram-positive and Gram-negative bacteria: A review', *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9: 106821.
- Verma, S., R. Chevvuri, and H. Sharma. 2018. 'Nanotechnology in dentistry: Unleashing the hidden gems', *J Indian Soc Periodontol*, 22: 196-200.
- Virlan, M. J., D. Miricescu, R. Radulescu, C. M. Sabliov, A. Totan, B. Calenic, and M. Greabu. 2016. 'Organic Nanomaterials and Their Applications in the Treatment of Oral Diseases', *Molecules*, 21.
- Vyas, T., G. Bhatt, A. Gaur, C. Sharma, A. Sharma, and R. Nagi. 2021. 'Chemical plaque control - A brief review', *J Family Med Prim Care*, 10: 1562-68.
- Walia, M., and N. Saini. 2015. 'Relationship between periodontal diseases and preterm birth: Recent epidemiological and biological data', *Int J Appl Basic Med Res*, 5: 2-6.
- Wang, L. S., A. Gupta, and V. M. Rotello. 2016. 'Nanomaterials for the Treatment of Bacterial Biofilms', *ACS Infect Dis*, 2: 3-4.
- Watanabe, A., M. Kawada-Matsuo, M. N. Le, J. Hisatsune, Y. Oogai, Y. Nakano, M. Nakata, S. Miyawaki, M. Sugai, and H. Komatsuzawa. 2021. 'Comprehensive analysis of bacteriocins in *Streptococcus mutans*', *Sci Rep*, 11: 12963.
- Wescombe, P. A., J. P. Burton, P. A. Cadieux, N. A. Klesse, O. Hyink, N. C. Heng, C. N. Chilcott, G. Reid, and J. R. Tagg. 2006. 'Megaplasms encode differing combinations of lantibiotics in *Streptococcus salivarius*', *Antonie Van Leeuwenhoek*, 90: 269-80.
- Williamson, D. A., G. P. Carter, and B. P. Howden. 2017. 'Current and Emerging Topical Antibacterials and Antiseptics: Agents, Action, and Resistance Patterns', *Clin Microbiol Rev*, 30: 827-60.
- Wilson, Michael, Brian Henderson, and Rod McNab. 2002. *Bacterial disease mechanisms: an introduction to cellular microbiology* (Cambridge University Press).
- Wu, Yan, Wuli Yang, Changchun Wang, Jianhua Hu, and Shoukuan Fu. 2005. 'Chitosan nanoparticles as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate', *International journal of pharmaceutics*, 295: 235-45.
- Xu, W., W. Zhou, H. Wang, and S. Liang. 2020. 'Roles of *Porphyromonas gingivalis* and its virulence factors in periodontitis', *Adv Protein Chem Struct Biol*, 120: 45-84.
- Yamashita, Y., K. Nagaoka, H. Kimura, M. Suzuki, T. Fukumoto, K. Hayasaka, N. Kaku, Y. Morinaga, K. Yanagihara, and S. Konno. 2020. 'Pathogenic Effect of *Prevotella intermedia* on a Mouse Pneumonia Model Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* With Up-Regulated α -Hemolysin Expression', *Front Microbiol*, 11: 587235.

- Yan, Y., Y. Zhan, X. Wang, and J. Hou. 2020. 'Clinical evaluation of ultrasonic subgingival debridement versus ultrasonic subgingival scaling combined with manual root planing in the treatment of periodontitis: study protocol for a randomized controlled trial', *Trials*, 21: 113.
- Yang, B., X. Pang, Z. Li, Z. Chen, and Y. Wang. 2021. 'Immunomodulation in the Treatment of Periodontitis: Progress and Perspectives', *Front Immunol*, 12: 781378.
- Yang, Y. Y., T. S. Chung, and N. P. Ng. 2001. 'Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method', *Biomaterials*, 22: 231-41.
- Yang, Z, ZW Liu, RP Allaker, P Reip, J Oxford, Zeeshan Ahmad, and Guogang Ren. 2010. 'A review of nanoparticle functionality and toxicity on the central nervous system', *Journal of the royal society interface*, 7: S411-S22.
- Yao, W., P. Xu, J. Zhao, L. Ling, X. Li, B. Zhang, N. Cheng, and Z. Pang. 2015. 'RGD functionalized polymeric nanoparticles targeting periodontitis epithelial cells for the enhanced treatment of periodontitis in dogs', *J Colloid Interface Sci*, 458: 14-21.
- Yap, K. C. H., and S. J. Pulikkotil. 2019. 'Systemic doxycycline as an adjunct to scaling and root planing in diabetic patients with periodontitis: a systematic review and meta-analysis', *BMC Oral Health*, 19: 209.
- Ye, C., Z. Xia, J. Tang, T. Khemwong, Y. Kapila, R. Kuraji, P. Huang, Y. Wu, and H. Kobayashi. 2020. 'Unculturable and culturable periodontal-related bacteria are associated with periodontal inflammation during pregnancy and with preterm low birth weight delivery', *Sci Rep*, 10: 15807.
- Yin, H., L. Xu, and N. A. Porter. 2011. 'Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis', *Chem Rev*, 111: 5944-72.
- Yoo, H. J., S. K. Jwa, D. H. Kim, and Y. J. Ji. 2020. 'Inhibitory effect of Streptococcus salivarius K12 and M18 on halitosis in vitro', *Clin Exp Dent Res*, 6: 207-14.
- Yuan, D., P. Wang, L. Yang, J. L. Quimby, and Y. P. Sun. 2022. 'Carbon "quantum" dots for bioapplications', *Exp Biol Med (Maywood)*, 247: 300-09.
- Zea, L., R. J. C. McLean, T. A. Rook, G. Angle, D. L. Carter, A. Delegard, A. Denvir, R. Gerlach, S. Gorti, D. McIlwaine, M. Nur, B. M. Peyton, P. S. Stewart, P. Sturman, and Y. A. Velez Justiniano. 2020. 'Potential biofilm control strategies for extended spaceflight missions', *Biofilm*, 2: 100026.
- Zhang, S. 2003. 'Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly', *Nat Biotechnol*, 21: 1171-8.
- Zhao, F., Y. Zhao, Y. Liu, X. Chang, C. Chen, and Y. Zhao. 2011. 'Cellular uptake, intracellular trafficking, and cytotoxicity of nanomaterials', *Small*, 7: 1322-37.

- Abraham, C. M. (2014). Suppl 1: A brief historical perspective on dental implants, their surface coatings and treatments. *The Open Dentistry Journal*, 8, 50.
- Abukaraky, A., Hamdan, A. A., Ameera, M.-N., Nasief, M., & Hassona, Y. (2018). Quality of YouTube TM videos on dental implants. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 23(4), e463.
- Addy, L. D., Uberoi, J., Dubal, R. K., & McAndrew, R. (2005). Does your practice website need updating? *British Dental Journal*, 198(5), 259–260.
- Adell, R., Lekholm, U., Rockler, B., & Brånemark, P.-I. (1981). A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *International Journal of Oral Surgery*, 10(6), 387–416.
- Albrektsson, T., & Zarb, G. A. (1993). Current interpretations of the osseointegrated response: clinical significance. *International Journal of Prosthodontics*, 6(2).
- Aldairy, T., Laverick, S., & McIntyre, G. T. (2012). Orthognathic surgery: is patient information on the Internet valid? *The European Journal of Orthodontics*, 34(4), 466–469.
- Ali, B., & Bhavani, V. (2014). Transition from a fixed implant dental prosthesis to an implant overdenture in an edentulous patient: A clinical report. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 112(3), 414–417.
- Alpaydın, M. T., Büyük, S. K., & Canigur Bavbek, N. (2021). Information on the Internet about clear aligner treatment—an assessment of content, quality, and readability. *Journal of Orofacial Orthopedics/Fortschritte Der Kieferorthopädie*, 1–12.
- Anderson, J. G., Rainey, M. R., & Eysenbach, G. (2003). The impact of CyberHealthcare on the physician–patient relationship. *Journal of Medical Systems*, 27(1), 67–84.
- Andreassen, H. K., Bujnowska-Fedak, M. M., Chronaki, C. E., Dumitru, R. C., Pudule, I., Santana, S., Voss, H., & Wynn, R. (2007). European citizens' use of E-health services: a study of seven countries. *BMC Public Health*, 7(1), 1–7.
- Andreiotelli, M., Wenz, H. J., & Kohal, R. (2009). Are ceramic implants a viable alternative to titanium implants? A systematic literature review. *Clinical Oral Implants Research*, 20, 32–47.
- Arat, Z. S. (2010). Mandibular implant destekli hareketli protezlerde implant sayısı ve tutucu türünün kemikteki stres dağılımlarına etkisinin sonlu elemanlar analizi ile incelenmesi.
- Arsenault, M., Blouin, M. J., & Guitton, M. J. (2016). Information quality and dynamics of patients' interactions on tonsillectomy web resources. *Internet Interventions*, 4, 99–104.

- Arun, M., Usman, Q., & Johal, A. (2017). Orthodontic treatment modalities: a qualitative assessment of Internet information. *Journal of Orthodontics*, 44(2), 82–89.
- Ashwaq Ali Al-Hashedi, BDS, Ms., & /Tara Bai Taiyeb Ali. (2014). Short dental implants: an emerging concept in implant treatment. *Quintessence Int*, 45(6), 16.
- Assal, P. A. (2013). The osseointegration of zirconia dental implants. *Schweizer Monatsschrift Für Zahnmedizin = Revue Mensuelle Suisse d'odonto-Stomatologie = Rivista Mensile Svizzera Di Odontologia e Stomatologia / SSO*, 123(7–8), 644–654.
- Azar, R., Semyari, H., & Kharazifard, M. J. (2020). Oral Health Related Quality of Life of Patients Using Conventional Dentures versus Implant-Supported Overdentures. *Frontiers in Dentistry*, 17(4), 1.
- Babbush, C. A., Hahn, J. D. D. S., Krauser, J. D. M. D., & Rosenlicht, J. D. M. D. (2010). *Dental implants: the art and science*. Elsevier Health Sciences.
- Baggi, L., Cappelloni, I., Di Girolamo, M., Maceri, F., & Vairo, G. (2008). The influence of implant diameter and length on stress distribution of osseointegrated implants related to crestal bone geometry: a three-dimensional finite element analysis. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 100(6), 422–431.
- Bakke, M., Holm, B., & Gotfredsen, K. (2002). Masticatory function and patient satisfaction with implant-supported mandibular overdentures: a prospective 5-year study. *International Journal of Prosthodontics*, 15(6).
- Banasiak, N. C., & Meadows-Oliver, M. (2017). Evaluating asthma websites using the Brief DISCERN instrument. *Journal of Asthma and Allergy*, 10, 191.
- Barker, S., Charlton, N. P., & Holstege, C. P. (2010). Accuracy of internet recommendations for prehospital care of venomous snake bites. *Wilderness & Environmental Medicine*, 21(4), 298–302.
- Basch, C. H., Ethan, D., Cadorett, V., Kollia, B., & Clark, A. (2019). An assessment of the readability of online material related to fluoride. *Journal of Prevention & Intervention in the Community*, 47(1), 5–13.
- Batenburg, R. H. K., Meijer, H. J. A., Raghoobar, G. M., & Vissink, A. (1998). Treatment concept for mandibular overdentures supported by endosseous implants: a literature review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 13(4), 539–545.
- Bavbek, N. C., & Tuncer, B. B. (2017). Information on the Internet regarding orthognathic surgery in Turkey: is it an adequate guide for potential patients? *Turkish Journal of Orthodontics*, 30(3), 78.
- Beaunoyer, E., Arsenault, M., Lomanowska, A. M., & Guitton, M. J. (2017). Understanding online health information: Evaluation, tools, and strategies. *Patient Education and Counseling*, 100(2), 183–189.

Begum, S. S., Devaki, V., Balu, K., Ajay, R., & Kumar, P. A. (2017). Awareness about Mandibular Implant Overdentures among Edentulous Patients in Namakkal District: A Hospital-based Study. *Journal of Indian Academy of Dental Specialist Researchers*, Volume, 4(2).

Berge, T. I. (2000). Public awareness, information sources and evaluation of oral implant treatment in Norway. *Clinical Oral Implants Research*, 11(5), 401–408.

Bernabe, E., Marcenés, W., Hernández, C. R., Bailey, J., Abreu, L. G., Alipour, V., Amini, S., Arabloo, J., & Arefi, Z. (2020). Global, regional, and national levels and trends in burden of oral conditions from 1990 to 2017: a systematic analysis for the global burden of disease 2017 study. *Journal of Dental Research*, 99(4), 362–373.

Bidra, A. S., Zapata, G., Agar, J. R., Taylor, T. D., & Grady, J. (2018). Differences in Lip Support with and without Labial Flanges in a Maxillary Edentulous Population. Part 1: Objective Analysis. *Journal of Prosthodontics : Official Journal of the American College of Prosthodontists*, 27(1), 10–16.

Block, M. S., Gardiner, D., Kent, J. N., Misiek, D. J., Finger, I. M., & Guerra, L. (1996). Hydroxyapatite-coated cylindrical implants in the posterior mandible: 10-year observations. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 11(5).

Bodine, R. L., Yanase, R. T., & Bodine, A. (1996). Forty years of experience with subperiosteal implant dentures in 41 edentulous patients. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 75(1), 33–44.

Boerrigter, E. M., Geertman, M. E., Van Oort, R. P., Bouma, J., Raghoobar, G. M., Van Waas, M. A. J., Van't Hof, M. A., Boering, G., & Kalk, W. (1995). Patient satisfaction with implant-retained mandibular overdentures. A comparison with new complete dentures not retained by implants—a multicentre randomized clinical trial. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 33(5), 282–288.

Bölükbaş, K. (2016). İnternet cafeler ve internet bağımlılığı üzerine sosyolojik bir araştırma: Diyarbakır örneği.

Boven, G. C., Raghoobar, G. M., Vissink, A., & Meijer, H. J. A. (2015). Improving masticatory performance, bite force, nutritional state and patient's satisfaction with implant overdentures: a systematic review of the literature. *Journal of Oral Rehabilitation*, 42(3), 220–233.

Bozdag, E., & Van Den Hoven, J. (2015). Breaking the filter bubble: democracy and design. *Ethics and Information Technology*, 17(4), 249–265.

Brägger, U., Hämmerle, C., & Weber, H. (1990). Fixed reconstructions in partially edentulous patients using two-part ITI implants (Bonefit®) as abutments. Treatment planning, indications and prosthetic aspects. *Clinical Oral Implants Research*, 1(1), 41–49.

Branemark, P.-I. (1983). Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent*, 50, 399–410.

- Branemark, P. I. (1977). Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Sur.*
[https://www.scirp.org/\(S\(i43dyn45teexjx455qlt3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=974195](https://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455qlt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=974195)
- Brennan, M., Houston, F., O’Sullivan, M., & O’Connell, B. (2010). Patient satisfaction and oral health-related quality of life outcomes of implant overdentures and fixed complete dentures. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 25(4).
- Brown, L. J., & Löe, H. (1993). Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 2(1), 57–71.
- Carr, A. B., & Brown. (2010). *McCracken’s removable partial prosthodontics* 12th ed. The CV. Mosby Co St Louis.
- Caufield, P. W., & Griffen, A. L. (2000). Dental caries: an infectious and transmissible disease. *Pediatric Clinics of North America*, 47(5), 1001–1019.
- Chapple, I. L. C. (2013). Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of Periodontology*, 84(4-s), S106–S112.
- Chapple, I. L. C. (2014). Time to take periodontitis seriously. In *Bmj* (Vol. 348). British Medical Journal Publishing Group.
- Charnock, D., & Shepperd, S. (2004). Learning to DISCERN online: applying an appraisal tool to health websites in a workshop setting. *Health Education Research*, 19(4), 440–446.
- Charnock, D., Shepperd, S., Needham, G., & Gann, R. (1999). DISCERN: an instrument for judging the quality of written consumer health information on treatment choices. *Journal of Epidemiology & Community Health*, 53(2), 105–111.
- Cherla, D. V, Sanghvi, S., Choudhry, O. J., Liu, J. K., & Eloy, J. A. (2012). Readability assessment of internet-based patient education materials related to endoscopic sinus surgery. *The Laryngoscope*, 122(8), 1649–1654.
- Chestnutt, I G, Binnie, V. I., & Taylor, M. M. (2000). Reasons for tooth extraction in Scotland. *Journal of Dentistry*, 28(4), 295–297.
- Chestnutt, I G, & Reynolds, K. (2006). Perceptions of how the Internet has impacted on dentistry. *British Dental Journal*, 200(3), 161–165.
- Chestnutt, Ivor G. (2004). Internet-derived patient information on common oral pathologies: is it readable? *Primary Dental Care*, 2, 51–54.
- Choi, H., & Varian, H. (2012). Predicting the present with Google Trends. *Economic Record*, 88, 2–9.

- Choi, M., Park, S., & Cha, S. (2017). Relationships of mental health and internet use in Korean adolescents. *Archives of Psychiatric Nursing*, 31(6), 566–571.
- Chou, W.-J., Chang, Y.-P., & Yen, C.-F. (2018). Boredom proneness and its correlation with Internet addiction and Internet activities in adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 34(8), 467–474.
- Chu, J. T. W., Wang, M. P., Shen, C., Viswanath, K., Lam, T. H., & Chan, S. S. C. (2017). How, when and why people seek health information online: qualitative study in Hong Kong. *Interactive Journal of Medical Research*, 6(2), e7000.
- Cline, R. J. W., & Haynes, K. M. (2001). Consumer health information seeking on the Internet: the state of the art. *Health Education Research*, 16(6), 671–692.
- Cohen, R. A., & Stussman, B. (2010). Health information technology use among men and women aged 18–64: early release of estimates from the National Health Interview Survey, January–June 2009. National Center for Health Statistics.
- Coiera, E. (1998). Information epidemics, economics, and immunity on the internet: We still know so little about the effect of information on public health. In *Bmj* (Vol. 317, Issue 7171, pp. 1469–1470). British Medical Journal Publishing Group.
- Corcelles, R., Daigle, C. R., Talamas, H. R., Brethauer, S. A., & Schauer, P. R. (2015). Assessment of the quality of Internet information on sleeve gastrectomy. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, 11(3), 539–544.
- Couper, M. P., Singer, E., Levin, C. A., Fowler Jr, F. J., Fagerlin, A., & Zikmund-Fisher, B. J. (2010). Use of the Internet and ratings of information sources for medical decisions: results from the DECISIONS survey. *Medical Decision Making*, 30(5_suppl), 106–114.
- D'Alessandro, D. M., Kingsley, P., & Johnson-West, J. (2001). The readability of pediatric patient education materials on the World Wide Web. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 155(7), 807–812.
- Dalkız, M. (2010). Pratik Dişhekimliği İmplantolojisi. 638.
- De Boer, M. J., Versteegen, G. J., & Van Wijhe, M. (2007). Patients' use of the Internet for pain-related medical information. *Patient Education and Counseling*, 68(1), 86–97.
- Delgado-Ruiz, R. A., Calvo-Guirado, J. L., Abboud, M., Ramirez-Fernandez, M. P., Mate-Sanchez, J. E., Negri, B., & Rothamel, D. (2014). Histologic and histomorphometric behavior of microgrooved zirconia dental implants with immediate loading. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 16(6), 856–872.

- Derks, J., Håkansson, J., Wennström, J. L., Tomasi, C., Larsson, M., & Berglundh, T. (2015). Effectiveness of implant therapy analyzed in a Swedish population: early and late implant loss. *Journal of Dental Research*, 94(3_suppl), 44S-51S.
- Diaz, J. A., Griffith, R. A., Ng, J. J., Reinert, S. E., Friedmann, P. D., & Moulton, A. W. (2002). Patients' Use of the Internet for Medical Information. *Journal of General Internal Medicine*, 17(3), 180.
- Doğan, B. G., & Gökalp, S. (2012). Tooth loss and edentulism in the Turkish elderly. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 54(2), e162–e166.
- Doundoulakis, J. H., Eckert, S. E., Lindquist, C. C., & Jeffcoat, M. K. (2003). The implant-supported overdenture as an alternative to the complete mandibular denture. *The Journal of the American Dental Association*, 134(11), 1455–1458.
- DuBay, W. H. (2004). The principles of readability. Online Submission.
- Ekelund, J.-A., Lindquist, L. W., Carlsson, G. E., & Jemt, T. (2003). Implant treatment in the edentulous mandible: a prospective study on Brånemark system implants over more than 20 years. *International Journal of Prosthodontics*, 16(6).
- Elias, C. N. (2014). Factors Affecting the Success of Dental Implants Internet. Rijeka: InTech.
- Eloy, J. A., Li, S., Kasabwala, K., Agarwal, N., Hansberry, D. R., Baredes, S., & Setzen, M. (2012). Readability assessment of patient education materials on major otolaryngology association websites. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*, 147(5), 848–854.
- Eysenbach, G., Powell, J., Kuss, O., & Sa, E.-R. (2002). Empirical studies assessing the quality of health information for consumers on the world wide web: a systematic review. *Jama*, 287(20), 2691–2700.
- Eysenbach, G., Sa, E. R., & Diepgen, T. L. (1999). Shopping around the internet today and tomorrow: towards the millennium of cybermedicine. *Bmj*, 319(7220), 1294.
- Fashner, J., & Drye, S. T. (2011). Internet Availability and Interest in Patients at a Family Medicine Residency Clinic. *Family Medicine-Kansas City*, 43(2), 117.
- Fernández Tresguerres, I., Gracia, A., Canto Pingarrón, M. Del, & Blanco Jérez, L. (2006). Physiological bases of bone regeneration I: Histology and physiology of bone tissue.
- Flesch, R. (1948). A new readability yardstick. *Journal of Applied Psychology*, 32(3), 221.
- Fontijn-Tekamp, E. A., Slagter, A. P., Van't Hof, M. A., Geertman, M. E., & Kalk, W. (1998). Bite forces with mandibular implant-retained overdentures. *Journal of Dental Research*, 77(10), 1832–1839.

- Fox, S., Duggan, M., & Purcell, K. (2013). Family caregivers are wired for health. Pew Research Center's Internet & American Life Project Washington, DC.
- Frangos, Z., Steffens, M., & Leask, J. (2018). Water fluoridation and the quality of information available online. *International Dental Journal*, 68(4), 253–261.
- Freda, M. C. (2005). The readability of American Academy of Pediatrics patient education brochures. *Journal of Pediatric Health Care*, 19(3), 151–156.
- Friedman, D. B., & Hoffman-Goetz, L. (2006). A systematic review of readability and comprehension instruments used for print and web-based cancer information. *Health Education & Behavior*, 33(3), 352–373.
- Gerritsen, A. E., Allen, P. F., Witter, D. J., Bronkhorst, E. M., & Creugers, N. H. J. (2010). Tooth loss and oral health-related quality of life: a systematic review and meta-analysis. *Health and Quality of Life Outcomes*, 8, 126.
- Goodacre, C. J., & Naylor, W. P. (2016). Single implant and crown versus fixed partial denture: A cost-benefit, patient-centred analysis. *Eur J Oral Implantol*, 9(suppl 1), S59–S68.
- Guitton, M. J. (2015). Online maritime health information: an overview of the situation. *International Maritime Health*, 66(3), 139–144.
- Gulsahi, A. (2011). Bone quality assessment for dental implants. Rijeka: InTech, 437–452.
- Hansberry, D. R., Agarwal, N., Gonzales, S. F., & Baker, S. R. (2014). Are we effectively informing patients? A quantitative analysis of on-line patient education resources from the American Society of Neuroradiology. *American Journal of Neuroradiology*, 35(7), 1270–1275.
- Haque, A., Cox, M., Sandler, R. D., & Hughes, M. (2020). A systematic review of internet-based information on dermatomyositis and polymyositis. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 23(12), 1613–1618.
- Harris, C. E., & Chestnutt, I. G. (2005). The use of the Internet to access oral health-related information by patients attending dental hygiene clinics. *International Journal of Dental Hygiene*, 3(2), 70–73.
- Havens, A. M., Chiu, E., Taba Jr, M., Wang, J., Shiozawa, Y., Jung, Y., Taichman, L. S., D'Silva, N. J., Gopalakrishnan, R., & Wang, C. (2008). Stromal-derived factor-1 α (CXCL12) levels increase in periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 79(5), 845–853.
- Hesse, B. W., Nelson, D. E., Kreps, G. L., Croyle, R. T., Arora, N. K., Rimer, B. K., & Viswanath, K. (2005). Trust and Sources of Health Information: The Impact of the Internet and Its Implications for Health Care Providers: Findings From the First Health Information National Trends Survey. *Archives of Internal Medicine*, 165(22), 2618–2624.

- Heydecke, G., Boudrias, P., Awad, M. A., De Albuquerque Jr, R. F., Lund, J. P., & Feine, J. S. (2003). Within-subject comparisons of maxillary fixed and removable implant prostheses: Patient satisfaction and choice of prosthesis. *Clinical Oral Implants Research*, 14(1), 125–130.
- Himmlova, L., Kácvský, A., & Konvičková, S. (2004). Influence of implant length and diameter on stress distribution: a finite element analysis. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 91(1), 20–25.
- Huysmans, M.-C., & Longbottom, C. (2004). The challenges of validating diagnostic methods and selecting appropriate gold standards. *Journal of Dental Research*, 83(1_suppl), 48–52.
- Ingram, D. G., Matthews, C. K., & Plante, D. T. (2015). Seasonal trends in sleep-disordered breathing: evidence from Internet search engine query data. *Sleep and Breathing*, 19(1), 79–84.
- Ingram, D. G., & Plante, D. T. (2013). Seasonal trends in restless legs symptomatology: evidence from Internet search query data. *Sleep Medicine*, 14(12), 1364–1368.
- Internet World Stats. (2022). World Internet Users Statistics and 2022 World Population Stats. 15 Mayıs 2022 tarihinde <https://www.internetworldstats.com/stats.htm> adresinden erişildi.
- Jacobs, J. J., Gilbert, J. L., & Urban, R. M. (1998). Current concepts review-corrosion of metal orthopaedic implants. *Jbjs*, 80(2), 268–282.
- Jaffin, R. A., & Berman, C. L. (1991). The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone: a 5-year analysis. *Journal of Periodontology*, 62(1), 2–4.
- Jayaratne, Y. S. N., Anderson, N. K., & Zwahlen, R. A. (2014). Readability of websites containing information on dental implants. *Clinical Oral Implants Research*, 25(12), 1319–1324.
- Johar, A. O. (2018). Clinical performance of implant overdenture versus fixed detachable prosthesis. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 19(12), 1480–1486.
- Kaicker, J., Borg Debono, V., Dang, W., Buckley, N., & Thabane, L. (2010). Assessment of the quality and variability of health information on chronic pain websites using the DISCERN instrument. *BMC Medicine*, 8(1), 1–8.
- Kardeş, S., & Kardeş, E. (2019). Seasonality of bruxism: evidence from Google Trends. *Sleep and Breathing*, 23(2), 695–701.
- Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L., & Marcenes, W. (2014a). Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *Journal of Dental Research*, 93(11), 1045–1053.

Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L., & Marcenes, W. (2014b). Global burden of severe tooth loss: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Dental Research*, 93(7_suppl), 20S-28S.

Kinane, D. F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000, 25(1), 8–20.

Kincaid, J. P., Fishburne Jr, R. P., Rogers, R. L., & Chissom, B. S. (1975). Derivation of new readability formulas (automated readability index, fog count and flesch reading ease formula) for navy enlisted personnel. Naval Technical Training Command Millington TN Research Branch.

Korkusuz, F., & Şenköylü, A. (2003). SERT DOKU-BİYOMATERYAL ETKİLEŞİMLERİ-1: GENEL KAVRAMLAR VE KEMİK-METAL ETKİLEŞİMLERİ. *Artroplasty Artroplastik Cerrahi*, 14(1), 51–57.

Kusek, E. R. (2009). The use of laser technology (Er; Cr: YSGG) and stereolithography to aid in the placement of a subperiosteal implant: case study. *Journal of Oral Implantology*, 35(1), 5–11.

Kutkut, A., Bertoli, E., Frazer, R., Pinto-Sinai, G., Hidalgo, R. F., & Studts, J. (2018). A systematic review of studies comparing conventional complete denture and implant retained overdenture. *Journal of Prosthodontic Research*, 62(1), 1–9.

Lan, T.-H., Du, J.-K., Pan, C.-Y., Lee, H.-E., & Chung, W.-H. (2012). Biomechanical analysis of alveolar bone stress around implants with different thread designs and pitches in the mandibular molar area. *Clinical Oral Investigations*, 16(2), 363–369.

Lee, H., Choi, A., Jang, Y., & Lee, J. I. (2019). YouTube as a learning tool for four shoulder tests. *Primary Health Care Research & Development*, 20.

Lee, J.-H., Frias, V., Lee, K.-W., & Wright, R. F. (2005). Effect of implant size and shape on implant success rates: a literature review. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 94(4), 377–381.

Leira-Feijoo, Y., Ledesma-Ludi, Y., Seoane-Romero, J. M., Blanco-Carrión, J., Seoane, J., & Varela-Centelles, P. (2015). Available web-based dental implants information for patients. How good is it? *Clinical Oral Implants Research*, 26(11), 1276–1280.

Lekholm, U. (1985). Patient selection and preparation. *Tissue-Integrated Prosthesis: Osseointegration in Clinical Dentistry*, 199–209.

Livas, C., Delli, K., & Ren, Y. (2013). Quality evaluation of the available Internet information regarding pain during orthodontic treatment. *The Angle Orthodontist*, 83(3), 500–506.

Lockhart, P. B., Bolger, A. F., Papapanou, P. N., Osinbowale, O., Trevisan, M., Levison, M. E., Taubert, K. A., Newburger, J. W., Gornik, H. L., & Gewitz, M. H.

(2012). Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association? A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 125(20), 2520–2544.

Löe, H., Theilade, E., & Jensen, S. B. (1965). Experimental Gingivitis in Man. *The Journal of Periodontology*, 36(3), 177–187.

Lorenzo-Pouso, A.-I., Pérez-Sayáns, M., Kujan, O., Castelo-Baz, P., Chamorro-Petronacci, C., García-García, A., & Blanco-Carrión, A. (2019). Patient-centered web-based information on oral lichen planus: Quality and readability. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 24(4), e461.

Lu, X., Zhang, R., Wu, W., Shang, X., & Liu, M. (2018). Relationship Between Internet Health Information and Patient Compliance Based on Trust: Empirical Study. *Journal of Medical Internet Research*, 20(8).

Mager, A. (2009). Mediated health: sociotechnical practices of providing and using online health information. *New Media & Society*, 11(7), 1123–1142.

Malak, M. Z., Khalifeh, A. H., & Shuhaiber, A. H. (2017). Prevalence of Internet Addiction and associated risk factors in Jordanian school students. *Computers in Human Behavior*, 70, 556–563.

Marcenes, W., Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Flaxman, A., Naghavi, M., Lopez, A., & Murray, C. J. L. (2013). Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *Journal of Dental Research*, 92(7), 592–597.

Marquezan, M., Osório, A., Sant’Anna, E., Souza, M. M., & Maia, L. (2012). Does bone mineral density influence the primary stability of dental implants? A systematic review. *Clinical Oral Implants Research*, 23(7), 767–774.

McGoldrick, D. M., Kielty, P., & Cotter, C. (2017). Quality of information about maxillofacial trauma on the Internet. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 55(2), 141–144.

McMorrow, S. M., & Millett, D. T. (2016). Adult orthodontics: a quality assessment of Internet information. *Journal of Orthodontics*, 43(3), 186–192.

McMullan, M. (2006). Patients using the Internet to obtain health information: how this affects the patient–health professional relationship. *Patient Education and Counseling*, 63(1–2), 24–28.

McNutt, M. D., & Chou, C. (2003). Current trends in immediate osseous dental implant case selection criteria. *Journal of Dental Education*, 67(8), 850–859.

Meade, C. D., & Smith, C. F. (1991). Readability formulas: Cautions and criteria. *Patient Education and Counseling*, 17(2), 153–158.

Meade, M. J., & Dreyer, C. W. (2020). Web-based information on orthodontic clear aligners: a qualitative and readability assessment. *Australian Dental Journal*, 65(3), 225–232.

Menziletoglu, D., Guler, A. Y., & Isik, B. K. (2020). Are YouTube videos related to dental implant useful for patient education? *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery*, 121(6), 661–664.

Meskó, B. (2013). Establishing a Medical Blog. In *Social Media in Clinical Practice* (pp. 59–70). Springer.

Mijiritsky, E., Mazor, Z., Lorean, A., & Levin, L. (2013). Implant diameter and length influence on survival: interim results during the first 2 years of function of implants by a single manufacturer. *Implant Dentistry*, 22(4), 394–398.

Minichetti, J. C. (2003). Analysis of HA-coated subperiosteal implants. *Journal of Oral Implantology*, 29(3), 111–116.

Misch, C. E. (1999). Contemporary implant dentistry. *Implant Dentistry*, 8(1), 90.

Misch, C. E. (2004). *Dental implant prosthetics-E-book*. Elsevier Health Sciences.

Möller, B., Terheyden, H., Açil, Y., Purcz, N. M., Hertrampf, K., Tabakov, A., Behrens, E., & Wiltfang, J. (2012). A comparison of biocompatibility and osseointegration of ceramic and titanium implants: an in vivo and in vitro study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 41(5), 638–645.

Morris, M., & Ogan, C. (1996). The Internet as Mass Medium. *Journal of Computer-Mediated Communication*, 1(4), 0–0.

Mullen, P. D. (1997). Compliance becomes concordance. In *BMJ (Clinical research ed.)* (Vol. 314, Issue 7082, pp. 691–692).

Murero, M., D’Ancona, G., & Karamanoukian, H. (2001). Use of the Internet by patients before and after cardiac surgery: an interdisciplinary telephone survey. *Journal of Medical Internet Research*, 3(3), e845.

Naert, I., Koutsikakis, G., Duyck, J., Quirynen, M., Jacobs, R., & Van Steenberghe, D. (2002). Biologic outcome of implant-supported restorations in the treatment of partial edentulism: Part 1: A longitudinal clinical evaluation. *Clinical Oral Implants Research*, 13(4), 381–389.

Nagashima, H., Shinoda, M., Honda, K., Kamio, N., Watanabe, M., Suzuki, T., Sugano, N., Sato, S., & Iwata, K. (2017). CXCR4 signaling in macrophages contributes to periodontal mechanical hypersensitivity in *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis in mice. *Molecular Pain*, 13, 1744806916689269.

Nason, K., Donnelly, A., & Duncan, H. F. (2016). YouTube as a patient-information source for root canal treatment. *International Endodontic Journal*, 49(12), 1194–1200.

Neelapala, P., Duvvi, S. K., Kumar, G., & Kumar, B. N. (2008). Do gynaecology outpatients use the Internet to seek health information? A questionnaire survey. *Journal of Evaluation in Clinical Practice*, 14(2), 300–304.

- Neoh, K. G., Hu, X., Zheng, D., & Kang, E. T. (2012). Balancing osteoblast functions and bacterial adhesion on functionalized titanium surfaces. *Biomaterials*, 33(10), 2813–2822.
- Nuti, S. V, Wayda, B., Ranasinghe, I., Wang, S., Dreyer, R. P., Chen, S. I., & Murugiah, K. (2014). The use of google trends in health care research: a systematic review. *PloS One*, 9(10), e109583.
- Nuvvula, S., Chava, V. K., & Nuvvula, S. (2016). Primary culprit for tooth loss!! *Journal of Indian Society of Periodontology*, 20(2), 222.
- Oğuz, K., ALKURT, A. G. D. M., Dilsiz, A., & ARABACI, T. (2013). Dişsizliğin Beslenme Alışkanlıkları ve Vücut Ağırlığı Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 23(3), 399–407.
- Olkun, H. K., Demirkaya, A. A., & Aras, B. (2019). The quality of Internet information on lingual orthodontics in the English language, with DISCERN and JAMA. *Journal of Orthodontics*, 46(1), 20–26.
- Özdemir, A. K., Özdemir, H. D., Polat, N. T., Turgut, M., & Sezer, H. (2006). The effect of personality type on denture satisfaction. *International Journal of Prosthodontics*, 19(4).
- Özkurt, B., & Tabak, A. Y. (2011). Metalik biyomateryaller ve metallozis. *Totbid Dergisi*, 10(2), 83–86.
- Pang, P. C.-I., Chang, S., Verspoor, K., & Pearce, J. (2016). Designing health websites based on users' web-based information-seeking behaviors: a mixed-method observational study. *Journal of Medical Internet Research*, 18(6), e5661.
- Pasinli, A. (2004). Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler. *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(4), 25–34.
- Patel, U., & Cobourne, M. T. (2011). Orthodontic extractions and the Internet: Quality of online information available to the public. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 139(2), e103–e109.
- Peres, M. A., Macpherson, L. M. D., Weyant, R. J., Daly, B., Venturelli, R., Mathur, M. R., Listl, S., Celeste, R. K., Guarnizo-Herreño, C. C., & Kearns, C. (2019). Oral diseases: a global public health challenge. *The Lancet*, 394(10194), 249–260.
- Plante, D. T., & Ingram, D. G. (2015). Seasonal trends in tinnitus symptomatology: evidence from Internet search engine query data. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 272(10), 2807–2813.
- Polgreen, P. M., Chen, Y., Pennock, D. M., Nelson, F. D., & Weinstein, R. A. (2008). Using internet searches for influenza surveillance. *Clinical Infectious Diseases*, 47(11), 1443–1448.
- Porter, J. A., & Von Fraunhofer, J. A. (2005). Success or failure of dental implants? A literature review with treatment considerations. *General Dentistry*, 53(6), 423–432.

Powell, J. A., Darvell, M., & Gray, J. A. M. (2003). The doctor, the patient and the world-wide web: how the internet is changing healthcare. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 96(2), 74–76.

Powell, J., & Clarke, A. (2006). Internet information-seeking in mental health: population survey. *The British Journal of Psychiatry*, 189(3), 273–277.

Premnath, K., Sridevi, J., Kalavathy, N., Nagaranjani, P., & Sharmila, M. R. (2013). Evaluation of stress distribution in bone of different densities using different implant designs: a three-dimensional finite element analysis. *The Journal of Indian Prosthodontic Society*, 13(4), 555–559.

Purcell, G. P., Wilson, P., & Delamothe, T. (2002). The quality of health information on the internet: As for any other medium it varies widely; regulation is not the answer. In *Bmj* (Vol. 324, Issue 7337, pp. 557–558). British Medical Journal Publishing Group.

Pusz, M. D., & Brietzke, S. E. (2012). How good is Google? The quality of otolaryngology information on the internet. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*, 147(3), 462–465.

Rasmussen, R. A. (1992). *The Brånemark System of Oral Reconstruction: A Color Atlas*. Ishiyaku EuroAmerica.

Rasmusson, L., Roos, J., & Bystedt, H. (2005). A 10-Year Follow-Up Study of Titanium Dioxide–Blasted Implants. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 7(1), 36–42.

Rehman, I., Elmahgoub, F., & Goodall, C. (2021). Evaluation of the information provided by UK dental practice websites regarding complications of dental implants. *British Dental Journal* 2021 230:12, 230(12), 831–834.

Resnik, R. (2020). *Misch's contemporary implant dentistry e-book*. Elsevier Health Sciences.

Riordain, R. N., & Hodgson, T. (2014). Content and quality of website information on the treatment of oral ulcers. *British Dental Journal*, 217(7), E15–E15.

Rosenstiel, S. F., Land, M. F., & Walter, R. (2022). *Contemporary fixed prosthodontics*. Elsevier Health Sciences.

Sadowsky, S. J., & Zitzmann, N. U. (2016). Protocols for the Maxillary Implant Overdenture: A Systematic Review. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 31.

Saunders, W. P. (1989). Resin bonded bridgework: a review. *Journal of Dentistry*, 17(6), 255–265.

Scharkow, M., & Vogelgesang, J. (2011). Measuring the Public Agenda using Search Engine Queries. *International Journal of Public Opinion Research*, 23(1), 104–113.

- Schou, S., Pallesen, L., Hjørtting-Hansen, E., Pedersen, C. S., & Fibæk, B. (2000). A 41-year history of a mandibular subperiosteal implant. *Clinical Oral Implants Research: Case Report*, 11(2), 171–178.
- Searson, L. J., Gough, M., & Hemmings, K. (2019). *Implantology in general dental practice* (Vol. 4). Quintessence Publishing Company Limited.
- Sechrest, R. C. (2010). The internet and the physician-patient relationship. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*, 468(10), 2566–2571.
- Seth, S., & Kalra, P. (2013). Effect of dental implant parameters on stress distribution at bone-implant interface. *Inter J Sci Res*, 2(1), 121–124.
- Sevimay, M., Turhan, F., Kiliçarslan, M. A., & Eskitascioglu, G. (2005). Three-dimensional finite element analysis of the effect of different bone quality on stress distribution in an implant-supported crown. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 93(3), 227–234.
- Sheet, A. M. D. (2014). ASM Material Data Sheet. <https://asm.matweb.com/search/SpecificMaterial.asp?bassnum=MTP642>
- Shen, J. Z., & Kosmač, T. (2013). *Advanced Ceramics for Dentistry: Chapter 16. Advanced Dental-restoration Materials: Concepts for the Future*. Elsevier Inc. Chapters.
- Silberg, W. M., Lundberg, G. D., & Musacchio, R. A. (1997). Assessing, controlling, and assuring the quality of medical information on the Internet: Caveant lector et viewor—Let the reader and viewer beware. *Jama*, 277(15), 1244–1245.
- Slagter, K. W., Raghoobar, G. M., & Vissink, A. (2008). Osteoporosis and edentulous jaws. *International Journal of Prosthodontics*, 21(1).
- Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T., Khoo, J., & Witztum, J. (1989). The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org at UNIVERSITY OF OTTAWA on October 5, 2013. For personal use only. No other uses without permission. From the NEJM Archive. Copyright © 2010 Massachusetts Medical Society. All rights reserved. *New England Journal of Medicine*, 320, 915–924.
- Steinemann, S. G. (1998). Titanium—the material of choice? *Periodontology* 2000, 17(1), 7–21.
- Stellingsma, C., Vissink, A., Meijer, H. J. A., Kuiper, C., & Raghoobar, G. M. (2004). Implantology and the severely resorbed edentulous mandible. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 15(4), 240–248.
- Steveling, H., Roos, J., & Rasmusson, L. (2001). Maxillary implants loaded at 3 months after insertion: results with Astra Tech implants after up to 5 years. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 3(3), 120–124.
- Stinson, J. N., Tucker, L., Huber, A., Harris, H., Lin, C., Cohen, L., Gill, N., Lukas-Bretzler, J., Proulx, L., & Prowten, D. (2009). Surfing for juvenile idiopathic

arthritis: perspectives on quality and content of information on the Internet. *The Journal of Rheumatology*, 36(8), 1755–1762.

Susin, C., Haas, A. N., Opermann, R. V., & Albandar, J. M. (2006). Tooth loss in a young population from south Brazil. *Journal of Public Health Dentistry*, 66(2), 110–115.

Svider, P. F., Agarwal, N., Choudhry, O. J., Hajart, A. F., Baredes, S., Liu, J. K., & Eloy, J. A. (2013). Readability assessment of online patient education materials from academic otolaryngology–head and neck surgery departments. *American Journal of Otolaryngology*, 34(1), 31–35.

Tan, H., Peres, K. G., & Peres, M. A. (2016). Retention of Teeth and Oral Health-Related Quality of Life. *Journal of Dental Research*, 95(12), 1350–1357.

Tonetti, M. S., Jepsen, S., Jin, L., & Otomo-Corgel, J. (2017). Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: A call for global action. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(5), 456–462.

Triplett, R. G., Frohberg, U., Sykaras, N., & Woody, R. D. (2003). Implant materials, design, and surface topographies: their influence on osseointegration of dental implants. *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants*, 13(6).

Tüylek, Z. (2017). Nanotıp ve Biyomateryal Kullanımı. *Mühendis Beyinler Dergisi*, 1(2), 41–52.

Uzun, İ. H., & Bayındır, F. (2010). Dental uygulamalarda titanyum ve özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2010(3), 213–220.

VanBlarcom, C. W. (1999). *The glossary of prosthodontic terms*. Mosby.

Veiga, N. J., Aires, D., Douglas, F., Pereira, M., Vaz, A., Rama, L., Silva, M., Miranda, V., Pereira, F., & Vidal, B. (2016). Dental caries: A review. *Journal of Dental and Oral Health*, 2(5), 1–3.

Vidyasagar, L., & Apse, P. (2004). Dental implant design and biological effects on bone-implant interface. *Stomatologija*, 6(2), 51–54.

Wang, L.-W., Miller, M. J., Schmitt, M. R., & Wen, F. K. (2013). Assessing readability formula differences with written health information materials: application, results, and recommendations. *Research in Social and Administrative Pharmacy*, 9(5), 503–516.

Web, S. (2022). En Çok Ziyaret Edilen Web Siteleri: En Çok Ziyaret Edilen Web Siteleri Temmuz 2022 Sıralaması | Similarweb. <https://www.similarweb.com/tr/top-websites/>

Weinreich, S. S., Mangon, R., Sikkens, J. J., Teeuw, M. E. e, & Cornel, M. C. (2008). Orphanet: a European database for rare diseases. *Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde*, 152(9), 518–519.

Wennerberg, A., & Albrektsson, T. (2010). On implant surfaces: a review of current knowledge and opinions. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 25(1).

White, B. A., Caplan, D. J., & Weintraub, J. A. (1995). A quarter century of changes in oral health in the United States. *Journal of Dental Education*, 59(1), 19–57.

Wilson, M. (2009). Readability and patient education materials used for low-income populations. *Clinical Nurse Specialist*, 23(1), 33–40.

Yalçın, C. (2003). Sosyolojik Bir Bakış Açısıyla İnternet. *Cumhuriyet Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Sosyal Bilimler Dergisi*, 27(1), 77–89.

Yoshida, M., Sato, Y., Akagawa, Y., & Hiasa, K. (2001). Correlation between quality of life and denture satisfaction in elderly complete denture wearers. *The International Journal of Prosthodontics*, 14(1), 77–80.

Zhai, Q., Dong, Z., Wang, W., Li, B., & Jin, Y. (2019). Dental stem cell and dental tissue regeneration. *Frontiers of Medicine*, 13(2), 152–159.

Zhang, H., Zhang, R., Lu, X., & Zhu, X. (2020). Impact of personal trust tendency on patient compliance based on internet health information seeking. *Telemedicine and E-Health*, 26(3), 294–303.

Zhang, Y., Sun, Y., & Xie, B. (2015). Quality of health information for consumers on the web: a systematic review of indicators, criteria, tools, and evaluation results. *Journal of the Association for Information Science and Technology*, 66(10), 2071–2084.

Zhu, X., Chen, J., Scheideler, L., Reichl, R., & Geis-Gerstorfer, J. (2004). Effects of topography and composition of titanium surface oxides on osteoblast responses. *Biomaterials*, 25(18), 4087–4103.

Zorbaz, K. (2007). Türkçe ders kitaplarındaki masalların kelime–cümle uzunlukları ve okunabilirlik düzeyleri üzerine birdeğerlendirme. *Eğitimde Kuram ve Uygulama*, 3(1), 87–101.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Kudret SARI

Yabancı Dili : İngilizce

Öğrenim Durumu : Yüksek Lisans

EĞİTİM BİLGİLERİ:

2020- Ordu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim
Dalı Araştırma Görevlisi (Diş Hekimliğinde Uzmanlık)

2013-2018 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

2008-2012 Cumhuriyet Lisesi