

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

**TİTANYUM YÜZEYLER ÜZERİNDEKİ ELMAS BENZERİ
KARBON KAPLAMANIN MİKROBİYOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL AÇIDAN ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

Dt. Neslin AYTUTULDU

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMANI
Doç. Dr. Tolga AKOVA**

ADANA - 2009

TEŞEKKÜR

Tezimin başlangıcından bitim aşamasına kadar beni destekleyen, değerli bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren tez danışmanım, ağabeyim Doç. Dr. Tolga AKOVA'ya tavsiyeleri ve yardımlarından dolayı,

Engin bilgilerini ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen ve biyokimyasal testlerin uygulanmasına imkan tanıyan tez jürimin değerli üyesi sayın hocam Prof. Dr. Bülent ANTMEN'e,

Tezim ile ilgili düzeltmeler sırasında çok kıymetli akademik yardımlarını ve desteğini esirgemeyen tez jürimin değerli üyesi sayın hocam Prof. Dr. Şenay CANAY'a,

Mesleki eğitimim ve doktora eğitimim süresince değerli bilgilerini benden hiçbir zaman esirgemeyen ve kendisinden çok şey öğrendiğim değerli hocam Prof. Dr. Hakan UYSAL'a,

Fikirleriyle çalışmamıza ışık tutan ve manevi desteğini hiçbir zaman bizden esirgemeyen tez jürimin değerli üyesi sayın hocam ve ağabeyim M. Cenk HAYTAÇ'a,

Tezim ile ilgili sağlamış oldukları akademik yardımlarından ve Argonne Laboratuvarları'nda gerçekleştirilen test örneklerinin Elmas Benzeri Karbon kaplama işlemlerinde verdikleri desteklerden dolayı sayın Prof. Dr. Ali Erdemir ve Doç. Dr. O. Levent ERYILMAZ'a,

Çalışmalarım sırasında verdiği akademik destek ve yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Yurdanur ŞANLI UÇAR'a,

Mikrobiyolojik testlerin yapımında yardımlarını esirgemeyen sayın Dr. Hikmet UNCU ÇALIŞKAN'a,

Biyokimyasal testlerin yapımındaki yardımlarından dolayı Çukurova Üniversitesi Çocuk Hematoloji Laboratuvarı çalışanlarına,

Manevi destekleri ve zor anlarımdaki yardımlarıyla her zaman yanımda olan Dr. Ahmet ÖZKÖMÜR'e, Yrd. Doç. Dr. A. Şehnaz YILMAZ, Yrd. Doç. Dr. Aysin DUMANI'ye, Öğr. Gör. Dr. M. Emre BENLİDAYI'ya , Dt. Gökçen DEMİRALP'e,

Tezimin son dönemlerinde hayatıma girerek, her türlü sıkıntıda sevgisi, sabrı ve hoşgörüsüyle yanımda olan sevgili eşim Vahdettin VELİOĞLU'na,

Bugünlere gelmemde en büyük destekçim olan, olağan üstü sabır ve hoşgörüsüyle haklarımı asla ödeyemeyeceğim AİLEME ve doğumuyla bana uğur getiren biricik yeğenim NİSAN'ıma

Sevgi, saygı ve tüm içtenliğimle,

TEŞEKKÜR EDERİM.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2. 1. Dental İmplant Tanımı	4
2. 2. Dental İmplantların Başarısı	4
2. 3. Dental İmplantların Transmukozal Kısımları ve Transmukozal Ataşman	5
2. 3. 1. Dental İmplantların Transmukozal Kısımları	5
2.3.1.1. İmplant Krest Modülü	5
2.3.1.2. İmplant Boyun Bölgesi	6
2.3.1.3. İmplant İyileşme Başlığı	7
2. 3. 2. Transmukozal Ataşman	8
2.3.2.1. Transmukozal Ataşman Yapı ve Fonksiyonu	8
2.3.2.2. Transmukozal Ataşman Yıkımı	12
2. 4. İmplant Tedavilerdeki Başarısızlıklar	12
2. 4. 1. Peri-implant Mukositis	14
2. 4. 2. Peri-implantitis	14
2. 5. Peri-implant mukositis ve periimplantitis mikrobiyolojisi	16
2. 6. Peri-implant mukositis ve periimplantitis biyokimyası	19
2. 6. 1. Kronik Enflamasyon Tanımı	19
2. 6. 2. Periodontal Dokularda Enflamasyon	21
2. 6. 3. Peri-implant Mukositis ve Periimplantitis Enflamasyon ve Enflamasyon İşaretçileri	23

2.6.3.1. Nötrofil Tip Kolajenaz (MMP-8)	25
2.6.3.2. İnterlökin-1 β (IL-1 β)	26
2.6.3.3. Tümör Nekrozan Faktör- α (TNF- α)	27
2. 7. Transmukozal kısım kaplamasının implant tedavisinin başarısına Etkisi	27
2. 8. Elmas Benzeri Karbon (Diamond Like Carbon-DLC)	29
2. 8. 1. DLC'nin Yapı ve Özellikleri	29
2. 8. 2. DLC'nin Biyomedikal Kullanım Alanları	36
2. 8. 3. DLC Kaplama Teknikleri	37
2.8.3.1 PECVD (Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition)Depozisyon Tekniği	38
3. GEREÇ ve YÖNTEM	40
3. 1. Mikrobiyolojik İncelemeler	40
3.1.1. Mikrobiyolojik Test Örneklerinin Hazırlanması	40
3.1.1.1 Örneklerin TiN ile Kaplanması	41
3.1.1.2 Örneklerin DLC ile Kaplanması	41
3. 1. 2. Mikrobiyolojik Test Örneklerinin Yüzey Topografilerinin İncelenmesi	42
3. 1. 3. Bakteri Kültürleri	43
3.1.3.1 Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması	43
3.1.3.2 Bakteri Kültürlerinin Sayılması	44
3. 2. Biyokimyasal İncelemeler	44
3. 2. 1. Hastaların Seçilmesi	44
3. 2. 2. Örneklerin Toplanması	45
3. 2. 3. İmplant çevresi oluk sıvısında MMP-8, IL-1 β ve TNF- α Analizi	45
3.2.3.1 MMP-8, IL-1 β ve TNF- α Değerlerinin Hesaplanması	48
4. BULGULAR	49
4. 1 Mikrobiyolojik Bulgular	49
4. 1. 1. Mikrobiyolojik Test Örneklerinin Yüzey Topografileri	49
4. 1. 2 Örnekler Üzerine Yapışmış Bakteri Kolonilerinin Değerlendirilmesi	53
4. 2. Biyokimyasal Bulgular	55
5. TARTIŞMA	57

6. SONUÇ ve ÖNERİLER	63
7. KAYNAKLAR	64
8. ÖZGEÇMİŞ	84

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Dental implantın parlak transmukozal kısımları. a: implant boyun bölgesi, b: implant krestal modülü	6
Şekil 2.2: Dental implant iyileşme başlığı.	7
Şekil 2.3: Kemik seviyesi implantlar.	8
Şekil 2.4: Kemik seviyesi implantlarda protetik parçalar üzerindeki transmukozal kısımlar. x: protetik alt yapı parçası üzerinde bulunan transmukozal kısımlar.	8
Şekil 2.5: Transmukozal ataşman. BG: biyolojik genişlik, DK: dişeti kenarı, PMK: periimplant mukoza kenarı, OD: oluk derinliği, Oau: oluk apikal uzanımı, BE: bağlantı epiteli, BEau: bağlantı epitelinin apikal uzanımı, DKT: konnektif doku teması, KT: kemik teması, KİT: kemik implant teması	10
Şekil 2.6: Subepitelyal bağ doku şeması. A: subepitelyal bağ doku iç kısmı B: subepitelyal bağ doku dış kısmı	11
Şekil 2.7: İmplant ve diş çevresindeki kolajen lif kümelerinin yerleşimi D: diş, İ: implant	12
Şekil 2.8: Periimplantitis bölgesinin radyografik görüntüsü.	16
Şekil 2.9: Streptokok sanguis'in gram boyama ve SEM görüntüsü.	18
Şekil 2.10: Streptokok mutans'ın gram boyama ve SEM görüntüsü.	19
Şekil 2.11: Karbonun sekiz allotropu	31
Şekil 2.12: A. Grafit (Sp ²) ve B. Elmas (Sp ³) bağları	32
Şekil 2.13: DLC'nun bazı formlarını gösterir faz diyagramı	32

Şekil 2.14: PECVD kaplama sistemine bir örnek şema	39
Şekil 3.1: Mikrobiyolojik test örnekleri.	42
Şekil 3.2: Atomik kuvvet mikroskobu (AFM)	43
Şekil 3.3: Floresan mikroskop	44
Şekil 3.4: ELISA kit örneği	46
Şekil 3.5: Mikroplak ve otomatik pipet	47
Şekil 4.1: Cilalı Ti disk yüzeyinin AFM görüntüsü	50
Şekil 4.2: Titanyum Nitrit (TiN) kaplı disk yüzeyinin AFM görüntüsü	51
Şekil 4.3: DLC kaplı disk yüzeyinin AFM görüntüsü	52
Şekil 4.4: Diskler üzerinde biriken <i>S.mutans</i> sayısı	54
Şekil 4.5: Diskler üzerinde biriken <i>S.sanguis</i> sayısı.	54
Şekil 4.6: Günlere ve materyale göre MMP-8 miktarı	56
Şekil 4.7: Günlere ve materyale göre IL-1 β miktarı	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1: Elmas, Grafit ve DLC malzemelerin özellikleri	35
Çizelge 3.1: Mikrobiyolojik test örneklerinde kullanılan Ti alaşımının kimyasal bileşimi	40
Çizelge 4.1: AFM ile yüzey topografisinin tanımlanması (R_a and R_{max} ortalama değerlerinin μm cinsinden değeri)	49
Çizelge 4.2: Titanyum diskler üzerine yapışan bakteri sayısı	53
Çizelge 4.3: ELISA ile ölçülmüş MMP-8 ve IL-1 β seviyeleri	55
Çizelge 4.4: ELISA ile ölçülmüş MMP-8 ve IL-1 β seviyelerinin p değeri tablosu.	55
Çizelge 4.5: ELISA ile ölçülmüş MMP-8 ve IL-1 β seviyelerinin p değeri tablosu	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DLC:	Elmas Benzeri Karbon
PİOS:	İmplant Çevresi Oluk Sıvısı
DOS:	Dişeti Oluğu Sıvısı
TiN:	Titanyum Nitrit
ZrN:	Zirkonyum Nitrit
Cp Ti:	Ticari Saf Titanyum
AFM:	Atomic Force Microscope
ELISA:	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
IL-1:	İnterlökin 1
TNF- α :	Tümör Nekrozan Faktör Alfa
PG:	Prostaglandin
PDGF:	Platelet Derived Growth Factor
FGF:	Placental Growth Factor
MMP:	Matriks Metalloproteinaz
a-C:	Amorf Karbon
a-CH:	Hidrojenize Amorf Karbon
ta-C:	Tetragonal Amorf Karbon
ta-CH:	Hidrojenize Tetragonal Amorf Karbon
CVD:	Chemical Vapour Deposition
PVD:	Physical Vapour Deposition
PECVD:	Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition
PACVD:	Plasma Assisted Chemical Vapor Deposition
R _a :	Ortalama Pürüzlülük
R _{max} :	Maksimum Pürüzlülük
NiTi:	Nikel Titanyum

ÖZET

TİTANYUM YÜZEYLER ÜZERİNDEKİ ELMAS BENZERİ KARBON KAPLAMANIN MİKROBİYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL AÇIDAN ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ

Dental implantların uzun dönem başarısında implant çevresi yumuşak doku bariyerinin devamlılığının önemi büyüktür. Bu bariyer sayesinde kemik ve implantın direk temasının mikroorganizmalarla kontaminasyonu engellenir ve bu bölgedeki enflamasyon riski azalmış olur.

Ticari olarak saf Ti'dan yapılmış implantlarda bakteriyel tutunmanın azaltılması için transmukozal kısımlar pürüzsüzleştirilse de, Ti'un antibakteriyel etkinliğinin düşük olduğu varsayılarak bu kısımların hem fiziksel hem de biyouyumluluk açısından daha üstün özellikleri olan kaplama materyalleri ile kaplanması gündeme gelmiştir.

Elmas benzeri karbon (DLC), elmas ve grafit gibi kristal yapıları karbonlarla yarışan, bazı ilginç özelliklere sahip amorf bir karbon yapısıdır. DLC' nin çok sayıdaki üstün özelliği göz önünde bulundurulduğunda, DLC kaplamanın yüzey pürüzlülüğü ve bunun sonucunda bakteriyel yapışmayı azaltarak, enflamasyonun önlenmesinde olumlu etkisi olup olmadığı incelenmelidir.

Bu çalışmanın amacı, 1) DLC kaplı, titanyum nitrit (TiN) kaplı ve cilalı Ti disklerin pürüzlülüğünün AFM ile karşılaştırılması 2) Bu yüzeyler üzerine biriken S.mutans ve S.sanguis miktarlarının karşılaştırılması 3) DLC kaplı, TiN kaplı ve herhangi bir yüzey kaplaması yapılmamış cilalı iyileşme başlıklarının çevresindeki PİOS'tan alınan örneklerdeki inflamasyon işaretçilerinin ELISA yöntemiyle karşılaştırılmasıdır.

5mm çapında ve 2 mm kalınlığında 10 adet TiN kaplı, 10 adet DLC kaplı ve 10 adet ticari olarak saf Ti, disk şekilli örnekler hazırlanmıştır. Örneklerin yüzey işlemleri tamamlandıktan sonra yüzey topografileri AFM ile incelenmiştir. Aynı örnekler S.mutans ve S.sanguis besiyerlerine yerleştirilerek, diskler üzerinde birikmiş bakteri sayısına bakılmıştır.

Enflamasyon işaretçilerinin tespiti için ise hastalardan alınan, TiN kaplı, DLC kaplı ve ticari saf Ti iyileşme başlıklarının çevresindeki implant çevresi oluk sıvısı örnekleri ELISA yöntemiyle analiz edilmiş, tüm veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Mikrobiyolojik testlerin sonuçlarında, alınan AFM görüntüleriyle bağlantılı olarak azalmış yüzey pürüzlülüğüne bağlı olarak, DLC kaplı örneklerde bakteriyel yapışmanın istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür.

ELISA testi sonuçlarına göre, kullanılan yüzey kaplamalarının PİOS'daki inflamasyon işaretçilerinin miktarına etki etmediği bulunmuştur. Dolayısı ile DLC kaplamanın, implantların transmukozal kısımlarında kullanılmalarının herhangi bir yan etkisi olmadığı düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: elmas benzeri karbon, titanyum nitrit, bakteri adezyonu, inflamatuvar işaretçiler, transmukozal ataşman.

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF MICROBIOLOGIC AND BIOCHEMICAL EFFECTIVENESS OF DIAMOND LIKE CARBON COATING OVER TI SURFACES

The durability of surrounding soft tissue barrier has great effect on long term success of dental implants. This barrier prevents the bone-implant interface from the microorganisms and by this way it can reduce the risk of inflammation.

As the antibacterial effect of Ti is supposed to be nominal, the polished transmucosal part of commercially pure Ti implants can be coated with hard coating materials which have excellent physical and biological properties.

Diamond-Like Carbon (DLC) films are amorphous carbon based coatings containing sp² and sp³ bonded carbon atoms with varying hydrogen concentrations. Their significantly high concentration of sp³ carbon bonds confers valuable 'diamond-like' properties. Considering the excellent properties of DLC, especially the low surface roughness, DLC coating should be investigated as a film for reducing microbial adhesion and having positive effect on preventing inflammation.

The purpose of this study is (i) to compare the surface roughness of DLC coated, TiN coated and polished Ti discs with AFM (ii) to compare the number of adhered *S.mutans* and *S.sanguis* on these surfaces (iii) to compare the amount of inflammation markers which were collected from the periimplant sulcus fluid of DLC coated, TiN coated and polished healing caps.

DLC coated, TiN coated and commercially pure Ti disc shaped samples, each for 10, were prepared in diameter of 5mm and thickness of 2mm. After the surface preparations, surface topography of samples were examined with AFM. The same samples were incubated in a suspension containing *S. mutans* and *S. sanguis*, then the adhered bacteria were counted.

For detecting the inflammation markers, the samples collected from the periimplant sulcus fluid of TiN and DLC coated and polished Ti healing caps were analyzed with ELISA.

As a result of microbiological tests, according to the reduced surface roughness proven with AFM images, the decreased number of adhered bacteria on DLC coated discs were statistically significant.

According to the ELISA test, it was found that the surface coatings have no effect on reducing the amount of inflammation markers at periimplant sulcus fluid. Hence no adverse effect has been found on application of diamond like carbon coating at transmucosal part of the implants.

Keywords: diamond like carbon, titanium nitrite, bacterial adhesion, inflammation markers, transmucosal attachment

1. GİRİŞ

Dental implantların uzun dönem başarısı, implantın kemik içerisindeki primer stabilitesine¹⁻³ ve çevresindeki yumuşak doku bariyerinin devamlılığına bağlıdır⁴⁻⁶. Yumuşak doku bariyerinin devamlılığını artırmak için implant transmukozal kısmının mekanik ve fiziksel özelliklerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar halen yapılmaktadır⁷⁻¹⁰.

İmplantın alveolar kemik içerisine yerleştirilmesinden sonraki iyileşme süreci, inflamasyon ve yeni doku oluşumunu takiben travmatize dokuların rezorbsiyonunu içeren bir seri aşamadan oluşur. İmplantın uzun dönem başarısı yabancı implant materyali ve çevre dokular arasında oluşan biyolojik ataşmana bağlıdır. Bu yüzden, başarılı implant tedavisi, implantın hem kemiğe hem de yumuşak dokuya entegre olmasına ihtiyaç duyar. İmplant ve epitel arasındaki bağlantının oluşmasında ve korunmasında bağ doku oluşumundaki sitokin-kaynaklı reaksiyonların rolü büyüktür. Bu süreç, yumuşak doku oluşumu sırasında fibroblastların farklılaşma ve proliferasyonu ve ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezini içerir. Ancak bu iyileşme sürecinde implantın yerleştirildiği bölgenin bakteriyle kontaminasyonu, yumuşak ve sert dokuların iyileşmesinde olumsuz etkiler yapar¹¹. Önce yumuşak dokuda enflamasyona neden olan bakteri kontaminasyonu, daha sonra kemiği de etkileyecek şekilde ilerleyerek implantın klinik başarısını tehlikeye sokabilir¹².

Dental implantların kaybına neden olan mekanizmalar, diş kaybına neden olan mekanizmalarla benzer özellikler gösterirler^{13,14}. İmplantlar çevresindeki inflamasyon immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, predominant hücre kompozisyonunun yine lenfosit, makrofaj, fibroblast ve çok az sayıda plazma hücresi içeren hücrel infiltrat varlığıyla karakterize olduğu görülmüştür¹⁵⁻¹⁷. İmplant çevresi oluk sıvısı (PİOS) bileşenlerinin analizi, implant çevresindeki konak inflamatuvar ve immun cevap hakkında önemli bilgiler verir¹⁸. Lezyonun başlangıcı ve erken gelişimi, proteolitik enzimler gibi bakteriyel metabolitlerle, lipopolisakaritler gibi yüzey molekülleriyle, birçok tip sitokin salgılayan konak hücreleriyle indüklenir¹⁹. Doku yıkımında bakteriyel kontaminasyonunun yanında konak cevabının da etkisi büyüktür¹⁹. İmplant çevresindeki

patolojik süreçler erken dönemde PİOS'daki biyokimyasal işaretçilerin analiziyle belirlenebilir²⁰.

İmplant transmukozal kısımlarında mikrobiyal biyofilm birikimine bağlı olarak oluşan erken inflamasyona peri-implant mukositis denir²¹. Periimplant mukozitisin önlenmesinde, titanyum (Ti) yüzeylere oral bakterilerin adezyonunu engellemek önemlidir^{13,22}. Bakteri miktarının azalmasıyla implant çevresindeki yumuşak dokulardaki inflamasyon da önemli derecede azalır²³. Bakteri adezyonu engellenmezse, inflamasyon kemik dokusuna ilerler ve sonrasında implant başarısızlıklarının major nedeni olan periimplantitis ile sonuçlanabilir²¹.

Ağız içinde biyofilm tabakasını oluşturan major bakteriler Streptokok mutans ve Streptokok sanguis, sert dokulara yapışan ilk bakterilerdir. Genellikle bu mikroorganizmalar tekli hücre tabakasını oluştururlar ve sonrasında bakteri yığını komşu biyofilm tabakalarının birleşmesiyle hacimsel ve boyutsal olarak büyürler. Fusobacterium, capnocytophaga ve prevotella türlerinin bu bakteri tabakası üzerine yapışmasıyla da mukozal enfeksiyonlar meydana gelir^{24,25}.

İmplant yüzeylerine bakteriyal adezyonun azaltılmasında transmukozal kısımlarda oluşan epitel ve bağ doku ataçmanlarının olumlu etkileri vardır. Bu yüzden transmukozal kısımların yüzey karakteri ve kimyasal kompozisyonu çok önemlidir. Birçok çalışma yüzey pürüzlülüğü ve bakteriyal adezyon arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir^{21,26-28}.

Ti yüzeylerin antibakteriyel özelliği yoktur ve bakteri adezyonu için uygun bir ortam oluşturur²⁹. Bu nedenle, bakteri adezyonunu engellemek için bazı yüzey modifikasyonlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, titanium nitrit (TiN) ve zirkonyum nitrit (ZrN) gibi sert kaplama teknikleriyle kaplanan Ti yüzeylerin fiziksel özelliklerinin ve transmukozal kısımda anti-bakteriyel etkinliğinin geliştirildiği görülmüştür^{7,23,30,31}.

Son dönemlerde, yüzey kaplamalarının alttaki materyalden ayrılması gibi durumları çözebilmek için yeni teknikler geliştirilmeye başlanmıştır^{32,33}. Elmas benzeri karbon (Diamond-like Carbon - DLC), bu problemleri çözmek için kullanılacak, kabul edilebilir özelliklere sahip yeni bir materyaldir. Elmas ve grafit gibi kristal yapılı karbonlarla yarışan bazı ilginç özelliklere sahip amorf bir karbon yapısıdır.

Bu çalışmadaki amaçlar,

- 1) DLC kaplı, TiN kaplı ve herhangi bir yüzey kaplaması yapılmamış Ti disklerin pürüzlülüğünün atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile karşılaştırılması,
- 2) DLC kaplı, TiN kaplı ve herhangi bir yüzey kaplaması yapılmamış Ti diskler üzerine biriken *S. Mutans* ve *S. Sanguis* miktarlarının karşılaştırılması,
- 3) DLC kaplı, TiN kaplı ve herhangi bir yüzey kaplaması yapılmamış iyileşme başlıklarının çevresindeki PİOS'tan alınan örneklerdeki inflamasyon işaretçileri enzim ilintili immün test (ELISA) yöntemiyle karşılaştırılmasıdır.

Bu çalışmanın hipotezleri:

DLC kaplı diskler, TiN kaplı diskler ve herhangi bir yüzey kaplaması yapılmamış Ti diskler ile karşılaştırıldığında yüzey pürüzlülüğü daha düşük bulunacaktır. Düşük yüzey pürüzlülüğü nedeniyle DLC kaplı diskler üzerinde bakteri birikimi ve DLC kaplı iyileşme başlıkları çevresindeki PİOS'dan alınan örneklerdeki enflamasyon işaretçilerinin miktarı daha az olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dental İmplant Tanımı

Vücut içerisine yerleştirilerek bir doku veya organın işlevini yerine getiren yapay cisimlere medikal bilimlerde “implant” adı verilir. Sözcük kökeni olarak “implant”, Latince “implantare”, bitki ekmek fiilinden türemiştir. Ağız içersinde diş kökü işlevini görmek üzere yerleştirilen yapay malzemelere de dental implant denilmektedir. Dental implant; sabit veya hareketli proteze destek ve tutuculuk sağlamak amacıyla mukoza ve/veya periost tabakasının altına ve/veya çene kemiğinin içine yerleştirilen, alloplastik materyalden yapılmış protetik bir gereçtir³⁴. Kullanılan diğer eşanlamlı isimleri; oral implant, kemik içi implant ve endosseöz implant sözcükleridir.

Modern diş hekimliğinin amacı, stomatognatik sistemin atrofisi, rahatsızlığı ve zedelenmesinden bağımsız olarak, hastanın normal kontur, fonksiyon, rahatlık, estetik, konuşma ve sağlığının yeniden sağlanmasıdır³⁵. Bu konuda devam eden araştırmalar, birçok farklı klinik durumun rehabilitasyonu için farklı implant tasarımları, materyalleri ve yöntemlerinin başarısını öngörmektedir³⁶⁻³⁸.

2.2. Dental İmplantların Başarısı

Dental implantların uzun dönem başarısı, implantın kemik içerisindeki primer stabilitesine¹⁻³ ve çevresindeki yumuşak doku bariyerinin devamlılığına bağlıdır⁴⁻⁶. Primer stabilite, ilk kez 1977 yılında Branemark³⁹ tarafından tanımlanan osseoentegrasyona, yani canlı kemik ve implant yüzeyi arasındaki yapısal ve fonksiyonel direk temasa bağlıdır. Bu direk temasın bozulması implant tedavilerinde başarısızlıklara neden olur³⁹. Osseoentegrasyon sırasında mikro hareketlerin engellenmesinin⁴⁰ ve transmukozal kısımlarda yumuşak doku bariyeri oluşumunun⁴¹ osseoentegrasyonun sağlanmasında önemi büyüktür. Bu koşullar sağlanmadığında, epitel kemik-implant arayüzünde apikale doğru ilerler ve enkapsülasyon dediğimiz osseoentegrasyon kaybıyla sonuçlanan olay meydana gelir⁴². Bu problemlerin üstesinden gelmek için yapılan çalışmalar halen devam etmektedir⁴³.

Mikro hareketlerin engellenmesi için iki aşamalı implant sistemleri kullanılmaktadır. Bu sistemlerin amacı, osseoentegrasyon tamamlanana kadar implanta istenmeyen yüklerin gelmesini engellemektedir. Ancak ikinci cerrahi sonrasında yumuşak dokuların tekrar iyileşmesi için geçen süre, protez yapımını geciktirmektedir⁴⁴. Bu nedenle yükleme süresinin daha kısa olduğu tek aşamalı sistemler gündeme gelmiştir⁴⁵. Bu sistemlerde flep, cilalı transmukozal yüzey açıkta bırakılacak şekilde suture edilir ve osseoentegrasyon süresinde yumuşak doku bariyerinin de oluşması sağlanmış olur.

Son dönemlerde yapılan çalışmalarla implant vücut kısmına yapılan yüzey kaplamalarıyla osseoentegrasyonla ilgili problemlerinin çoğu çözülmüştür. Ancak yumuşak doku bariyeri oluşması ve devamlılığının korunması için implantın transmukozal kısımlarının mekanik ve fiziksel özelliklerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar halen devam etmektedir⁷⁻¹⁰.

2.3. Dental İmplantın Transmukozal Kısımları ve Transmukozal Ataşman

2.3.1. Dental İmplantın Transmukozal Kısımları

Yumuşak doku bariyerinin devamlılığı için implantın transmukozal parçaları büyük önem taşır.

Transmukozal kısım:

1. Krest modülü
2. Boyun bölgesi
3. İyileşme başlığı parçalarından oluşmaktadır.

2.3.1.1 İmplant Krest Modülü:

Krest modülü 2 aşamalı sistemlerde, implant vücut kısmında, protetik kısmın tutunması için tasarlanmış, krest tepesindeki transosteal bölgeye geçiş kısmıdır. Bazı implant sistemlerinde yumuşak dokuya geçiş için tasarlanır. Protetik alt yapı bağlantı alanı genellikle protetik alt yapının yerleştiği bir platformdur ve aksiyal yöndeki okluzal kuvvetlere karşı direnç gösterir. Rotasyona karşı olan komponent sıklıkla platform üzerine yerleşir fakat implant vücut kısmına doğru uzanır.

İmplant vücut kısmında daha iyi bir osseoentegrasyon sağlamak için hazırlanmış makroskobik özelliğe sahip yüzey, krest modülünde plak retansiyonuna neden olarak kemik kaybıyla sonuçlanabileceğinden, pürüzsüz bir yapıya dönüşür^{35,41}(Şekil 2.1).

2.3.1.2. İmplant Boyun Bölgesi

İmplant krest modülünün üst kısmı, boyun bölgesi ile devam eder. Metal boyun bölgesi, bu kısma kadar kemiğin fonksiyonel olarak yeniden şekillenmesine izin verir. İmplant çevresindeki kemik iyileşmesine yönelik yapılan çalışmalar, krestal bölgede yeniden şekillenmenin, pürüzsüz boyun bölgesiyle sınırlı olduğunu gösterir⁴⁶.

Yeniden şekillenme sonucunda, sulkus epiteli boyun bölgesinin tabanına kadar ilerler. Bu bölgede çevresel periodontal liflerin sıkı adaptasyonu görülür.

İmplant boyun bölgesi stresin ciddi boyutlarda olduğu kret tepesinde biyomekanik destek sağlar.

Bu nedenlerle yaklaşık 0,5-1 mm yüksekliğindeki boyun bölgesi biyolojik açıdan ve protezin alt yapısının bağlanması açısından avantaj sağlarken, biyomedikal dezavantajları sınırlar^{35,41}(Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Dental implant. Parlak transmukozal kısımlar. a: implant krestal modülü, b: implant boyun bölgesi.

2.3.1.3. İmplant İyileşme Başlığı:

İki aşamalı sistemlerde osseoentegrasyon tamamlandıktan sonra, implantın üzerini açmak ve transmukozal kısma bağlanmasını sağlamak için ikinci aşama cerrahisi yapılır. Bu transmukozal kısma permukozal uzanım denir çünkü bu kısım, implantın yumuşak doku üzerine uzanmasını ve implant çevresinde bir permukozal tıkanmanın oluşumunu sağlar. İkinci aşama cerrahisiyle yerleştirilen iyileşme başlığı, yumuşak dokunun ilk iyileşmesini sağlar. Tek aşamalı sistemlerde iyileşme başlığı implant yerleştirirken takılır ve permukozal tıkanmanın supragingival olabilmesi için servikal boyun kısmı yeterli yükseklikte olan implant tasarımları tercih edilir. Bu iyileşme başlıkları yumuşak doku değişikliklerine uyum sağlayacak şekilde farklı yüksekliklerde ve yumuşak doku iyileşirken şekillenmesine yardım edecek şekilde dik, açılı veya anatomik formda olabilir³⁵(Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Dental implant iyileşme başlığı.

Son dönemde piyasaya sürülen kemik seviyesi implantlarla tüm bu transmukozal parçaların protetik alt yapılara taşındığı görülmektedir (Şekil 2.3). Bu sistemlerde implant vücut kısmı; implant stabilitesini artıracak şekilde tamamen pürüzlü yüzeye sahiptir. Kemik içerisinde kalan kısım ise, mikrobiyal plak retansiyonunu engellemek için hazırlanmıştır. Mukozal ataçmanın olduğu cilalı yüzeylerin tamamı protetik parçalar üzerinde bulunmaktadır (Şekil 2.4). Tedavi boyunca hem geçici hem de daimi restorasyonların yapımıyla optimal dişeti geçiş profili sağlanırken, kemik içindeki tamamen pürüzlü yüzeyle erken dönem yüklemelerdeki komplikasyon riski de en aza indirilmiş olur. İşlemler sırasında protetik parçalar yerleştirilirken dokularda bir zedelenme ve hastalarda ağrı olmaz.



Şekil 2.3: Kemik seviyesi implantlar⁴⁷.

Kemik seviyesi implant sistemlerinde implant ve protetik kısımlar arasındaki, kemikten horizontal olarak eşit uzaklıktaki mikro boşluk biyolojik genişlik olarak adlandırılır. Pürüzsüz yüzeyden pürüzlü yüzeye geçiş, osseointegrasyon için maksimum yüzey alanının sağlanacağı optimal seviye olan krestal kemik seviyesindedir. Konik implant ve protetik alt yapı bağlantısı arasındaki sıkı temas mikro hareketleri ve mikro boşlukları engeller⁴⁷.



Şekil 2.4: Kemik seviyesi implantların protetik parçalarındaki transmukozal kısımlar. x: protetik alt yapı parçası üzerinde bulunan transmukozal kısımlar⁴⁷

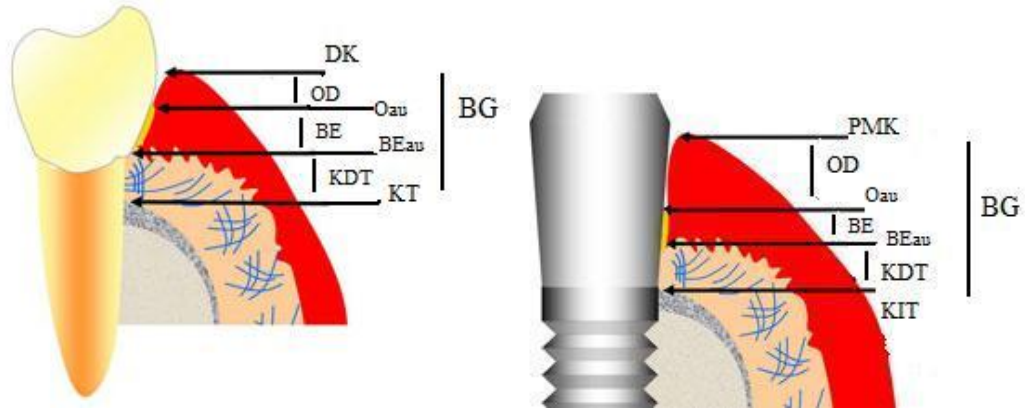
2.3.2. Transmukozal Ataşman

2.3.2.1 Transmukozal Ataşman Yapı ve Fonksiyonu

İmplant cerrahisi sonrasında flepler kapatıldıktan sonraki yara iyileşmesi, implant yüzeyinde mukozal ataşmanın oluşmasıyla sonuçlanır. Kemik implant birleşimini oral kaviteden gelen ürünlere karşı koruyan bu yapıya, transmukozal ataşman denir⁴⁸ (Şekil 2.5).

Ticari olarak saf titanyumdan yapılmış implantları çevreleyen mukozanın yapı ve fonksiyonu birçok insan ve hayvan modelinde yapılan çalışmalarla incelenmiştir. Titanyum ve yumuşak doku ara yüzünün ultra-ince kesitlerini hazırlamak zor olduğundan bu yapıyı insan çalışmalarında incelemek oldukça zordur¹². Berglundh et al.⁴⁹ 1991 yılında yaptıkları erken dönem köpek modeli çalışmasında dişeti ve implant çevresindeki mukozanın, birçok ortak yönü olduğunu, en önemli farkın bağ dokunun yapısında olduğunu belirtmiştir.

Gingiva ve implant çevresi mukozanın mikroskopik açıdan da birçok ortak özelliği vardır. Keratinize gingiva ve keratinizasyonu daha fazla olan implant çevresi mukozanın oral epiteli, yaklaşık 2 mm uzunluğundaki bağlantı epiteli ile devam eder. Dişte bağlantı epiteli, mine sement birleşim yerinde sonlanır. İmplant bölgesinde ise bağlantı epitelinin apikal kısmı ile alveolar kemik arasında inflamasyonsuz, kolajenden zengin, hücreden zayıf bağ doku alanı bulunur. 1-1,5 mm yüksekliğinde ve bağlantı epiteliyle devamlılık gösteren bu alan, epitel ile birlikte yaklaşık 3-4 mm yüksekliğindeki implant-mukoza ataçmanını oluşturur⁴⁹⁻⁵¹. Kolajenden zengin bölgede lifler implant yüzeyine paralel şekilde seyrederek ve marjinal kemiğe yerleşir⁵². Protetik alt yapı yerleşiminden sonra bağlantı epitelinin kemik tepesine hiçbir zaman ulaşmadığı ve yaklaşık 1 mm üzerinde sonlandığı gösterilmiştir⁵³. Bu konuyla ilgili yapılan diğer bir çalışmada, klinik olarak sağlıklı implant çevresi mukozanın implant yüzeyine 2 mm uzunluğundaki bağlantı epiteli ve 1 mm yüksekliğindeki bağ doku bölgesiyle bağlandığı gösterilmiştir⁵⁴.

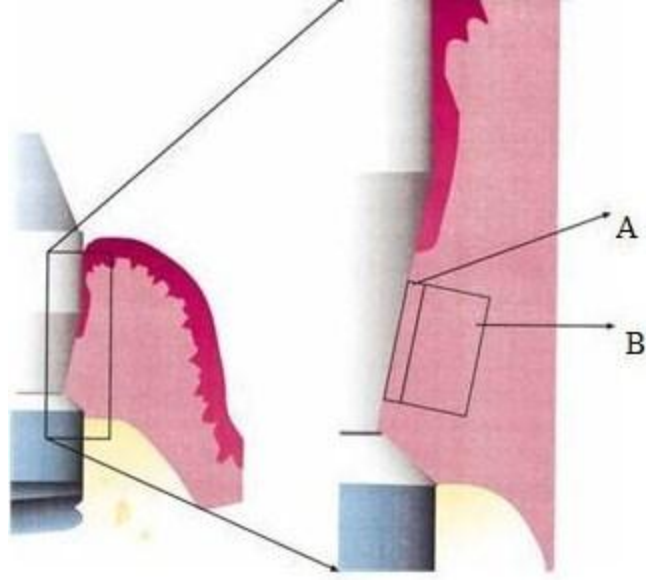


Şekil 2.5: Transmukozal ataşman. BG: biyolojik genişlik, DK: dişeti kenarı, PMK: periimplant mukoza kenarı, OD: oluk derinliği, Oau: oluk apikal uzanımı, BE: bağlantı epiteli, BEau: bağlantı epitelinin apikal uzanımı, KDT: konnektif doku teması, KT: kemik teması, KİT: kemik implant teması⁵⁵

Branemark et al.⁵⁶, klinik olarak sağlıklı dişetin, damarlar çevresinde lokalize olmuş farklı miktarlarda dağılmış yuvarlak hücre (lenfosit, plazma hücreleri) içeren keratinize epitel olduğunu rapor etmiştir. Bu keratinize epitelin farklılaşarak non-keratinize epitele dönüştüğünü ve protetik alt yapıya bağlantı epiteli gibi yapıştığını göstermiştir. 5 yıllık vakalarda ‘oluk’ epiteli yüksekliğinin yaklaşık 2 mm civarında değiştiği görülmüştür. Apikalde sınır bölgesi mezotelyal görünümlü hücrelerden oluşmakta ve epitel ve mezoteloid sınırdaki geçişte sıklıkla sınırlı sayıda yuvarlak hücrelerin subepitelyal grupları görülmektedir. Bu bölgede kolajen lifler oldukça yoğundur. Ayrıca fazla miktarda bağ doku hücreleri içerir. Kolajen lifler protetik alt yapıya, kelepçe gibi saracak şekilde yaklaşır. Bu seviyenin altında marjinal kemik dokusu iyi organize olmuştur ve herhangi bir inflamasyon belirtisi yoktur. Histolojik olarak Ti yüzeye yakın boşluklardaki osteositler ve kan damarları normal görünümlüdür⁵⁶.

Bariyer görevi gören transmukozal ataşman bölgesindeki bağ doku, diş dokusuna göre, daha fazla kolajen, fakat daha az sayıda fibroblast ve damarsal yapı içerir. Transmukozal ataşman bölgesindeki bağ doku kompozisyonunun ayrıntılı analizinin yapıldığı bir çalışmada, subepitelyal bağ dokunun, bariyer epitelinin apikal kısmıyla, implantı destekleyen alveolar kısım arasında lokalize olduğu ve 2 farklı kısımdan oluştuğu gösterilmiştir. İç kısmın (A) 40 µm genişliğinde, implant yüzeyinin hemen yanında, vaskülarizasyonu zayıf, implant yüzeyine paralel yoğun kolajen fibriller ve fibroblastlardan (kolajen %67, damarsal yapı %0,3, fibroblast %32)⁵⁷⁻⁶², dış kısmın

(B) ise 160 μ m kalınlığında daha az fibroblast, daha fazla kolajen lif ve damarsal yapıdan (kolajen %85, damarsal yapı %3, fibroblast %11)⁵⁸ oluşan bir yapı olduğu bulunmuştur (Şekil2.6).



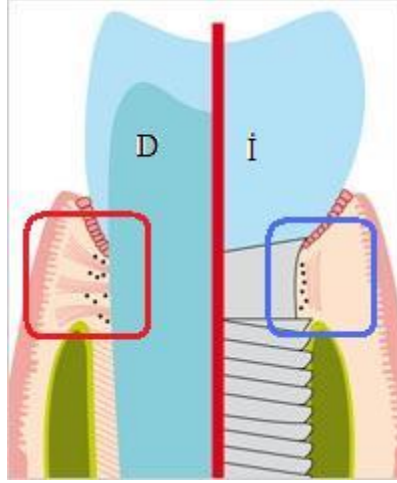
Şekil 2.6: Subepitelyal bağ doku şeması. A:subepitelyal bağ doku iç kısmı B:subepitelyal bağ doku dış kısmı⁵⁸

Tek aşamalı ve iki aşamalı implant sistemleri karşılaştırıldığında yine bağlantı epiteli ve kolajenden zengin bağ doku alanının benzer ataçman karakterine sahip olduğu rapor edilmiştir. Titanyum yüzeylerde yumuşak doku iyileşmesi ve mukozal ataçman oluşumu sistemin bir veya iki aşamalı olmasından bağımsızdır⁶³. Kemiğe gömülmüş ve gömülmemiş implantların yumuşak doku boyutu ve marjinal kemik seviyesi incelendiğinde, bir çalışma iki sistem arasında fark olmadığını gösterirken⁶⁴, diğer bir çalışmada kemiğe gömülmüş implantlarda kemik seviyelerinde fark olmadığı, bağlantı epitelinin daha apikalde sonlandığı bulunmuştur⁶⁵.

Diş ve implantların supra-alveolar kısmındaki bağ dokusu kalite ve kompozisyonu Berglundh et al.⁵¹ tarafından incelenmiştir. Araştırmalar diş ve implanttaki mezenşimal dokular arasındaki asıl farklılığın kök yüzeyindeki (selüler veya aselüler) sement olduğunu göstermiştir.

Dişte dento-gingival ve dento-alveolar kolajen lif kümeleri sementten, lateral, koronal ve apikal yönde çıkarırken, implant etrafındaki kolajen lif kümeleri tamamen

farklı bir şekilde yerleşirler. Lifler kret tepesindeki periosta gömülürler ve implant yüzeyiyle paralel yönde seyrederekler.



Şekil 2.7: İmplant ve diş çevresindeki kollojen lif kümelerinin yerleşimi. D:diş, İ:implant⁶⁶

İmplanttan uzak alanlarda ise implant yüzeyine dik olarak daha çok veya daha az sayıda devam eden kaba kümeler şeklinde sıralanırlar. Bu ‘horizontal lifler’, ‘vertikal’ yöne doğru bükülerek, implant yüzeyine paralel olacak şekilde, implanta doğru yaklaşır⁴⁸(Şekil 2.7).

2.3.2.2 Transmukozal Ataşman Yıkımı

Dental implant tedavilerinin başarısında mukozal ataşman devamlılığının korunması önemlidir. Orijinal ataşmanın zedelenmesi durumunda, yara iyileşmesi süreci yeniden başlar. Abrahamsson et al.⁶⁷ protetik alt yapı parçasının her takılıp çıkarılmasında orijinal ataşmanın zedelenildiğini, sonrasındaki yara iyileşmesinde ise daha önceden oluşmuş bağ doku ve ataşman bölgesine ek bir epitelyal migrasyon olduğunu göstermiştir. Bu durum, ‘biyolojik boşlukta’ yeni bağ doku ataşmanına yer sağlamak için marjinal kemik rezorbsiyonuna neden olabilir.

Dental implantların başarısında önemli olan transmukozal ataşmanın yıkımı implant başarısızlıklarının temel nedenlerinden biridir ve mikrobiyolojik etkenlere bağlı olarak meydana gelen enflamasyonlar sonucunda oluşur.

2.4 İmplant Tedavilerindeki Başarısızlıklar:

İmplant tedavilerinde başarısızlıklar meydana gelebilir. Bu başarısızlıklar hem implantın yerleştirilmesinden sonraki erken dönemde, hem de implant destekli restorasyonların uzun süreli fonksiyonu sonrasındaki komplikasyonlara bağlı olarak oluşabilir⁶⁸.

Alveolar kemik içerisine implant yerleştirildikten sonraki iyileşme, enflamasyon ve yeni doku oluşumunu takiben travmatize dokuların rezorbsiyonunu içeren bir seri aşamadan oluşur. İmplantın uzun dönem başarısı yabancı implant materyali ve çevre dokular arasında oluşan biyolojik ataçmana bağlıdır⁶⁹⁻⁷¹. Bu yüzden, başarılı implant tedavisi, implantın hem kemiğe hem de yumuşak bağ doku ve epitele entegre olmasına ihtiyaç duyar. İmplant ve epitel arasındaki entegrasyon için bağ doku oluşumundaki sitokin-kaynaklı reaksiyonların anlaşılması gerekir^{58,72,73}. Bu süreç, yumuşak doku oluşumu sırasında fibroblastların farklılaşma ve proliferasyonunu ve ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezini içerir¹¹.

Mikrobiyal kaynaklı yumuşak doku enflamasyonu, daha sonra kemiği de etkileyecek şekilde ilerleyerek implantın klinik başarısını tehlikeye sokabilir¹². Bu yüzden ağızdaki implant yüzeylerinin kontamine olmaması veya kontamine olmuş yüzeylerden bakteriyel plağın uzaklaştırılması büyük önem taşır.

Dental implantların klinik başarısı birçok çalışma ile kanıtlanmıştır. Dental implantların başarısızlığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmaların bir kısmında başarısızlık oranları üzerinde durulurken^{74,75}, geç başarısızlıkların periimplant mukozitisten ve aşırı yükten kaynaklandığını rapor eden çalışmalar da mevcuttur⁷⁶.

Dünya üzerinde erişkin popülasyonun yaklaşık %50 sinde⁷⁷, en sık rastlanılan hastalıklardan biri olan periodontal hastalık, dişleri çevreleyen dokuların bakteriyel irritasyonu ile karakterizedir ve ciddi durumlarda diş kaybıyla sonuçlanır⁷⁸. Her ne kadar peri-implant dokular doğal dişlerden biraz farklılık gösterse de, dental implant kaybına neden olan mekanizmaların periodontitisle benzer özellikler taşıdığı görülmektedir^{13,14}.

Erken dönem implant başarısızlığı, implantın yerleştirildiği bölgenin bakteri kontaminasyonu ile ilgili enflamasyonu sonucu, yumuşak ve sert dokuların iyileşmesini bozan veya engelleyen durumlar sonucunda oluşur. İmplant üzerindeki biyofilm birikimine bağlı olarak 'Peri-implant Mukositis' denilen yumuşak doku cevabı gelişir.

Daha sonra yumuşak dokudaki bu enflamasyon ilerleyerek öncelikle implantın boyun bölgesi çevresindeki marjinal kemikte başlayan, daha sonra oluk şeklinde ilerleyerek, radyografıta görünür hale gelen bir seri inflamatuvar reaksiyonu içerir ve bu olaya da 'Peri-implantitis' adı verilir⁴⁸.

2.4.1. Peri-implant Mukositis

Peri-implant mukositis, implant çevresi mukozadaki geri-dönüşümlü inflamatuvar reaksiyondur⁴⁸. Dental implant ve destek dokular arasındaki osteointegrasyonun kaybına yol açabilen olaylar zincirinin başlangıcını oluşturabilmektedir. Periimplant mukozitisin etyolojisinde bakteriyel dental plak rol oynar^{23,79,80}.

Dişeti ve peri-implant mukozanın, dental plağa verdiği erken ve uzun dönem cevap, hayvan deneyleri ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarla incelenmiştir. Yapılan çalışmalarla diş ve implant segmentlerinde miktar ve içerik açısından benzer plak oluştuğuna ve implantların erken mikrobiyal plak oluşumuna dişle benzer cevabı verdiğiine karar verilmiştir^{51,81,82}.

Hem gingiva, hem de peri-implant mukoza mikrobiyal kolonizasyona, bağ dokuda lökosit infiltratlarının görüldüğü belirgin inflamatuvar lezyonlarla cevap verirler. Gingiva ve peri-implant mukozadaki lezyonlar 3 haftaya kadar erken fazda bulunurlar. Bu nedenle, tüm lezyonlar keratinize oral epitel ve bağlantı epiteli veya bariyer epiteli arasındaki dirsek bölgesinde bulunur.

İmplant ve dişlerdeki ilk plak oluşumuna dokunun verdiği cevap immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, yumuşak dokuda inflamasyonun plak oluşumuyla ilişkili olduğu, gingiva ve peri-implant mukozadaki lezyonların boyutsal açıdan benzer şekilde büyüdüğü gösterilmiştir⁸³.

Yapılan diğer çalışmada ise, 3 aylık plak birikimi sonunda peri-implant mukozadaki lezyonun gingivadakine göre daha çok genişlediği ve apikale doğru daha çok ilerlediği görülmüştür. İki dokudaki lezyonun fibroblast içeriği açısından farklı olduğu, implant çevresi mukozada daha az sayıda fibroblast olduğu bulunmuştur. Dokunun yeniden yapımını sağlayan kolajen ve matriksi oluşturan fibroblast sayısının azalmasıyla, doku yıkımının daha hızlı ilerlediği rapor edilmiştir⁴⁸.

2.4.2. Peri-implantitis

Peri-implantitis, peri-implant mukositisin ilerlemesiyle, implantın boyun bölgesi çevresindeki marjinal kemikte başlayan, daha sonra oluk şeklinde ilerleyerek,

radıyografıta görünür hale gelen bir seri inflamatuvar reaksiyondur. Peri-implantıtıs terımı artık sadece bakteriyel enfeksiyonlara bağlı olarak kaybedilen implantlar için kullanılmaktadır. Peri-implantıtıs dental plağın kompozisyon ve miktar olarak benzer olmasından dolayı periodontıtıse çok benzer^{84,85}. Aralarındaki en önemli fark implantlar çevresinde periodontal ligament bulunmamasıdır. Bu yüzden biyomekaniği ve savunmasal hücre alımı periodontıtısten farklılık gösterir. İnsanlardaki peri-implantıtıs sıklığını tahmin etmek zordur ancak yerleştirilen tüm implantlarda %2-10 arasında değiştiği bilinmektedir⁴⁸.

Klinik alışmalar, periimplantıtısın implantın başarısızlığına ve implant kaybına neden olabileceğini göstermektedir. İmplant kaybında risk faktörlerinin dental plak⁸⁶⁻⁸⁸, sigara ve lokal faktrler^{87,88} olduğu yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir.

Brager et al⁸⁹, diş destekli, implant destekli veya diş ve implant destekli sabit köprülerdeki biyolojik ve teknik komplikasyonları tanımlamışlar, periimplantıtıs ve periodontıtıs nedeniyle sondlama sırasında kanama, iltihaplanma ve artmış sondlama derinliği gibi ileri derecede inflamasyon ve doku yıkım belirtileri gözlemlemişlerdir. Periodontıtıslı hastalara yerleştirilen implantlardaki başarısızlık oranı, periodontal olarak sağlıklı hastalardakine göre daha fazladır⁸⁴.

Ancak periodontal ve periimplant dokularındaki inflamasyonun dağılma paterni farklılık gösterir. Periodontıtıste lezyonlar bağ dokuda sınırlıyken, periimplantıtıste lezyonlar alveolar kemiğe doğru ilerler. İmplant evresi dokuların histolojik yapılarından dolayı, ilerleyen, plak kaynaklı lezyonları zmetmekte kötü oldukları ne sürülmüştür. Yapılan farklı süreli çalışmalarla bu bulguların geçerliliği doęrulanmıřtır⁹⁰⁻⁹³.

İnsanlarda implant çevresi bölgelerden alınan doku örneklerinin histopatolojik analizi, mukozada geniş inflamatuvar hücre infiltratlarının olduğunu gsterir⁹⁴⁻⁹⁶. Bu inflamatuvar hücre infiltratı makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşur^{95,96}. Sanz et al.⁹⁴ peri-implantıtıslı 6 hastadan aldığı yumuşak doku biyopsilerini analiz etmiş ve bağ dokunun %65 lik kısmının inflamatuvar hücre infiltratıyla kaplı olduğunu rapor etmiştir. Berglundh et al.⁹⁶, insan peri-implantıtıs lezyonlarında ayrıca çok sayıda polimorfonükleer lökosit hücreleri olduğunu gözlemlemiştir. Bu hücrelerin sadece cep epiteli ve lezyonla ilişkili alanlarda değil, ayrıca implant yüzeyinden uzakta yer alan damar çevresindeki kompartmanlarda görüldüğünü bildirmiştir. Ayrıca, lezyonun apikal

kısımında inflame bağ dokunun implant yüzeyindeki biyofilm ile direk temasta olduğu görülmüştür. Peri-implantitis bölgelerinde çok sayıda nötrofil bulunması ve lezyon ve biyofilm arasında epitel olmaması, peri-implantitisin periodontitis lezyonlarından farklı özellikleri olduğunu gösterir.

Periimplantitis lezyonları marjinal kemik dokusuna uzanır ve ilerlemeye devam ederlerse implant kaybına bile neden olabilir. Peri-implantitis belirtileri, lezyonun enfeksiyöz ve inflamatuvar doğasıyla ilişkilidir. Bu yüzden, radyograflarda (Şekil 2.8) krater şeklinde kemik kaybı, mukozada şişme ve kızarma, hafif sondlamada kanama ve iltihap oluşur⁴⁸.



Şekil 2.8: Periimplantitis bölgesinin radyografik görüntüsü.

2.5. Peri-implant mukositis ve periimplantitis mikrobiyolojisi

Çürükler ve periodontal hastalıklar gibi periimplant mukositis ve periimplantitis de plak kaynaklı hastalıklardır⁹⁷. Dokularla uygunluğu nedeniyle implant materyali olarak kullanılan Ti, bakteriyel adezyon için de uygun ortam oluşturabilir⁹⁸. Bugüne kadar Ti yüzeylere yapışan bakterilerin oluşturduğu dental plakları ışık ve elektron mikroskoplarıyla ve bakteri kültürleriyle inceleyen birçok in vivo ve in vitro çalışma yapılmıştır⁹⁹.

Doğal diş ve dental implant sulkuslarında mikrobiyal flora benzerlik gösterir^{13,100-102}. Klinik ve histolojik hayvan çalışmaları, dişeti ve implant çevresi mukozanın erken plak oluşumuna benzer şekilde cevap verdiğini, ancak dental plak birikiminin implant çevresindeki dokularda daha ciddi yıkımlara neden olduğunu göstermiştir¹⁰³.

Dental plak, oral kavitede sert dokular üzerine biriken, 500 üzerinde bakteri türü içeren karmaşık mikrobiyal biyofilm tabakasıdır. Mikrobiyal biyofilmdeki bakteriler, sert dokulara ve birbirlerine eksopolimer matriks ile bağlanır³⁵. 1950'lerin sonlarına

kadar plak oluşumunun tek bir şekilde olduğu kabul edilirken, daha sonra yapılan birçok çalışma dental plağın uniform bir yapı olmadığı, diştten dişe, lokasyondan lokasyona değiştiğini göstermiştir³⁵. Ancak türler lokal çevresel faktörlere göre değişse de, kolonizasyon paterninin her zaman aynı olduğu görülmüştür¹⁰⁴.

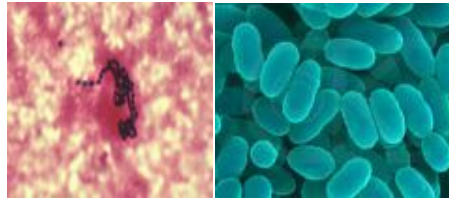
Bakteriler biyofilm tabakası içerisinde farklı özellikler gösterebilirler. Genellikle ağız içerisindeki patojenlerin etkili olabilmesi için fiziksel, metabolik veya fizyolojik etkileşimlerle meydana gelen değişiklikler olması gerekir⁹⁷. Türler arasındaki fiziksel, metabolik ve fizyolojik etkileşimler sırasında bazı organizmaların metabolik ürünleri diğer bazı bakterilerin daha fazla büyümesini sağlarken, bazılarının yaşamasını engeller⁹⁷. Bakteriye kolonizasyon ve büyüme sıklıkla tek yönlüdür ve bazı bakteriler kolonize olabilmek için diğer mikroorganizmaların hazırladığı ortama ihtiyaç duyarlar⁹⁷. Periodontal araştırmalar, büyük kısmını gram negatif anaerobik bakterilerin oluşturduğu olgunlaşmış mikrobiyal plağın, ilk koloniler olan fakültatif bakterilerin oluşturduğu çevresel faktörlere bağlı olduğunu göstermiştir⁹⁸.

Klasik çalışmalar dental plak oluşumunda mikrobiyal adezyonun 2 aşamada meydana geldiğini gösterir. Burada ilk aşama olan, mikroorganizmaların yüzeye yapıştığı geri dönüşümlü emilimi; mikroorganizmaların yüzeye sıkıca yapışmasını sağlayan geridönüşümsüz emilim izler¹⁰⁵. Daha sonra 1990 yılında yayınladıkları derlemede VanLoosdrecht et al¹⁰⁶, nemli ortamda mikrobiyal adezyonun 4 aşamalı olduğunu göstermiştir. İlk aşamada bakteriler diş yüzeyine taşınırken, ikinci aşamada ilk geri dönüşümlü adezyon meydana gelir. İkinci aşama yüzeylerin mikroskobik, fizikokimyasal özelliklerine ve yapışan mikroorganizmalara bağlıdır. Geri dönüşümlü adezyon kuvvetlerinin üstesinden gelinirse bu mikrobiyal yüzeyler sıkı ataçmanın oluşmasında belirleyici hale gelir ve bu da üçüncü aşamayı oluşturur. Bu sıkı ataçmanı dördüncü aşama olan dental plağın en üst seviyesi olan yüzey kolonizasyonu ve biyofilm oluşumu takip eder. Diş yüzeyine mikrobiyal adezyon, plak oluşumunun başlangıcında genel bir önceliktir. Ancak dental plağın büyümesinde dominant rolü mikrobiyal çoğalma oluşturur.

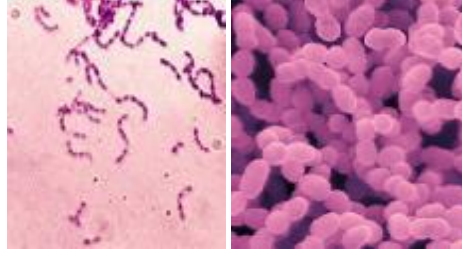
Sağlıklı olgularda, dental plak basitçe 1 ile 20 arasındaki değişen tabakadan oluşur. Bu tabakalarda dominant olarak gram pozitif koklar (streptokok türleri, S.mutans, S.sanguis, S.mitis, S.oralis; Rothia dentocariosa; Staphilococcus epidermidis) bulunur. Bunları bazı gram pozitif rodlar ve filamentler (aktinomiçes türleri, A.viscosus,

A.İsraelis, A.gerencseria; Corynebacterium türleri) ve çok az gram negatif koklar (veillonella parvula; Neisseria türleri) izler. Bunlar aerobik veya fakültatif ananerobik bakterilerdir ve sert yüzeylere yapışırlar¹⁰⁷⁻¹¹¹. Son dönemlerde yapılan çalışmalar erken plak oluşumunda dominant bakterilerin streptokoklar olduğunu onaylamışlar ve SEM ve TEM ile yapılan ultrayapısal çalışmalarla da bu bulguları desteklemişlerdir.

Oral streptokoklar hareketsiz yapılara yapışabilen bir grup mikroorganizmadır¹¹²⁻¹¹⁷. Zincir veya çiftler halinde düzenlenmiş, katalaz negatif özellik gösteren küresel pozitif koklardır. Plak olgunlaştıkça kokal kompozisyonundan filamentoz kompozisyona geçiş gösterirler¹¹⁸. Kimyasal yüzey kompozisyonu hücre yüzeyi hidrofiliği ve yükleriyle açıklanabilir¹¹⁹⁻¹²². Fizikokimyasal etkileşim kuvvetleriyle kontrol edilen streptokokların bu ilk adezyonu, olgun biyofilm gelişiminde yalnızca bir basamaktır¹⁰⁶. İlk kolonilerin adezyonu¹²⁴ ve olgunlaştırıcı film komponentlerinin adsorbsiyonundan¹²⁵ sonraki birçok devam eden olayla son mikrobiyal kompozisyon ve olgunlaşmış biyofilm yapısı oluşur¹²⁶. Bu olaylar; türler arası bağlanma, biyosürfaktan salınımı, organizmalar arasında metabolik avantajların oluşması gibi olayları içerir^{125,127-131}. Daha sonraki aşamalar daha geniş zamanda meydana geldiği için biyofilm oluşumundaki ilk bakterilerin adezyonunun önemi sıklıkla göz ardı edilir¹³² ancak streptokoklar aktinomiçeslerin optimal büyümesi için anaerobik mikro ortam oluşturur¹³³. Bakteriler arasındaki bu bağlanma genellikle elektostatik ve asit-baz dengesine bağlı olarak meydana gelir¹²⁹. Ritz et al.¹³⁴, çalışmalarında plak oluşumunda dominant öncü türlerin streptokoklar olduğunu, sonrasında bunlara aktinomiçeslerin eklendiğini ve plağın yüksek miktarlardaki Gram-negatif anaerob filamentoz organizmaların da adezyonuyla daha olgun bir yapı haline dönüştüğünü göstermiştir. In vivo çalışmalarda S.sanguisin gerçek öncü organizmalar, S. mutansın dental çürüklerin major etyolojik ajanı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çalışmalar sonucunda S.sanguis'in S.mutans'a göre daha iyi yapıştığını görülmüştür¹³⁵.



Şekil 2-9: S.sanguis'in gram boyama ve SEM görüntüsü¹³⁶.



Şekil 2-10: S.mutans'ın gram boyama ve SEM görüntüsü¹³⁶.

Erken koloniler yüksek oksijen konsantrasyonlarına dayanabilen ve oral kavitedeki yutma, çiğneme, burun çekme ve tükürük, burun ve oluk sıvısı sızıntıları gibi çeşitli mekanizmalarla uzaklaştırılmasına direnebilen organizmalardır¹³⁷. Bunların kopyalanması, sert yüzeylere yapışmayan diğer bakteri türlerinin yapışmasına olanak sağlar. Buna 'ikincil kolonizasyon' da denilebilir. Plak tabaka sayısı arttıkça, besinsel ve atmosferik düğümler oluşur, oksijen seviyesi azalır ve anaeroblar yaşayabilirler¹³⁸⁻¹⁴⁰.

Uzun dönem çalışmalar, sağlıklı implantlarda implantasyonun hemen sonrasında, doğal dişlerde olduğu gibi, predominant olarak gram-pozitif fakültatif floranın kolonize olduğunu göstermiştir^{141,142}. Klinik olarak stabil olan bu implantlarda 5 yılın sonunda florada belirgin bir değişikliğin olmadığı görülmüştür. Ancak cep oluşumu ve kemik yıkımı gözlenen implantlarda belirgin derecede farklı florayla karşılaşmıştır. Bu florayı kısmen fusobakterium, spiroket ve yüksek oranlarda Prevotella intermedia gibi siyah pigmentli organizmalar olan gram-negatif anaerobik bakteriler oluşturur^{98,143,144}. Bu patojenik bakteriler virulan özelliklerini, doku yıkımına neden olarak, doku iyileşmesini engelleyerek ve konak cevabının etkinliğini azaltarak gösterirler⁹⁹.

2.6. Peri-implant Mukositis ve Peri-implantitis Biyokimyası

2.6.1. Kronik Enflamasyon Tanımı:

Enflamasyon çeşitli mikrobiyolojik ajanlar veya toksinlerine karşı immun sistemin göstermiş olduğu iltihabi reaksiyondur. Enflamasyon akut ve kronik olmak üzere iki kısma ayrılabilir. Ancak akut ve kronik enflamasyonlar arasında belirgin bir ayırım yoktur. Akut enflamasyonun nedeni tamamen elimine edilmezse, olay kronikleşmeye başlar¹⁴⁵.

Kronik enflamasyon varlığı fibroblastlar ve damarsal elemanların proliferasyonu ve ‘yuvarlak hücrelerin’ (mononükleer hücreler) infiltrasyonu ile karakterizedir. Yuvarlak hücreler lenfositler, makrofajlar ve plazma hücreleridir. Bunlar hep birlikte kronik inflamatuvar dokuları oluştururlar. Akut inflamasyonda, ilk doku cevabını nötrofiller verirken, olay kronikleştikçe ilk doku cevabından makrofaj ve lenfositler sorumludur¹⁴⁵.

Kronik enflamasyon cevap ve dokuların onarımı arasında yakın bir ilişki vardır. Kronik inflamatuvar dokuların onarımı için gerekli fibroblastlar, küçük kan damarları ve makrofajlar kronik inflamatuvar dokuda bulunur. Bu yüzden, kronik enflamasyon sırasında sürekli bir onarım söz konusudur. Ancak yine de enflamasyonlu dokuda fonksiyon kaybı meydana gelir¹⁴⁵.

Kronik enflamasyon nedenleri enfeksiyöz ajanlar, ölü organizma artıkları ve yabancı cisimlerdir. Enfeksiyöz ajanlar asıl akut enflamasyon nedenidirler ve bu ajanlar çözülmezse ve sürekliliği devam ediyorsa kronik enflamasyon süreci başlar. Ölü organizma artıkları da kronik enflamasyonu diğer bir tetikleyicisidir¹⁴⁵.

Kronik enflamasyon bakteri artıklarıyla da tetiklenebilir. Streptokokların bazıları kolaylıkla fagosite edilebilir ve nötrofiller ve makrofajlar tarafından öldürülebilir. Ancak fagositler her zaman bu organizmaların hücre membranını sindiremezler. Bu şekilde, bakteriyel komponentlerin dokularda devamlılığı korunur ve bakterilerin öldükten sonra antijenik stimulus vermeleri mümkün hale gelir. Ayrıca, akut enfeksiyonun devamında, dokuların normal içeriğinin bakteriyel antijenlerle çapraz reaksiyona girmesi ve bu yüzden de hücresel immun cevap için hedef oluşturması da mümkündür. Yabancı cisimler de, makrofaj birikimi ve çok çekirdekli dev hücrelerin oluşumuyla tetiklenirler¹⁴⁵.

Çoğu nedensel ajan antijenik olduğu için immun sistem kronik enflamasyonda belirgin bir rol oynar. Bu kronik inflamatuvar lezyonlardaki lenfosit varlığını açıklar. Antijenlerle birlikte, lezyon varlığı da süreklilik gösterir¹⁴⁵.

Kronik enflamasyonda görev yapan hücrelerin görevleri şöyle sıralanabilir:

- Makrofajlar: Birçok kronik inflamasyonun primer aktivatörüdür. Makrofajdan salınan major ürünler ise, IL-1, TNF- α , PGE2, PGI2, Lökotrien B4, C4, D4, E4; plazminojen aktivatör ve elastaz ve katepsinlerdir¹⁴⁵.

- Nötrofiller: Antibakteriyel aktivitede görev yaparlar. Sindirici enzimler salgılayarak ve oksijen kaynaklı serbest radikaller oluşturarak konak dokuları zedeleyebilirler¹⁴⁵.
- Fibroblastlar: Bunlar kolajen molekülleri üretirler ve fibrozisten sorumludurlar. Kemotaktik olarak fibroblastları bağlayan faktörler fibrin, fibronektin, kesin sitokinler, I-V doğal kolajenleri içerir. IL-1, fibroblastların proliferasyonunu ve kolajen üretimini stimüle eder. Bazı inflamatuvar durumlarda, fibroblastlar kolajen yapımını durdururlar ve metalloproteinazları salgırlar. Bu enzimler de ekstraselüler matriks proteinlerinin yıkımına neden olurlar¹⁴⁵.

Kronik inflamasyon varlığında sıklıkla epitel hücrelerinin yapımı stimüle edilir ve buna inflamatuvar hiperplazi denir. Bu olay özellikle periodontal hastalıklarda, oluk epitelinde görülür¹⁴⁵.

Sık görülen diğer bir durum da, zedeleyici ajanların eliminasyonu sırasında, lenfositler ve makrofajların konak hücrelerini ve bağ dokuları zedelemesidir. Zedelenme mekanizması sırasında, inflamatuvar hücrelerden lizozomal enzimlerin salınımı ve oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumu meydana gelir. Kemiği içeren lezyonlarda, osteoklastlar IL-1 ve TNF ile aktive olurlar ve kemik rezorpsiyonuyla sonuçlanırlar. Fibroblastların aktivasyonu ise hem fibrozisle hem de bağ dokuları zedeleyen metalloproteinazların üretimiyle sonuçlanır¹⁴⁵.

Dental plaktaki bakteriler hasta defansı tarafından elimine edilemediği için periodontal hastalık kronik bir süreçtir. Plak mikroorganizmalar için bir sığınak oluşturur, bu durumda bunların ürünleri sürekli olarak gingival dokulara yayılır ve inflamatuvar cevabı tetikler¹⁴⁵.

2.6.2. Periodontal Dokularda Enflamasyon

Periodontal hastalık, primer etyolojik faktör olan dental plağa karşı konağın verdiği cevap olarak tanımlanabilir. Hastalığın ilk aşaması olan peri-implant mukosistite implant çevresi dokular inflamatuvar eksuda ve lökosit birikimiyle inflame hale gelir. Klinik olarak kızarıklık ve şişlik meydana gelir. Sulkus epitelinde ülserasyon varsa kanama meydana gelebilir¹⁴⁵. Bu olay kronikleştikçe implant çevresi oluğun derinleştiği, kemik yıkımının başladığı periimplantitise dönüşür. Oluk epitelinin büyüme faktörleri ve diğer sitokinlere bağlı olarak hiperplastikleşmesi ve apikale doğru

göçüyle oluk derinleşir. Plak bakterileri, nötrofillerin sulkus epiteline ilerlemesine ve orada birikmesine neden olan enzimler salgılar. Bunun etkili bir defans mekanizması olduğu şüphelidir. Hatta, nötrofillerin salgıladığı bu enzimler epitelin geçirgenliğini artırır. Ayrıca oluğa doğru eksuda salınımı olur ve bu salınım inflamasyonun derecesiyle ilişkilidir¹⁴⁵.

Plakta oluşan bakteriyel ürünler, oluk epiteline doğru göç ederler ve inflamatuvar cevabı başlatırlar. Predominant hücre infiltratı B ve T hücreleriyle birlikte plazma hücrelerinden, ayrıca makroglar ve mast hücrelerinden oluşurlar¹⁴⁵.

Periodontal hastalık patogeneğinde immun cevap çok önemlidir. İmmun cevap genellikle septisemi ve hızlı ve geniş doku zedelenmesine karşı koruyucu özellik gösterir. Ancak bu özellik, pro-inflamatuvar reaksiyonlarla bağ doku yıkımı ve kemik rezorbsiyonuna neden olan sitokinlerin üretimine neden olabilir¹⁴⁵.

Periodontal hastalıklardaki inflamatuvar hücre infiltratı tipik kronik inflamatuvar cevapta olduğu gibi makroglar, lenfositler ve plazma hücrelerinden oluşur. Peri-implantitiste, plazma hücrelerinin bir üstünlüğü vardır. Peri-implantitiste spesifik antikorlar üretilse de, plazma hücreleri tarafından lokal olarak sentezlenen immunoglobulinlerin çoğu oral bakteriler için spesifik değildir ve diğer antijenlerle karşı reaktif olabilir. Major antikor IgG dir. Peri-implant mukositiste üstünlük T hücrelerindeyken, periimplantitiste B hücreleri dominant hücrelerdir. Ancak T hücreleri yine de belirgin sayıda bulunur. T yardımcı hücreleri ve T baskılayıcı hücreleri eşit sayıda bulunur¹⁴⁵.

Oral bakterilerin sitokin salgılamaları için makrogları stimüle ettikleri hakkında bir düşünce vardır ve gingival oluk sıvısında immunolojik ve inflamatuvar cevaba neden olmaya yetecek kadar yeterli konsantrasyonda IL-1 olduğu ve başarılı periodontal tedavi sonrasında IL-1 in azaldığı gösterilmiştir¹⁴⁵.

Enflamasyonlu dişeti dokularında makroglar ve fibroblastların bakteriyel lipopolisakkaritlerle aktive olduğu görülür. Bu hücreler aktive olduklarında alveolar kemik rezorbsiyonuna neden olan mediatörler PGE2 ve IL-1'i salgılar. Ayrıca makroglar, fibroblastlar, nötrofiller ve epitel hücreleri aktifleşmesiyle çinko bağlı metalloproteinazları üretirler. Bu enzimler, Tip I, II ve III fibriler kolajenleri yıkan interstisyel kolajenazları ve amorf kolajen ve fibronektini bozan jellatinazları içerir. Metalloproteinazlar ayrıca proteoglikanları, laminin ve fibronektini bozan

stromelisinleri de içerir. Metalloproteinaz salınımı PDGF, FGF, IL-1, TNF- α içeren uyarıcılarla ve fagositik uyanlarla artar¹⁴⁵.

Sağlıklı dokularda fibroblastlar kolajen üretip devamlılığını sağlarken, peri-implantitisin başlamasıyla kolajen üreten genler yerine metalloproteinaz üreten genler çalışmaya başlar¹⁴⁵.

2.6.3. Peri-implant Mukositis ve Peri-implantitis Enflamasyon ve Enflamasyon İşaretçileri

İmplantların uzun dönem başarısında, implant ve çevre dokular arasında oluşan biyolojik ataçmanın önemi büyüktür¹¹. İmplant çevresindeki epitelyal tıkama kaybı daha sonrasında enflamasyon ve tedavi edilemezse kemik kaybıyla sonuçlanır¹⁰²⁻¹⁴⁶.

Sağlıklı implantlar ve dişler çevresindeki yumuşak doku; anatomi, fonksiyon, mikrobiyal flora¹⁴⁷ ve histolojik düzen açısından benzerlik gösterir¹⁴⁸⁻¹⁵⁰. Bu nedenle dişeti ve implant çevresi mukoza erken plak oluşumuna benzer inflamatuvar cevap verir, ki bu birçok klinik ve histolojik hayvan çalışması ile kanıtlanmıştır¹⁴⁶.

Periodontal hastalıklar, sürekli inflamasyon, bağ dokusu yıkımı ve alveolar kemik kaybıyla karakterize kronik bakteriyel enfeksiyonlardır¹⁵¹. Periodontal doku yıkımının moleküler mekanizması uzun yıllar detaylı şekilde incelenmiştir¹⁵¹. Dişeti oluşu sıvısının biyokimyasal analizi periodontal hastalıkların inflamatuvar durumuyla ilgili değerli bilgiler vermiştir. Periodontitisli hastaların gingival dokularında, dişeti oluşu sıvısında ve tükürüklerinde yardımcı inflamatuvar mediatörler ve doku yıkım molekülleri görülmüştür ve bunların kompozisyonlarındaki miktarsal değişikliklerin diagnostik ve terapotik özellikleri vardır¹⁵¹.

Dişeti oluşu sıvısı (DOS), inflamasyonlu dişetinde gingival boşluk ve periodontal ceplere sızan inflamatuvar eksudadır¹⁵³. Serum, lokal yıkım ürünleri, inflamatuvar mediyatörler ve dental bakteriyel plağa karşı oluşan antikorlar gibi materyallerden oluşur. Genellikle şeffaf bir sıvı olan DOS, içerdiği nötrofil miktarına göre bulanıklaşabilir. DOS'un gingival ve periodontal dokuların inflamatuvar durumlarının nicel olarak değerlendirmesinde kullanılması 1960'dan bu yana gündeme gelmiş ve teşhis amaçlı kullanımına daha fazla önem verilmeye başlanmıştır¹⁵⁴. Ciddi inflamasyonlu bölgelerde artmış damarsal geçirgenlik ve cep epitelinin ülserasyonuna bağlı DOS miktarındaki belirgin artış klinik ve histometrik olarak değerlendirilebilir¹⁵⁵. DOS periodontal dokulardaki devam eden olayları yansıtan inflamatuvar eksuda olduğu

için, periodontitisin ilerlemesinde potansiyel olarak görev yapan diagnostik ve prognostik markerlar olan DOS komponentleri için yaygın araştırmalar yapılır¹⁵⁶.

Dental implantların kaybına neden olan mekanizmalar, diş kaybına neden olan mekanizmalarla benzer özellikler gösterirler^{13,14}. İmplantlar çevresindeki inflamasyon immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, predominant hücre kompozisyonunun yine lenfosit, makrofaj, fibroblast ve çok az sayıda plazma hücresi içeren hücrel infiltrat varlığıyla karakterize olduğu görülmüştür^{17,157,158}. PİOS bileşenlerinin analizi, implant çevresindeki konak inflamatuvar ve immun cevabı hakkında önemli bilgiler verir¹⁸.

Lezyonun başlangıcı ve erken gelişimi, proteolitik enzimler gibi bakteriyel metabolitlerle, lipopolisakkaritler gibi yüzey molekülleriyle, düşürücü yolları aktive eden birçok tip sitokini salgılayan konak hücreleriyle indüklenir. Bazı araştırmacılar, doku yıkımının direk nedeninin bakteriyel aksiyondan çok, konak cevabı olduğunu söylemektedir¹⁹. Yakın dönemde yapılan çalışmalar, periodontitiste doku yıkımının sorumlularının, lipopolisakkarit ve endotoksin gibi bakteriyel ürünlere yanıt olarak konak monosit ve makrofajlarından salınan inflamatuvar sitokinler olduğunu göstermiştir¹⁵⁶. İmplant çevresindeki patolojik proseslerin erken dönemde belirlenmesi için yapılan klinik ve radyolojik araştırmalar anlamlı sonuçlar vermemiştir. Ancak PİOS'daki biyokimyasal işaretçiler, ciddi anlamda kemik kaybı gerçekteşmeden implant çevresindeki patolojinin erken tanısını sağlar¹⁵⁹.

Periodontal dokuların patolojilerinin ilerlemesinde başlangıç olarak incelenen 65 üzerinde olası işaretçi vardır. Bunlar 3 grupta toplanırlar:

- Konak kaynaklı enzimler ve inhibitörleri: enzimlerin bir kısmı hastalıkların ilerlemesi için uygun işaretçiler olarak görülürler¹⁵⁶.
- İnfamasyon mediatörleri ve konak-cevap modifiye edicileri: bazı inflamatuvar mediatörler ve konak cevap modifiye edicileri hastalıkların ilerlemesinde faydalı olma potansiyeline sahiptirler¹⁵⁶.
- Doku-yıkım ürünleri: Bazıları hastalıkların ilerlemesinde görev yapan potansiyel oluk sıvısı markerlarıdır¹⁵⁶.

Periodontal hastalıklarda özellikle konak kaynaklı enzimlerden MMP-8' in ve proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 β ve TNF- α 'nın etkili olduğu görülmüştür

2.6.3.1 Nötrofil tip kolajenaz (Matriks Metalloproteinaz-8/ MMP-8):

Periodontal dokuların fizyolojik yıkımı ve yeniden yapımında, bağ dokuların hücre dışı matriks proteinlerinin patolojik yıkımından sorumlu bazı proteolitik enzimler görev alır¹⁶⁰. Bunlardan bazıları interstisyel kolajenazlar, nötrofil tip kolajenaz (MMP-8, kolajenaz 2), fibroblast tip kolajenaz (MMP-1, kolajenaz 1) ve MMP-13(kolajenaz 3) dir. Periodontal hastalıklarda MMP-8' in predominant olduğu görülmüştür¹⁶¹⁻¹⁶⁶. İnsanlardaki inflamasyonlu periodontal dokulardan alınan biyopsi örneklerinde MMP 1,2,3,8 ve 9 varlığı söz konusudur¹⁶⁷.

Nötrofil tip kolajenaz(MMP-8), inflamasyonlu dişeti ve erişkin periodontitisli olguların dişeti oluşu sıvısında artmış seviyelerde bulunan 25 tip MMP'den bir tanesidir¹⁶⁸. Periodontal hastalıkların akut aşamalarında, predominant olarak polimorfonükleer lökositlerden üretilirler¹⁶⁹ ve ekstraselüler kolajen matriks yıkımından sorumlu anahtar enzimdirler¹⁷⁰⁻¹⁷². Gingiva ve periodontal ligament fibroblastlarının non-nötrofil hücreleri de MMP 8 salgılar¹⁶⁷.

Diğer MMPlar gibi çinko-bağımlı endopeptidazlardır¹⁶⁰. Periodontal yıkımda kritik olan Tip I ve III kolajenin yıkımından sorumlu olduğu için^{171,172} ve periodontal hastalık aktivitesini azaltan doksisisiklinin subantimikrobiyal dozları ile inhibe olduğundan periodontal hastalıklarda geçerli işaretçi olarak bilinir¹⁷³⁻¹⁷⁶. Erişkin periodontitisli hastaların dişeti oluşu sıvısında görülen major kolajenazın MMP-8 olduğu literatürde kanıtlanmıştır¹⁸. Oluk sıvısında bulunan kolajenazın periodonsiyumun ekstraselüler matriksinin fizyolojik ve patolojik katabolizmasını yansıttığı görülür^{162,177-179}.

MMP-8ler, ara tip I, II ve III kolajenleri, $\frac{3}{4}$ (αA)- ve $\frac{1}{4}$ (αB) peptidleri (karakteristik bölücü ürünler) üreterek bölerler^{180,181}.

MMP-8' in hücre sel kaynağının, esasen inflame dişetinde bulunan, uzaklaşmış ve degranüle olmuş nötrofiller olduğu düşünülür¹⁶³. Bununla birlikte, inflame dişetinde artmış miktarlarda MMP-8 ve protein kopyaları görülür. MMP-8 kopyaları ve enzim proteinleri insan gingival ve periodontal ligament fibroblast ve kondrositleri gibi, mezenşimal hücrelerin MMP-8 üretme kabiliyetini gösteren henüz indüklenmiş non-nötrofil kökenli mezenşimal hücrelerinde görülür¹⁵².

Daha önce yapılmış çalışmalar, implant çevresi oluk sıvısında da proteinazların (kolajenaz, jelatinaz, elastaz) bulunduğunu, stabilitesi kaybolmuş implantların sulkus sıvılarında, kolajenaz aktivitesinin ve MMP-8 miktarının artmış olduğu göstermiştir. Üstelik, PİOS ve DOS' daki kolajenazın in vivo olarak kendiliğinden aktive olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucunda da artmış kolajenaz aktivitesine bağlı olarak proteolitik doku yıkımı olduğu öne sürülmüştür¹⁵².

2.6.3.2 Interlökin 1-Beta (IL-1 β)

IL-1 β , periodontal hastalıklarda, inflamatuvar cevabı artıran, adezyon molekülleri ve diğer mediyatörlerin indüksiyonunu stimüle eden, proinflamatuvar sitokinlerdir¹⁸²⁻¹⁸⁷. Bunlar monositler ve makrofajlar tarafından üretilirler^{188,189}. Çok fonksiyonlu bir mediyatör, kuvvetli bir proinflamatuvar sitokin olan IL-1 β , birçok hücre tipinde prostoglandinlerin, lökotrienlerin ve platelet aktive edici faktörlerin üretimi için ortam sağlarlar¹⁹. Siklo-oksijenaz 2, indüklenebilir nitrik oksit sentetaz ve metalloproteinazın yaygın gen ekspresyonunu indükleyerek, osteoklast aktivasyonunu ve kemik rezorbsiyonunu artırır¹⁹⁰⁻¹⁹². Ayrıca kemikteki tip 1 kolajen ekspresyon düzenlenmesinin azalmasıyla sonuçlanır. Her ne kadar interlökin izoformları benzer biyolojik aktivite ve katılım gösterse de, IL-1 β kemik rezorbsiyonunu daha etkili şekilde stimüle eder ve periodontitiste daha sık görülür¹⁹³⁻¹⁹⁵.

Klinik çalışmalar, dişeti oluğu sıvısındaki artmış IL-1 β seviyesinin, dişetinde inflamasyonla, ciddi periodontitisle ve periodontal hastalık ilerlemesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir¹⁹⁶⁻¹⁹⁷. Tedavi sonrasında IL-1 β seviyesinin azaldığı da bulunmuştur^{192,201}. IL-1 β inhibisyonu, deneysel periodontitiste inflamasyonun ilerlemesini ve doku yıkımını azaltır^{159,202-204}. Araştırmacılar ayrıca, ilerlemiş periodontitis vakalarında başarısızlığın klinik bulgulardan önce, IL-1 β seviyesinin artışıyla farkedilebileceğini gözlemlemişlerdir^{193,195,205,206}.

Gingival oluk sıvısı ve gingival dokulardaki artmış IL-1 β miktarı kronik periodontitisle ilişkilendirilirken, PİOS' daki artmış IL-1 β miktarı implant çevresi dokuların inflamasyonu ve peri-implantitis ile ilişkilendirilir^{159,207-212}. PİOS'daki proteolitik enzimlerin artmış aktiviteleri ve implant çevresi doku inflamasyon belirtileri arasında kesitsel bir ilişki olduğu rapor edilmiştir¹³. Başarısız implantların bulunduğu vakalardaki IL-1 β miktarındaki artış, yazarların IL-1 β yı hastalığın ilerlemesini takip etmek için kullanılabileceklerini düşündürür¹⁵⁹. Yapılan bir çalışmada, 21. gün alınan

PİOS analizinde IL-1 β miktarında artış olduğu fakat bunun istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği bulunmuştur¹⁹.

2.6.3.3 Tümör Nekrozan Faktör Alfa (TNF- α):

Aktif makrofajlar, lenfositler ve diğer hücre tipleri tarafından üretilen diğer bir proinflamatuvar sitokindir. Çalışmalar, TNF α 'nın akut inflamasyonda ve antitümöral immünitede en önemli sitokin olduğunu göstermektedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, periodontal ve implant çevresi dokularında, IL-1 β gibi TNF- α 'nın da inflamatuvar cevabın düzenlenmesi ve gelişmesinde önemli rol oynadığını göstermiştir^{187,203,208}. TNF- α kemik rezorpsiyonu ve kolajenazı üretiminden sorumlu fibroblastları stimüle eder. Periodontal dokuların tamirinde görev yapan matriks üreten hücrelerin ölümüne neden olarak tamir kapasitesini limitler^{213,215}.

TNF- α 'nın periimplant mukositis ve periimplantitisteki görevi henüz net değildir, TNF- α ve implant çevresi dokulardaki inflamasyon miktarı arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır^{11,209,216}. Bu sitokinin implant çevresi dokuların sağlığı için bir işaretçi olup olmadığını belirlemek gerekir.

Yapılan bir çalışmada, kemik rezorpsiyonu ve prostoglandin sentezini artıran ve fibroblast ve osteoblastları da içeren birçok hücre tipinden proteaz üretimini stimüle eden TNF- α 'nın, IL-1 β ya benzer şekilde davrandığı ancak daha düşük seviyelerde olduğu bulunmuştur^{214,215,217-219}.

Günümüzde transmukozal kısımlara mikrobiyal tutunmanın ve bu sayede enflamasyon riskinin azaltılması için bu kısımların yüzey özelliklerinde bir takım modifikasyonların yapılmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır.

2.7. Transmukozal kısım kaplamasının implant tedavisinin başarısına etkisi

İmplant çevresindeki yumuşak dokunun sağlığı ve kalitesi birçok faktörden etkilenir. Birçok implant sisteminde, implant ve protez birleşim yerindeki küçük mikroboşluklar yumuşak doku sağlığını bozabilir. İmplantın transmukozal birleşiminde kullanılan materyalin kemik ve yumuşak doku reaksiyonlarını etkilediği gösterilmiştir⁴⁸.

Transmukozal kısmın implantın başarısında etkili olabilmesi için yeterli epitelyal ve bağ doku ataçmanını sağlaması ve bakteriyel adezyonu azaltması gerekir. Bu yüzden implantın bu bölgesinin yüzey karakteri ve kimyasal kompozisyonu çok önemlidir. Özellikle, birçok çalışma yüzey pürüzlülüğü ve bakteriyel adezyon arasında

pozitif bir ilişki olduğunu ve yüzey pürüzlülüğünün yumuşak doku bariyerinin devamlılığını oldukça etkilediğini göstermiştir. İmplantların biyouyumluluğu ve osteojenik kapasitesini artırmak için gerekliliği kanıtlanmış yüzey modifikasyonlarının, implant çevresi yumuşak doku cevabını kontrol etmede rolü olup olmadığını görmek için araştırmalar yapılmaktadır²²⁰.

Yüzey değişiklikleri ve yumuşak doku enflamasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde farklı yüzey dokularının yumuşak doku iyileşme paternini etkilemediği²¹⁸ ve implant yüzeyine yakın bölgelerde yoğun sirküler lif içeren keratinize olmayan oluk epiteli bulunduğu gösterilmiştir⁵⁸.

Epitel ve bağ doku hücrelerinin Ti yüzeyler üzerine yapışması ve proliferasyonu yüzey topografisinden özellikle de yüzeylerin pürüzlü veya pürüzsüz olmasından etkilenir⁶³.

Mukozal ataçmanın, oral dokular ve Ti yüzeyler arasında etkili bir tıkama oluşturduğu birçok araştırmacı tarafından kanıtlanmıştır^{39,52,222}. Transmukozal kısımdaki bakteri birikimi mukozada enflamasyona neden olur ve enflamasyonun apikale doğru ilerlemesi peri-implantitise neden olur, bu da implant kaybıyla sonuçlanabilir^{223,224}. Pürüzlü yüzeyler pürüzsüz yüzeylere göre daha fazla plak birikimine neden olduğundan, pek çok implant sisteminin transmukozal kısmında oldukça cilalı Ti yüzeyler kullanılır²²⁴⁻²²⁸. Ancak daha önceden yapılan çalışmalar, yüzey dokusunun fibroblast ve epitelyal hücre bağlanmasını belirgin derecede etkilediğini göstermiştir ve optimal yumuşak doku tıkaması için kesin bir yüzey pürüzlülüğüne ihtiyaç duyulduğuna karar verilmiştir²²⁹⁻²³¹. Yakın zamanda biyolojik yumuşak doku tıkamasının farklı tip, materyal ve pürüzlülükteki dental implantlardaki tiplerinin araştırılmasına yönelik geniş araştırmalar yapılmış, spesifik yüzey özelliklerinin topografi, yapı, kimya, yüzey yükleri ve ıslatabilirliği gibi birçok özelliği yüzey modifikasyonu ile değiştirilerek, yumuşak doku integrasyonu geliştirilmeye çalışılmıştır^{6,51,54,59}. Düzgünce cilalanmış, pürüzlüce kumlanmış ve plazma spreyleneşmiş implant yüzeylerinde direk bağ doku teması gözlenirse de, kolajen liflerin respektif yüzeylere paralel şekilde yerleştikleri görülmüştür^{58,233}.

Yoshinari et al, iyon implantasyonu, oksidasyon ve iyon kaplama gibi kuru işlemlerle yapılmış yüzey modifikasyonlarının antibakteriyel aktivitede belirgin bir iyileşme yaptığını rapor etmiştir²³⁴.

Yüzey pürüzlülüğü dışında ,Ti yüzeylerin antibakteriyel etkinliğinin olmaması bakteriyel büyüme için uygun ortam oluşturur. Bu da yüzey modifikasyonlarına ihtiyaç duyulmasının diğer bir nedenidir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, TiN ve ZrN gibi sert yüzey kaplamalarıyla transmukozal kısım yüzeylerinin fiziksel özellikleri ve antibakteriyel etkinliklerinin geliştirilmeye çalışıldığı gösterilmiştir²³⁴. Ancak bu kaplamaların antibakteriyel özelliklerinin yanında bir takım dezavantajları da olduğunu rapor edilmiştir. Bu kaplamaların altlarındaki yapılardan ayrılmaları çok kolaydır ve aşınma dirençleri düşüktür. Bu nedenle özellikle transmukozal kısımlarda meydana gelen dental plağın uzaklaştırılması sırasında kullanılan periodontal aletler, kaplamaların aşınmasına veya yüzeyden ayrılmasına neden olur. Bu da yüzey pürüzlülüğünü artıracığından veya Ti yüzeyleri açığa çıkaracağından bakteriyel yapışmayı artırarak implant başarısını olumsuz yönde etkileyebilir.

Bu dezavantajların üstesinden gelmek için düşük yüzey pürüzlülüğü, düşük sürtünme katsayısı, yüksek aşınma direnci ve biyouyumluluğunun yanında taban malzemeye yapışması daha iyi olan yeni bir kaplama materyali gereksinimi ortaya çıkmıştır. Bu nedenle ortopedik ve kardiyovasküler cerrahide, üstün biyolojik ve mekanik özellikleri nedeniyle kullanılan elmas benzeri karbon (DLC) kaplamasının dental implantlarda kullanılması gündeme gelmiştir.

2.8. Elmas Benzeri Karbon (DLC)

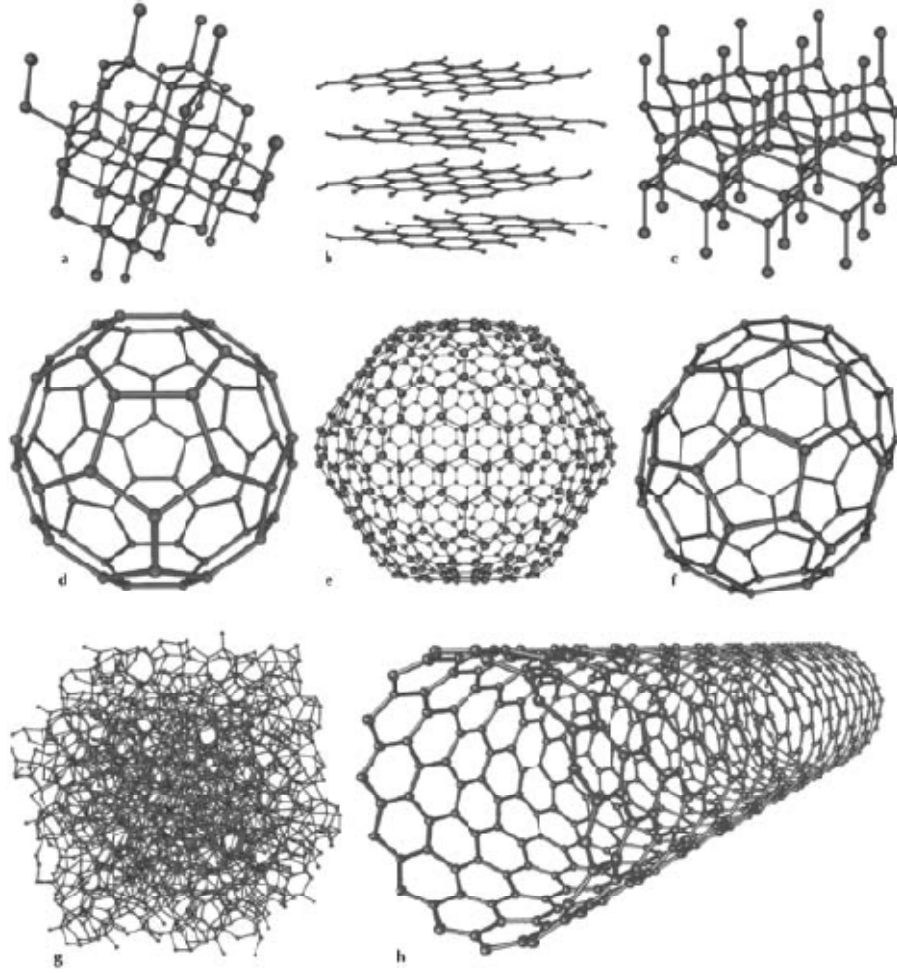
2.8.1. DLC'nin yapı ve özellikleri

Elmas birçok üst düzey özelliği sebebiyle bilim adamlarının ilgisini çekmiştir. Elmas metastabil bir karbon polimorfudur ve yapısındaki her karbon atomu başka dört karbon atomuna tamamı kovalent bağlar ile bağlanmıştır²³⁸. Elmas, düşük basınç altında ince film tabakası halinde sentezlenebilir. Farklı depozisyon teknikleri karbon, hidrojen karışımı ve hidrokarbon öncü gazlarından elmas filmlerin üretilmesinde kullanılmışlardır. Bu elmas filmler, yüksek sertlik, termal iletkenlik, yüksek elektriksel direnç, kimyasal uyum, geniş optik bant aralığı, iyi tribolojik özellikler ve biyouyumluluk gibi bir çok özelliği barındırırlar. Ancak söz konusu ince elmas filmlerin oluşturulması için 850-900°C sıcaklığa ihtiyaç duyulur. Bu durum ince elmas filmlerin üzerlerinde kullanılabileceği yapıları oldukça sınırlamaktadır²³⁹. Bu sebeplere

bağlı olarak ince elmas filmlerin özelliklerini sunabilecek ve uygulama konusundaki sınırlamaları ortadan kaldırabilecek başka bir ince film tabakası geliştirmeye ihtiyaç doğmuştur.

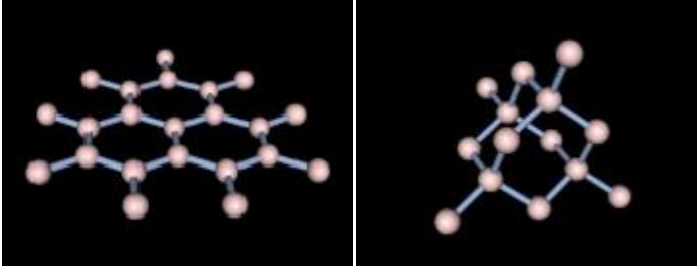
Karbonun en çok bilinenleri grafit ile elmas olmak üzere birçok allotropu mevcuttur. Bu gruptaki materyaller geleneksel metal, seramik, polimer sınıflamaları altına alınamamaktadırlar ²³⁸. Karbon allotropları, Strock²⁴⁰ tarafından sekiz alt grup altında sınıflandırılmışlardır (şekil 2.11).

- A) Elmas
- B) Grafit
- C) Lonsdaleite
- D) Fulleren C60
- E) Fulleren C540
- F) Fulleren C70
- G) Amorf Karbon
- H) Tek katmanlı karbon nanotüp



Şekil 2.11: Karbonun sekiz allotropu²⁴⁰

Hepsi karbon atomlarının farklı şekillerde bağlanması sonucunda ortaya çıkmıştır ve her biri birbirinden farklı özellikler sergilerler. Diğer taraftan, hem grafitteki baskın bağ olan sp^2 , hem de elmastaki baskın bağ olan sp^3 bağlı karbon içeren amorf yapıdaki karbon şekline DLC (elmas benzeri karbon) denmiştir²⁴¹. Yani bu kaplamalar, çok kısa aralıklı sıralanmış sp^3 tipi dörtyüzlü-tetrahedral bağlar ile karakterize elmas ile sp^2 tipi üç köseli-trigonal bağlar ile karakterize grafitik fazların birlikte bulunduğu amorf bir yapıdır²⁴²(Şekil 2.12).



A

B

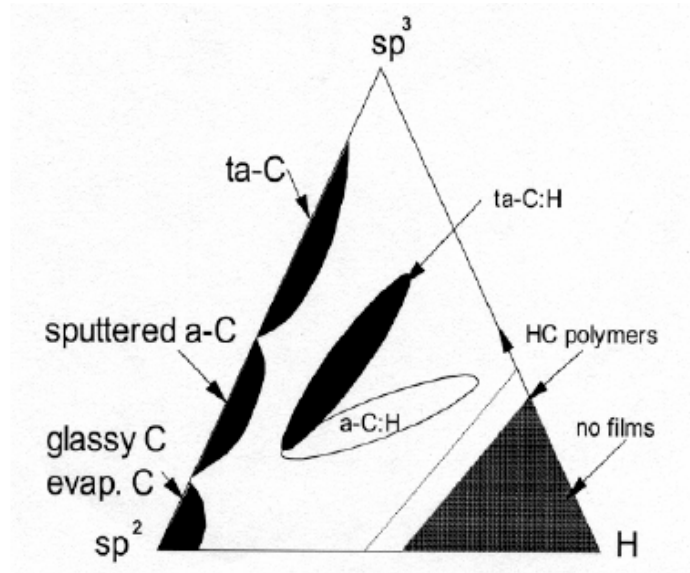
Şekil 2.12: A. Grafit (Sp^2) ve B. Elmas (Sp^3) bağları²⁴²

Genel terim olarak DLC hidrojenize edilmiş ve hidrojenizsiz metastabil amorf karbon materyalini ifade eder.

Robertson²⁴³ tarafından teklif edilen sınıflandırmaya göre; DLC, dört alt grup altında kategorize edilebilir.

- 1) Amorf Karbon (a-C)
- 2) Hidrojenize Amorf Karbon (a-CH)
- 3) Tetragonal Amorf Karbon (ta-C)
- 4) Hidrojenize Tetragonal Amorf Karbon (ta-CH)

Amorf karbon gruplarında sp^2 bağı baskın, tetragonal amorf karbon gruplarında ise sp^3 bağı baskın haldedir (Şekil 2.13).



Şekil 2.13: DLC'nun bazı formlarını gösterir faz diyagramı²⁴²

Elmas Benzeri Hidrokarbonlarda hidrojen oranı %10 ile %60 arasında değişebilmektedir ve atom numarası yoğunlukları $0.19 \text{ [g-atom/cm}^3\text{]}$ 'ten fazladır. Elmas benzeri özelliklerin elde edilmesinde hidrojen önemli bir rol oynamaktadır. a-CH filmlerin atom numarası yoğunluğu geleneksel hidrokarbonların aksine hidrojen içeriği arttıkça yükselmektedir. Bu yükselişin nedeni, hidrojen içeriği arttıkça, karbonun ortalama koordinasyon numarasının 3'ten 4'e çıkmasıdır. Elmas Benzeri Karbonlar (a-C) çok az hidrojen içeren veya içermeyen, atom numarası yoğunlukları ise yaklaşık $0.19 \text{ [g-atom/cm}^3\text{]}$ ile $0.28 \text{ [g-atom/cm}^3\text{]}$ arasında değişen farklı sınıf bir malzemedir. Bu yoğunluklar belirgin sp^3 tetrahedral bağların işaretişidir²⁴⁴.

Aisenberg ve Chabot²⁴⁵ tarafından gerçekleştirilen ince karbon filmler ile ilgili yapılan ilk araştırmalar 1971 yılına dayanmaktadır. Araştırmacılar oda sıcaklığındaki malzemelere uygulanabilen bir iyon saçırma tekniği geliştirmiş ve bu tekniği yalıtkan ince karbon filmlerin oluşturulmasında kullanmışlardır. Bu araştırma oluşturulan karbon filmlerin elektriksel yalıtkanlığa sahip olduklarını ve oluşturulan karbon filmin transparanlık, 2.0' dan büyük refraksiyon indeksi, yüksek elektriksel yalıtkanlık, sertlik, uzun süreli hidroflik asit tatbikine dayanıklılık, x-ray difraksiyonu ile ortaya konan elmasa yakın kafes sabiti ve 8-14 arası dielektrik sabiti gibi elmas benzeri özelliklere sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Elmas benzeri ince karbon filmler oldukça ilgi uyandıran kimyasal, termal biyolojik, mekanik ve elektriksel özellikler sayesinde son yirmi yıldır birçok araştırmaya konu olmuşlardır. Günümüzde DLC kaplamalar ile ilgili, DLC kaplamaların, elmasa yakın yüksek sertlik, yüksek aşınma direnci, kızılötesi transparanlık, düşük sürtünme, kimyasal inertlik, kızıl ötesi transparanlık, düşük termal genleşme, yüksek termal iletkenlik ve yüksek elektriksel direnç gibi olağan üstü özelliklerini ortaya koyan çok geniş literatür bilgisi mevcuttur²⁴⁶⁻²⁵⁴.

Elmas benzeri fazların sertlik ve kimyasal asallık gibi özellikleri yüksek orandaki sp^3 oranından kaynaklanmaktadır. Farklı koordinasyonlardaki karbon atomlarının birbirlerine oranı depozisyon yöntemine ve amorf hidrokarbonlarda hidrojen miktarına bağlıdır. Bu farklı bağ yapılarını bir arada bulundurması nedeniyle DLC filmler elmas, grafit ve hidrokarbon polimerlerin geniş özelliklerini taşıyabilmektedirler.

Tetrahedral karbon-karbon bağları, çok yüksek sertlik, kimyasal inertlik, yüksek elektriksel direnç, yüksek yalıtkanlık (dielektrik) sabiti, yüksek ısı iletkenlik, yüksek yoğunluk ve optik saydamlık sağlar. DLC'nin özellikleri, kaplama mekanizması ile kontrol edilebilen sp^3 bağlarının hacimsel oranı ile ilişkilendirilmiştir. Çünkü DLC'nin bağ yapısı onun özellikleri üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, çeşitli kaplama şartlarında depoze edilen DLC'nin bağlanma ve mekanik özellikleri geniş ölçüde araştırma konusu olmuştur²⁵⁵. Kaplama yöntemine ve/veya parametrelerine bağlı olarak, sp^2/sp^3 bağ oranı değişebilir ve bu yapılar içerisinde yüksek oranda hidrojene rastlanılabilir. Dolayısıyla, DLC filmlerin özellikleri de bu açıdan değişkenlik arz edebilir²⁴²(Çizelge 2.5).

Hidrojen, depoze edilmekte olan filmin yüzeyi üzerinde sp^3 bağlarının kararlı hale gelmesinde önemli bir rol oynadığı için, kullanılan bu yöntemlerin hepsinde, hidrojenli amorf karbon (a-C:H) filmlerin depozisyonunda genellikle farklı hidrokarbon karışımları kullanılmaktadır. Sıçratma ile oluşan elektriksel boşalmalarda, elektron çarpması ile hidrokarbonların ayrışması sonucunda üretilen nötral radikaller ve iyonlar gibi öncü kimyasal maddelerin aktivasyonunu sağlamak için boşalma plazması kullanılır. Bu öncü maddeler, taban malzeme yüzeyinde emilir ve bu nedenle filmler, yapı içerisine giriş yapan makul seviyede hidrojen bulundurulur²⁵⁶.

Libardi et al.²⁵⁷ sp^3 ve sp^2 bölgelerinin, hidrojen içeriğinin ve sp^2 bölgelerinin sıralanmasının DLC filmlerin mekanik ve kimyasal özelliklerinde doğrudan etkin olduğu ve bu kısımların kaplama yöntemi ve/veya kaplama parametrelerine bağlı olarak değişebileceğini ve bu yapılar içerisinde de yüksek miktarda hidrojenin bulunabileceğini teyit etmiştir. Bu fikirden yola çıkarak, asetilen/argon ve metan/argon karışımları ile farklı yüzdelerde hidrokarbonlar oluşturarak, gaz bileşiminin DLC filmler üzerinde yaptığı etkileri araştırmıştır. Ayrıca, özellikle mekanik özelliklerden sertliğin hidrojenin azaltılmasıyla maksimum seviyeye ulaşabileceğini savunmuştur.

Çizelge 2.1: Elmas, Grafit ve DLC Malzemelerin Özellikleri²⁴⁷

	a-C	a-C:H	Grafit	Elmas
Kristal Yapı	Amorf, sp ³ ve sp ² bağları karışık durumda	Amorf, sp ³ ve sp ² bağları karışık durumda	Kübik	Hegzagonal
Form	Düzensiz veya pürüzlü	Düzensiz	---	Kristalize
Sertlik (H _v)	1200 - 3000	900-3000	---	7000-10000
Yoğunluk (g/cm ³)	1,6-2,2	1,2-2,6	2,26	3,51
Elektriksel Direnç (Ω/cm)	>10 ¹⁰	10 ⁶ -10 ¹⁴	0,4	>10 ¹⁶
Isıl İletkenlik (W/m.K)	---	---	3500	2000
Kimyasal Stabilite	Asal	Asal	Asal	Asal
Hidrojen Oranı (H/C)	---	0,25-1	---	---
Büyütme Oranı (µm/sa)	2	5	---	1000

DLC ince filmlerin bahsedilen olağan üstü özelliklerine ve depozisyon tekniği ve parametreleri ile sağlanabilecek farklılıklarına rağmen DLC filmlerin kullanımını ve uygulanabilirliğini sınırlayan birçok problem mevcuttur. Yüksek iç stres ve taban malzemesine bağlanmadaki bazı problemler bunların başında gelmektedir. Söz konusu bu adezyon probleminin üstesinden gelmek amacıyla farklı kaplama konseptleri denenmiştir. Bunların arasında çok tabakalı kaplama, taban malzeme ile DLC arasına kimyasal kademeli ara tabaka uygulaması başta gelir²⁵⁸⁻²⁶⁰.

Yapılan bir çalışmada, silisyum ara tabaka uygulamasının DLC'nin taban malzemesine adezyonuna etkisi incelenmiş ve Si ara tabaka uygulamasının elmas benzeri filmlerin malzemeye adezyonunda artışa sebep olduğu ortaya konmuştur²⁶¹.

DLC filmlerin özellikleri bazı elementlerin DLC yapısına dahil edilmesi sayesinde değiştirilebilir. Bu işleme "dope" adı verilir. Bu amaçla Si, N, F ve bazı metalik elementler DLC tabakasıyla dope edilerek Si-C:H, a-C:H-N, a-C:H-F ve Me-C:H oluştururlar²⁶². DLC filmlerin özelliklerinin değiştirilmesi ve geliştirilmesi için karbon filmlerden türetilen bu malzemeler yapı olarak DLC filmlere benzerdir ancak karbon ve/veya hidrojene ek olarak azot (N-DLC veya CN filmler), silikon (Si-DLC), florin (F-DLC) ve metal atomları (Me-DLC) içermektedir. DLC üzerinde yapılan çoğu

modifikasyonlar DLC'nin yüksek olan iç gerilmelerini azaltmak (N, Si, ve metal eklenmesi ile) veya zaten düşük olan sürtünme katsayılarını yüzey enerjilerini düşürmek suretiyle azaltmak (F, Si,-O eklenmesi ile) içindir²⁴⁴. Wei et al.²⁶³, içerisine bakır, titanyum ve silikon gibi yabancı malzemeler de kattıkları DLC filmlerin mekanik özelliklerini araştırmış, katkılı DLC filmlerin saf DLC filmlere oranla adezyonunun daha iyi ve aşınma dayanımının daha yüksek olmasına karşın, sertliklerinin daha düşük olduğunu açıklamışlardır.

Sonuç olarak elmas benzeri karbon filmlerinin sahip olduğu özellikler aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- 1) Elektriksel yalıtkanlık
- 2) Optik geçirgenlik
- 3) Termal iletkenlik
- 4) Kimyasal direnç
- 5) Yüksek sertlik
- 6) Taban malzemeye iyi yapışma
- 7) Düşük yüzey pürüzlülüğü
- 8) Yüksek aşınma direnci
- 9) Düşük sürtünme katsayısı
- 10) Depozisyon sırasında düşük sıcaklık
- 11) Biyouyumluluk

2.8.2. DLC'nin Biyomedikal Kullanım Alanları

DLC, endüstriyel alanda sahip olduğu geniş kullanım alanlarına ek olarak, biyomedikal alanda da giderek yaygınlıkla kullanılmaktadır. DLC'nin biyomedikal uygulamalar açısından sakınca meydana getirip getirmediği birçok araştırmacı tarafından incelenmiş ve biyo-uyumluluğu defalarca kanıtlanmıştır²⁶⁴⁻²⁷⁵. Üstün biyouyumluluk özelliği ile yumuşak kontak lensler, kateterler, kardiyovasküler ve ortopedik implantlar gibi birçok medikal uygulamalarda kullanılırlar²⁷⁶.

Diğer kaplama materyallerine göre daha iyi olan tribolojik davranış özellikleri²⁴⁷ sayesinde cerrahi implantlarda yüzey korozyon koruyucusu olarak, ortopedik implantlarda, medikal aletlerde, ağız içi akrilik protez diş yüzeylerinde aşınma direncinin artırılması ve iyon salınımının engellenmesi amacıyla kullanılmaktadır²⁷⁷.

DLC kaplamalar, stres analizleri, yüzeylerinde oluşacak adezyona dirençleri ve biyomedikal uygulamalarda biyouyumlulukları gibi birçok durumlarda test edilmiştir²⁶⁷⁻²⁶⁹.

Gutenshon at al.²⁷⁸, Ni, Cr, Mo ve Mn üzerinde yaptıkları element analizleri sonucunda, DLC kaplama yapılmamış metal cerrahi stent plazma örneklerinde iyon salınımında önemli derecede artış ortaya koymuşlardır. DLC kaplama yapılmış cerrahi stentlerde ise iyon salınımı söz konusu değildir.

Hiridojenize amorf karbon kaplamalar, ağız içi implantlarda da araştırma konusu olmuşlardır^{278,279}. Yapılan araştırmalar sonucunda PECVD tekniği ile depoze edilen DLC kaplamalar anlamlı ölçüde osseointegrasyon, tükürüğe ve diğer ağız içi elemanlara direnç göstermişlerdir²⁸⁰.

Ortodontik NiTi teller üzerine uygulanan DLC kaplamanın ağız içine nikel salınımını önlediğini rapor eden çalışmalar da mevcuttur²⁸¹. Ayrıca, DLC kaplama yolu ile kontak lenslerin oftalmolojik uygulamalarının geliştirilebildiğini ortaya koyan birçok araştırma mevcuttur^{282,283}.

Kim et al.²⁸⁴, dental implantlarda vida gevşemesi problemine bir çözüm önerisi olarak sunduğu çalışmada, DLC kaplama yöntemi kullanılan implantlar için vida gevşeme yüklerini daha yüksek bulduğunu rapor etmiştir.

Düşük yüzey pürüzlülüğü nedeniyle bakteriyel ve partikül adezyonunun minimum olmasına bağlı olarak kalp damar cerrahisinde damar içi stentlerde kullanılmaktadır²⁸⁵⁻²⁸⁸. Yapılan çalışmalar DLC kaplamanın yüzey pürüzlülüğünün diğer sert kaplamalara göre daha düşük olduğunu göstermektedir.

2.8.3. DLC Kaplama Teknikleri

Çok sayıda DLC kaplama tekniği mevcuttur. Bu tekniklerden “*Chemical Vapor Deposition*” (CVD) DLC kaplama işlemi, ısı aktivasyonlu gazsı kimyasal bileşiklerin reaksiyonu ile gerçekleştirilir. CVD ile DLC kaplama işlemi için gerekli olan ısı yaklaşık 900-1050°C’dir. Oluşturulan film kalınlığı 5-12 mikrondur. CVD işleminde gerekli olan çok yüksek ısı tekniğin uygulanabildiği materyal seçeneklerini sınırlamaktadır. Bu yüksek ısı sebebiyle, film tabakası ve kaplamanın yapıldığı metalin termal genleşme katsayıları arasındaki farklılıklar iç streslerin oluşumuna yol açacaktır. Oluşan iç stresler filmin kaplanacak materyal üzerine adhezyonunu olumsuz yönde etkileyecektir. Diğer bir teknik ise “*Physical Vapor Deposition*” (PVD) dir. PVD metal

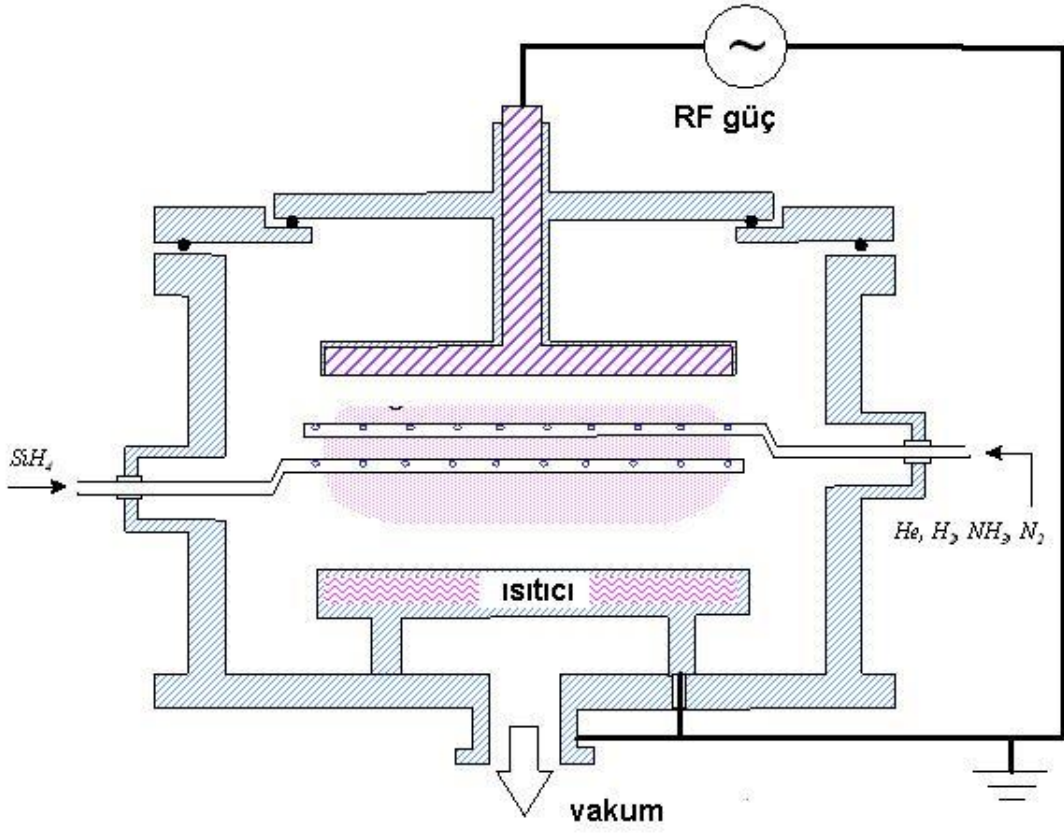
buharının farklı gazlar ile reaksiyona girerek ince bir film tabakası oluşturmaya işlemdir. PVD ile DLC kaplama işlemi için gerekli ısı idealde 250-400°C'dir ancak işlem 70-450°C arasında da uygulanabilir. Oluşturulan filmin kalınlığı 2-5 mikrondur. PVD ile gerçekleştirilen film kaplamalardaki en önemli sorunlar tüm yüzeyin pürüzsüzlüğü ve filmin yoğunluğu ile ilgili problemlerdir. “*Plasma Assisted Chemical Vapor Deposition*” (PACVD) veya “*Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition*” (PECVD) teknikleri bu tekniklere alternatif olarak geliştirilmiştir.

2.8.3.1. PECVD Depozisyon Tekniği

PECVD ile 200°C altındaki sıcaklıklarda DLC kaplama işlemi gerçekleştirilebilmektedir. PECVD tekniği ile üst düzeyde pürüzsüz ve adhezyonu kuvvetli film tabakaları oluşturulabilir²⁸⁹. PECVD kaplama tekniğinin şematik gösterimi şekil 2.14'te sunulmuştur. Diğer yöntemlere göre daha düşük olan DLC kaplama oluşturma sıcaklığı, kaplanan materyal ve kaplama materyali arasındaki termal genişleme katsayılarının uyumsuzluğundan kaynaklanabilecek adhezyondaki muhtemel azalmanın engellenmesini sağlamaktadır. Oluşturulan DLC film tabakası yüksek adhezyona ve yüksek internal yapışma kuvvetine sahiptir. Oluşturulan film tabakasının kalınlığı yaklaşık 2-3 mikron kadardır.

PECVD tekniğinde, depozisyon çemberi katot ve anot plakalar ile biçimlendirilmiştir. Substrat, iyon bombardımanını en üst seviyeye çıkarmak amacıyla katot üzerinde konumlandırılır ve anot tabaka ise topraklanır²⁹⁰.

Bias voltajı ve depozisyon basıncı, film yüzeyinden atomların sıçramasını en aza indirmek açısından önemli parametrelerdir. Bias voltajı genellikle -100V ile -1000V arasında değişir. Depozisyon basıncı ise 10 ile 100 mtorr arasındadır²⁸⁷.



Şekil 2.14: PECVD kaplama sistemine bir örnek şema

Biz de çalışmamızda, üstün biyolojik ve tribolojik özelliklere sahip DLC kaplamının dental implant uygulamalarında kullanılıp kullanılmayacağı hakkında fikir verebilecek bir takım araştırmalar yaptık ve DLC kaplamayı mikrobiyolojik ve biyokimyasal açılarından değerlendirdik.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızda, elmas benzeri karbon (DLC) kaplamanın, Ti diskler üzerinde kullanılmasının mikrobiyolojik ve biyokimyasal etkinliği incelenmiştir.

Çalışmalarımız 2 ana başlık altında toplanmıştır.

- 1) DLC kaplı Ti diskler üzerinde yapılan mikrobiyolojik incelemeler: 2 farklı kaplama materyali olan TiN ve DLC ile kaplı Ti diskler üzerinde biriken *S. Mutans* ve *S. Sanguis* miktarının, kontrol grubu olan saf Ti diskler üzerinde birikenlerle kalitatif ve kantitatif olarak karşılaştırılması.
- 2) DLC kaplı iyileşme başlıkları kullanılarak yapılan biyokimyasal inceleme: TiN ve DLC kaplı iyileşme başlıkları çevresindeki dişeti oluşu sıvısından alınan örneklerdeki inflamasyona neden olan konak kaynaklı enzimler (MMP-8) ve inflamatuvar mediatörlerin (IL-1 β ve TNF- α) yine kontrol grubu olan saf Ti iyileşme başlıklarındakilerle ELIZA yöntemi ile karşılaştırılması.

3.1. Mikrobiyolojik İncelemeler

3.1.1. Mikrobiyolojik Test Örneklerinin Hazırlanması

S. Mutans ve *S. Sanguis* bakteri suşlarının farklı kaplama materyalleri üzerine birikiminin kalitatif ve kantitatif ölçümü için 5mm çapında ve 2 mm kalınlığında 30 adet ticari saf Ti (grade 3, ASTM B348) disk şekilli örnekler hazırlanmıştır. Örnekler hazır Ti çubuklardan tornalama yöntemi ile ilgili boyutlarda elde edilmişlerdir. Çalışmamızda kullanılan Ti alaşımın kimyasal bileşimi Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1: Mikrobiyolojik test örneklerinde kullanılan Ti alaşımın kimyasal bileşimi.

Alaşım	Kaynak	Alaşım tipi	İçerik (% ağırlık)
Tip 3 Cp Ti	ASTM B 348	Saf Ti	Ti:99,1 / C:0,1 / Fe:0,3 / H:0,015 / N:0,05 / O:0,35

Hazırlanan diskler mikro aşındırma ve polisaj ünitesinde (Exakt 400 CS, Exakt Apatarbau, Norderstad, Almanya) sırasıyla 500, 800, 1200 gritlik SiC zımpara kağıtları ile yüzey işlemi uygulanmış ve takiben 6 µm ve 3 µm luk elmas pasta ve elmas solüsyonu (Diapat, Metkon Inst. Ltd., İstanbul, Türkiye) ile parlatılmıştır. Yüzey hazırlığı işlemi, örneklerin kaplama işlemi öncesinde ultrasonik banyoda etanol ile temizlenmesi ile tamamlanmıştır.

Yüzey kaplamasına hazır hale getirilen bu Ti diskler, her birinde 10 adet disk olacak şekilde yüzey kaplamalarına göre 3 gruba ayrılmıştır.

1. Grup: TiN ile kaplı diskler.
2. Grup: DLC kaplı diskler.
3. Grup: Herhangi bir yüzey kaplaması yapılmamış cilalı saf Ti diskler (Şekil 3.1).

3.1.1.1. Örneklerin TiN ile Kaplanması

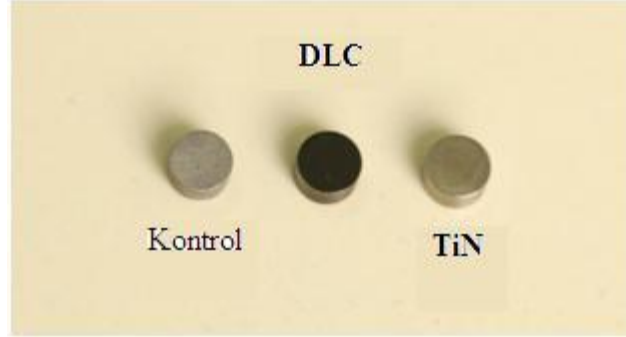
Fiziksel buhar depozisyonu (PVD) ile yapılan kaplama 3 katodlu, iyon bombardıman voltajı -950 , kaplama voltajı -200, ark akımı 50 amper, kaplama sıcaklığı 250-300 °C, depozisyon hızı 2-2,5 µm olan Novatech NVT-11 Katodik Ark Buharlaştırma sisteminde yapılmıştır. TiN kaplama Ionbond-Tinkap, İstanbul, Türkiye yüzey teknoloji firmasında yapılmıştır.

3.1.1.2. Örneklerin DLC ile Kaplanması

Bu çalışmada kullanılan DLC kaplama, hidrojen zengin gaz boşalma plazması içerisinde bir "Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition" (PECVD) sistemi (Perkin-Elmer PE2400, Massachusetts, ABD) kullanılarak sentezlenmiştir. DLC kaplama işlemi için, hacmen %25 metan ile hacmen %75 hidrojen gazı karışımı ile RF (radyo frekans) kapasitanslı PECVD sisteminin depozisyon çemberi beslenmiştir²⁹¹.

Depozisyon işlemi süresince sıcaklık bir ısı ölçüm cihazı ile kontrol edilmiş ve sıcaklığın 150 °C altında kaldığı tespit edilmiştir. Depozisyon çemberi içerisine yerleştirilmeden hemen önce örnekler sırasıyla hekzan, aseton, ve metanol gibi çözücüler kullanılarak ultrasonik banyoda temizlenmişlerdir. Depozisyon işlemi öncesinde de 30 dakika süreyle yüzeylerinden doğal oksitlerinin ve diğer adsorbe edilmiş moleküllerin temizlenmesi amacıyla argon (Ar) iyon bombardımanı uygulanmıştır. Diskler ve DLC filmler arası adezyonun güçlendirilmesi amacıyla, ilk olarak yaklaşık 50nm kalınlığında

bağlayıcı bir silisyum (Si) tabakası yüzeye uygulanmıştır. DLC film depozisyon işlemi sırasında kullanılan gaz basıncı yaklaşık 30 mTorr ve RF bias voltajı 500 V dur.



Şekil 3.1: Mikrobiyolojik test örnekleri.

3.1.2 Mikrobiyolojik Test Örneklerinin Yüzey Topografilerinin İncelenmesi

Yüzey topografisinin incelenmesi atomik kuvvet mikroskopu (AFM) ile İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü'nde yapılmıştır. Görüntüler Multi Mode SPM Nanoscope IV (Veeco Ins., Santa Barbara, CA) atomik kuvvet mikroskobundan kaydedilmiştir (Şekil 3.2). Temas modu ucu olarak normal uçlu oksit ile sivrileştirilmiş silikon nitrit uç kullanılmıştır. Koniler 1,969 Hz tarama hızında ve standart üniform karelerle taranmıştır (20 µm X 20 µm). Konilerin taranması sırasında temas modu görüntü (CMI) profilleri elde edilmiştir. Kaplamaların 3 boyutlu görüntüleri kaydedilmiş ve karşılaştırma yapmak için R_a ve R_{max} değerleri ölçülmüştür (R_a =tüm mesafede yüzey pürüzlülüğünün tüm ölçümlerinin aritmetik ortalaması, pürüzlülük averajı; R_{max} =ölçülen mesafedeki maksimum pürüzlülük). Mesafe içerisinde maksimum pürüzlülük ölçülmüş (R_{max}) ve tüm mesafedeki yüzey pürüzlülüğünün tüm ölçümlerinin aritmetik ortalaması (pürüzlülük ortalaması = R_a) değerlendirilmiştir. Pürüzlülük değerleri farklı tedavi gruplarını karşılaştıracak şekilde istatistiksel olarak (SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version) tek-yönlü ANOVA ve Tukey post hoc test testleriyle değerlendirilmiştir.



Şekil 3.2: Atomik kuvvet mikroskobu (AFM)

3.1.3 Bakteri Kültürleri

3.1.3.1 Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması

Kan kültürlerinden izole edildikten sonra BBL Cyrstal (BD Diagnostic, Maryland, Amerika) tanımlama sistemi ile tanımlanmış *S.mutans* ve *S.sanguis* (Başkent Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Merkezi, Adana), -20°C deki köpüğü alınmış süt ortamında saklandı. Bakteri süspansiyonu %5'lik steril defibrine kan eklenmiş, Kolombiya kan agar plakaları üzerine yayıldı. Plakalar %5 CO_2 içeren atmosferde 35°C de inkübe edildi.

Bakteri zincirleri tripton soya et suyunda çökeltilerek geç durağan faz için büyütüldü ve 15 dakika 2000 xg de santrifugasyonla sonuç elde edildi, daha sonra 3 ml 50 mmol/l Tris-HCL tampon solusyonda (pH 7.2) 2 kere yıkandı, sonra aynı tamponda

yeniden bırakıldı ve konsantrasyon yoğunluğu 1.5×10^7 hücre/ml olacak şekilde ayarlandı.

Farklı yüzey modifikasyonuna sahip diskler sırasıyla 1.5×10^7 hücre/ml *S. mutans* ve *S. sanguis* içeren 5 ml'lik süspansiyonlara inkübe edildi ve sırayla nemli ortamda 37°C de 1 saat ıslak hacimde hafifçe döndürüldü.

Modifiye titanyum yüzeylerde yapılan deneyler, her bir seferde 3 disk kullanılarak 3 kere tekrarlandı. 1saatlik inkübasyondan sonra, diskler çıkarıldı ve herbiri 1 ml distile su ile 6 defa yıkandı. Bakteriyal mikrokoloniler 4°C de %2,5 luk glutraldehit ile 30 dakikada sabitlendi ve oda sıcaklığında 30 dk %1 akridin oranj ile boyandı. Hemen sonrasında, fazla boyayı uzaklaştırmak için distile su ile yıkandı.

3.1.3.2 Bakteri Kültürlerinin Sayılması

Bakteri sayısı floresan mikroskopta sayılarak x40 büyütmede belirlendi (Carl Zeiss, 444131, Lübeck- Seekamp, Almanya) (Şekil 3.3). Kolonilerin sayısı, her bir disk üzerinden rastgele seçilmiş beş alanda sayılan bakteri sayısının ortalaması alınarak bulundu.



Şekil 3.3: Floresan mikroskop

Mikrobiyal tutunma değerleri farklı grupları karşılaştırmak üzere istatistiksel olarak (SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version) tek-yönlü ANOVA ve Tukey post hoc test ile değerlendirildi.

3.2. Biyokimyasal İncelemeler

3.2.1 Hastaların Seçilmesi

Çalışmamızda alt ve üst çenelerine toplamda üç veya daha fazla, 4,3 mm çapında, Camlog marka (Camlog Biotechnologies AG, Basel, İsviçre) implant yerleştirilen 10 hasta kullanıldı. Bu hastalar seçilirken cinsiyet, yaş ayırımı

yapılmazken, genel sağlık durumları da hastaların seçimi sırasında bir kriter oluşturmadı. Hastalardan ağız hijyeni açısından her zamankinden farklı bir işlem yapmaları istenmedi.

Osseoentegrasyon süresi tamamlandıktan sonra her bir hastaya, ikinci cerrahi ile aynı yükseklik ve şekildeki, TiN kaplı, DLC kaplı ve cilalı Ti iyileşme başlıkları yerleştirildi.

3.2.2 Örneklerin toplanması:

Örnekler protetik yükleme öncesinde, osseoentegrasyon aşamasındaki implantların iyileşme başlıkları etrafındaki perimplant oluk sıvısından (PİOS) alındı. 2 farklı implant kaplama materyali olan TiN ve DLC ile kaplanmış iyileşme başlıkları kontrol grubu olarak kullanılan ticari olarak saf Ti başlıklar ile karşılaştırıldı.

İyileşme başlıkları yerleştirildikten sonraki 3., 7. ve 21. günlerde başlıkların her birinden, bukkal, lingual, mezial ve distalden olmak üzere dörder tane örnek alındı. Örneklerin alınması için kurutma kağıtları kullanıldı. Örneklerin tükürük ve/veya supragingival plak ile kontamine olmasını önlemek için bölgeler önce pamuk tamponlar ile izole edildi, bölgedeki tükürük aspire edildi ve eğer supragingival plak varsa periodontal sonda ile dikkatle uzaklaştırıldı. Bu işlemler sırasında implant çevresi mukozanın mekanik bir travmaya maruz kalmamasına özen gösterildi. Sonrasında her bir bölgede PİOS'a yerleştirilen kurutma kağıtları 15 sn bekletilerek örnekler alındı. Alınan her bir örnek tek tek steril ependorf tüplerine yerleştirilerek analiz yapılana kadar -80 °C de bekletildi.

3.2.3. PİOS da MMP-8, IL-1 β ve TNF- α Analizi

PİOS örnekleri emdirilmiş kurutma kağıtlarının bulunduğu ependorf tüpleri -80 °C'deki derin dondurucudan çıkartıldı ve üzerlerine 1 ml serum fizyolojik eklendi oda sıcaklığında 1 saat bekletilerek çözümleri sağlandı.

DOS örneklerindeki MMP-8, IL-1 β ve TNF- α seviyeleri, spesifik *sandwich enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)* kitleri (MMP-8:Quantikine[®], Minneapolis, Minnesota, Amerika; IL-1 β ve TNF- α :Bender MedSystems[®], Viyana, Avusturya) (Şekil 3.4) kullanılarak, farklı günlerde yapılan analizlerle tespit edildi.



Şekil 3.4: ELISA kit örneği

Bu deneylerde her bir işaretçi için, iç yüzeyi çalışılan insan işaretçisine (MMP-8, IL-1 β ve TNF- α) spesifik olan bir monoklonal antikor ile önceden kaplanmış 96 kuyucuklu mikropak kullanıldı. Bu yöntem, standart ve örneklerin kuyucuklara konulmasını takiben marker moleküllerinin bu hareketsiz monoklonal antikorlar tarafından bağlanması, marker için spesifik olan enzim bağlı poliklonal antikor eklenmesi ve substrat solüsyonu eklenerek markerların bulunduğu kuyucuklarda renk değişimi oluşması prensipleriyle gerçekleştirildi. Renk değişimi reaksiyonu durdurularak oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede ölçüldü.

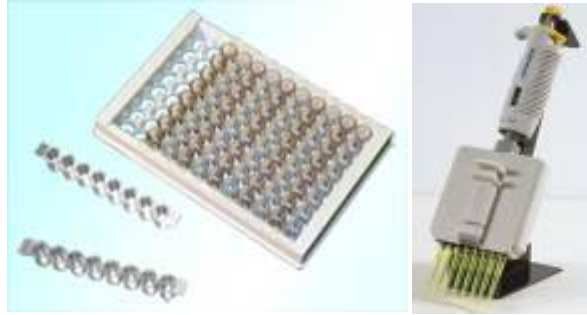
Çalışmamızdaki analizler firmaların önerileri doğrultusunda yapıldı.

MMP-8 için :

0, 3.9, 7.8, 15.6, 31.2, 62.5, 125, 250 pg/mL konsantrasyonlarında marker içeren standart solüsyonlar hazırlandı.

1. Kuyucuklara 150 μ l Assay Diluent konuldu.
2. Sonra ilk 8 kuyucuğa standart solüsyon konulacak şekilde 50 μ l standart solüsyon ve 50 μ l elüsyon sıvısı otomatik pipet yardımıyla her kuyucuğun içine yerleştirildi.
3. Mikroplağın üzeri yapışkan bir bant ile kapatıldı, 2 saat 500 \pm 50 rpm lik mikropak çalkalayıcısında inkübasyona bırakıldı.
4. Daha sonra çıkarılan mikropak 4 defa 400 μ l Wash Buffer (20 ml Wash Buffer +480 ml distile su) ile yıkandı.
5. Yıkama sonrasında 200 μ l MMP-8 Conjugate tüm kuyucuklara konuldu.

6. Mikroplağın üzeri yine yapışkan bir bant ile kapatıldı, 2 saat mikroplak çalkalayıcısında inkübasyona bırakıldı.
7. Tekrar 4 defa 400µl Wash Buffer ile yıkandı.
8. Sonrasında tüm kuyucuklara 200µl Substrate Solution (Kullanılmadan 15 dk önce Color Reagenta A ve B'nin karıştırılmasıyla hazırlanır) konuldu.
9. 30 dk oda ısısında karanlık bir ortamda inkübasyona bırakıldı.
10. Sonra tüm kuyucuklara 50 µl Stop Solution konuldu ve kuyucuklarda renk değişikliği olup olmadığına bakıldı.
11. 30 dk içinde 450 nm de mikroplak okuyucu ile okuma yapıldı.



Şekil 3.5: Mikroplak ve otomatik pipet

IL-1 β ve TNF- α için:

0 (blank), 7.8, 15.6, 31.2, 62.5, 125, 250, 500 pg/mL konsantrasyonlarında marker içeren standart solüsyonlar hazırlandı.

1. Çalışmaya başlamadan önce mikroplak 2 defa 400µl Wash Buffer (50 ml Wash Buffer +950 ml distile su) ile yıkandı.
2. İlk 8 kuyucuğa 100 µl standart koyuldu. (dublicate çalışıldı)
3. Blank kuyucuklarına 100 µl Sample diluent konuldu.
4. Örnek kuyucuklarına 50 µl Sample diluent ve 50 µl örneklerden konuldu.
5. 5,94 ml Assay Buffer'a 0,06 ml Biotin Conjugate eklenip 1:100 oranında dilue edilerek Biotin Cojugate hazırlandı ve her kuyucuğa 50 µl konuldu.
6. Mikroplağın üzeri yapışkan bir bant ile kapatıldı, 2 saat 100 rpm deki mikroplate shakerda inkübasyona bırakıldı.
7. Daha sonra çıkarılan mikroplak 4 defa 400µl Wash Buffer ile yıkandı.

8. Sonrasında 11,94 ml Assay Buffer'a 0,06 ml Streptavidin-HRP eklenip 1:200 oranında dilue edilerek hazırlanan Streptavidin-HRP'den 100 ml tüm kuyucuklara konuldu.
9. Mikroplağın üzeri yine yapışkan bir bant ile kapatıldı, 1 saat mikroplate shakerda inkübasyona bırakıldı.
10. Tekrar 4 defa 400µl Wash Buffer ile yıkandı.
11. 100µl TMB Substrate Solution tüm kuyucuklara konuldu.
12. Oda ısısında 10 dk karanlıkta inkübe edildi.
13. Sonra tüm kuyucuklara 100 µl Stop Solution konuldu ve kuyucuklarda renk değişikliği olup olmadığına bakıldı.
14. 420 nm de mikropalak okuyucu ile okuma yapıldı.

3.2.3.1.MMP-8, IL-1β ve TNF-α Değerlerinin Hesaplanması

Mikropalak okuyucu ile yapılan okuma sonrasında alınan değerler standart eğrilerinin belirlenmesinden sonra tek tek hesaplandı ve standart değerlerinin üzerinde bulunan değerler anlamlı olarak kabul edildi.

İşaretçilerin günler ve farklı kaplama yöntemlerine bağımlı olarak ayrı ayrı yapılan değerlendirmelerinde istatistiksel olarak (SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version) Mann Whitney U ve Kruskal-Wallis H-testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Mikrobiyolojik Bulgular:

4.1.1 Mikrobiyolojik Test Örneklerinin Yüzey Topografileri

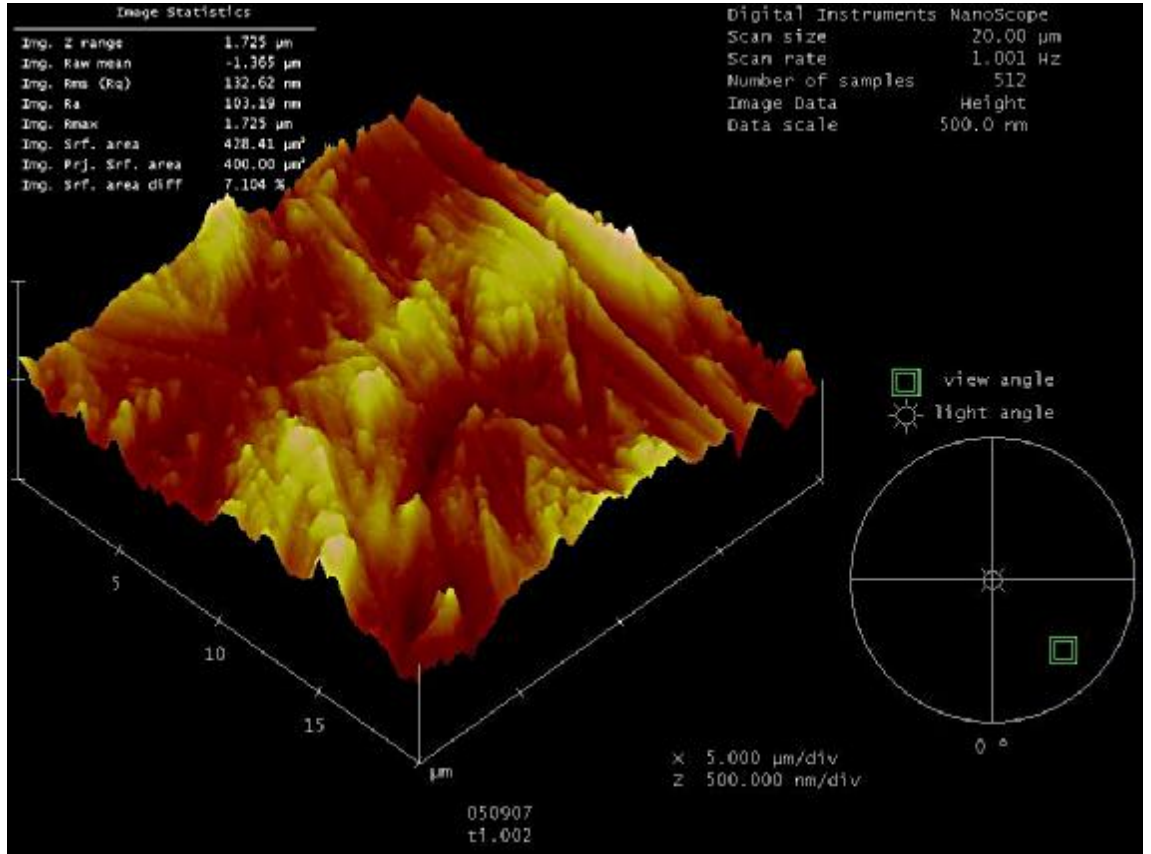
Yüzey pürüzlülüğünün R_a ve R_{max} değerleri Çizelge 4.1’ de gösterilmektedir. DLC kaplı Ti disklerin yüzey pürüzlülüğü değerleri ($0,04\pm0,009 \mu\text{m}$; $0,39\pm0,05 \mu\text{m}$), TiN kaplı ($0,13\pm0,02 \mu\text{m}$; $1,74\pm0,17 \mu\text{m}$) ve cilalı Ti ($0,11\pm0,07 \mu\text{m}$; $1,43\pm0,36 \mu\text{m}$) disklerin yüzey pürüzlülüğüne göre istatistiksel olarak daha düşüktür. Ancak cilalı Ti ve TiN kaplı disklerin R_a ve R_{max} değerleri arasında herhangi bir istatistiksel fark bulunmamıştır.

Çizelge 4.1: AFM ile yüzey topografisinin tanımlanması (R_a and R_{max} ortalama değerlerinin μm cinsinden değeri)

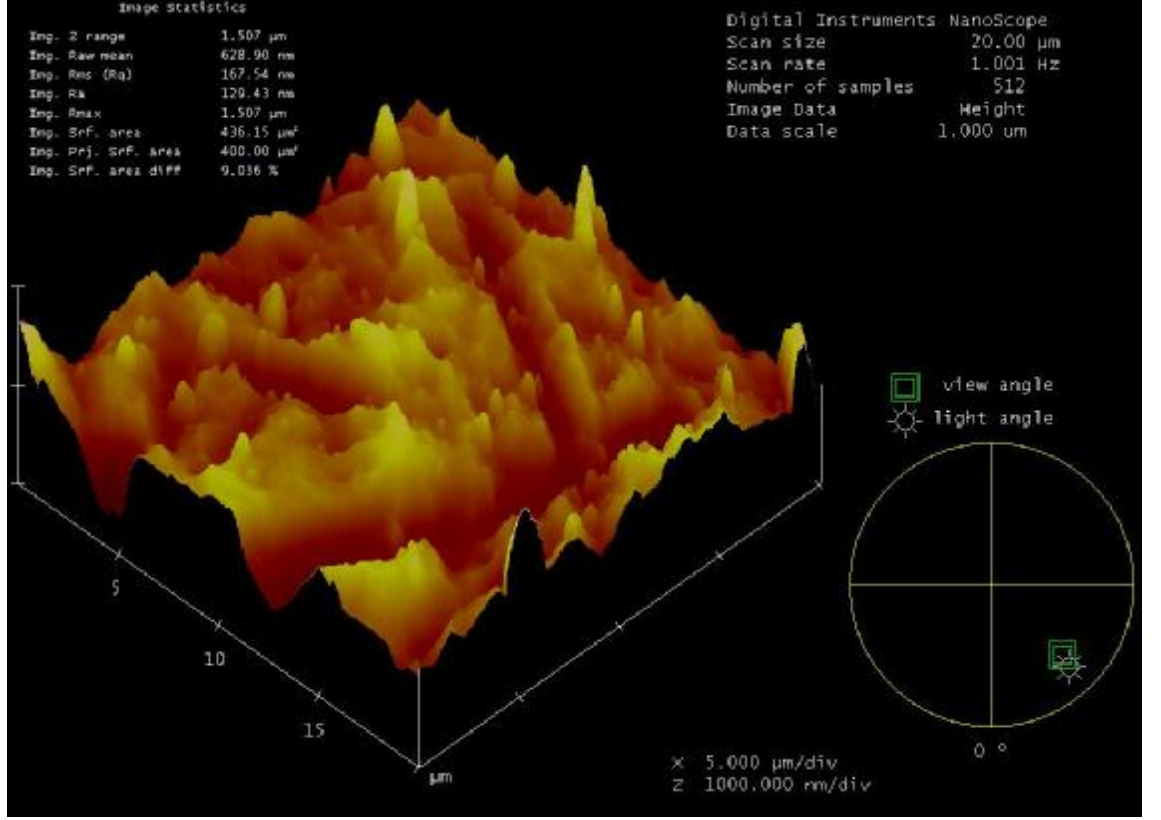
Yüzey	R_a [μm] \pm SD	R_{max} [μm] \pm SD	Tukey Analizi
Cilalı Ti	$0,11\pm0,07$	$1,43\pm0,36$	A*
TiN	$0,13\pm0,02$	$1,74\pm0,17$	A
DLC	$0,04\pm0,009$	$0,39\pm0,05$	B

* Farklı harfler istatistiksel olarak belirgin farklılığı göstermektedir. ($p < 0.05$)

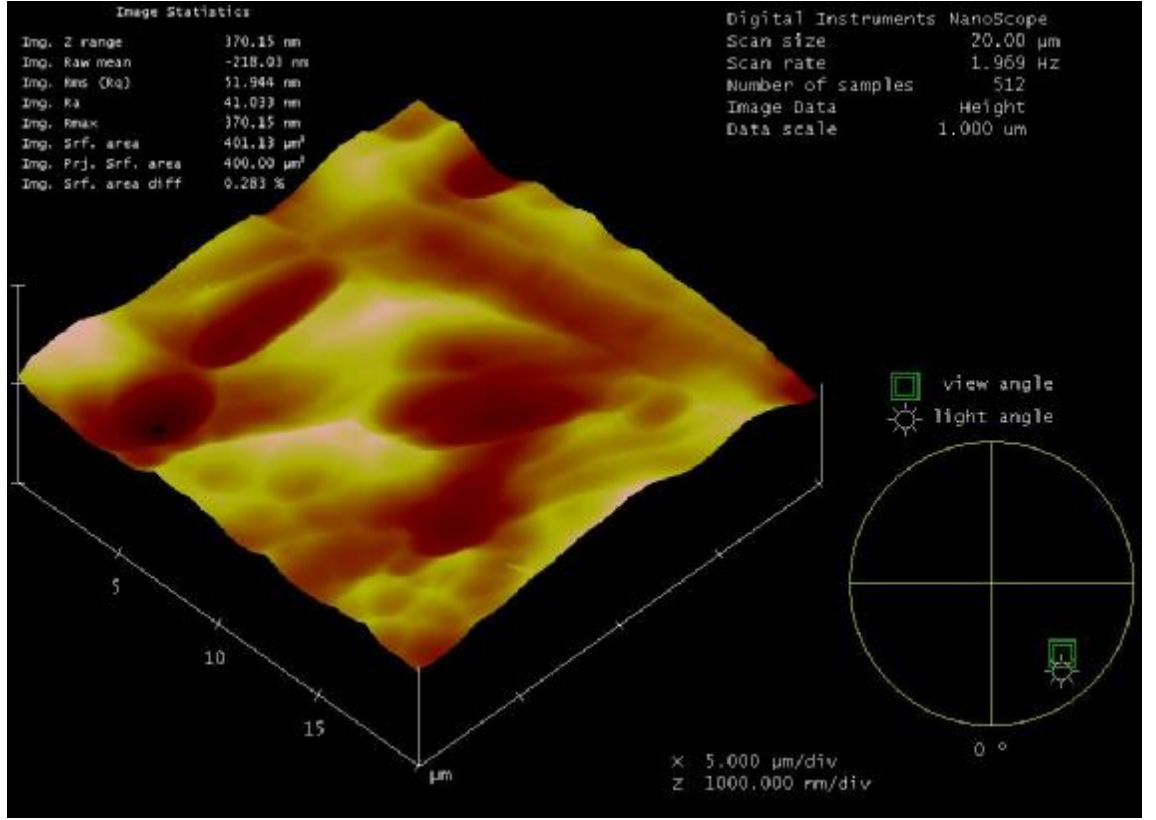
Her bir grubun AFM fotoğrafları ve pürüzlülük analizleri cilalı Ti diskler için Şekil 4.1, TiN kaplı diskler için Şekil 4.2 ve DLC kaplı diskler için Şekil 4.3’te görülmektedir. Cilalı Ti ve TiN kaplı Ti disklerin yüzey topografilerinde benzer düzensiz alanlar görülse de, DLC kaplı disklerde düzenli pürüzsüz alanlar görülmektedir.



Şekil 4.1: Cilalı Ti disk yüzeyinin AFM görüntüsü



Şekil 4.2: TiN kaplı disk yüzeyinin AFM görüntüsü



Şekil 4.3: DLC kaplı disk yüzeyinin AFM görüntüsü

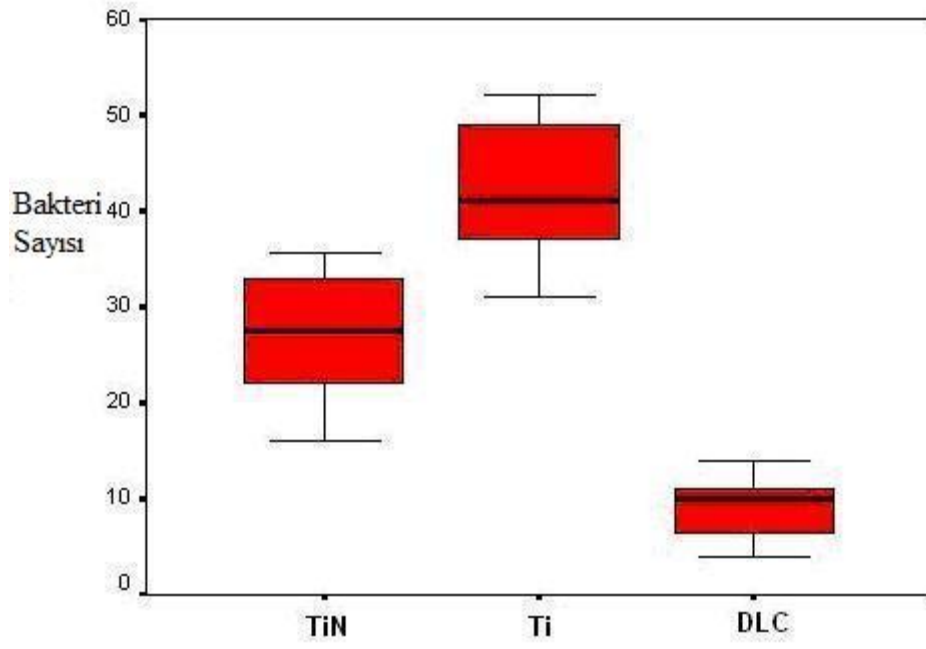
4.1.2 Diskler Üzerine Birikmiş Bakteri Kolonilerinin Değerlendirilmesi

Ti diskler (cılalı Ti, TiN kaplı, DLC kaplı) üzerine yapışmış bakteri kolonilerinin sayısı Çizelge 4.2 de gösterilmektedir. En fazla sayısındaki bakteri kolonisi cılalı Ti diskler üzerinde görülürken (S.mutans: 42,30±7,18, S.sanguis: 54,90±7,81), bunu sonrasında TiN kaplı Ti diskler (S.mutans: 26,66±6,97, S.sanguis: 24,04±3,79) takip etmektedir. DLC kaplı Ti diskler üzerinde en az sayıda bakteri kolonisine (S.mutans: 9,24±3,24, S.sanguis: 9,81±2,91) rastlanılmıştır. Üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. ($p < 0.05$) (Şekil 4.4, Şekil 4.5)

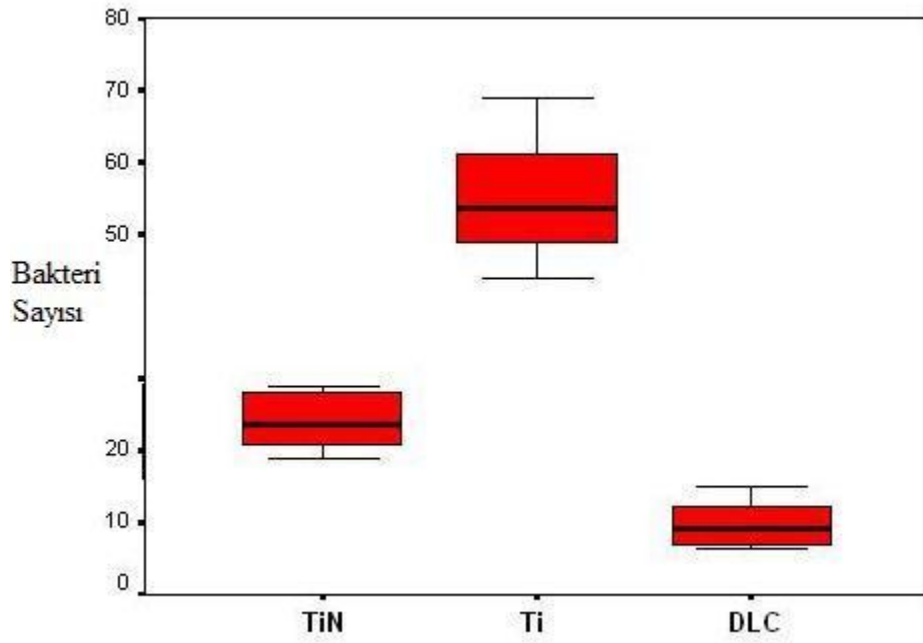
Çizelge 4.2: Titanyum diskler üzerine yapışan bakteri sayısı

Yüzey	St. Mutans	St. Sanguis	Tukey Analizi
TiN	26,66±6,97	24,04±3,79	B
Cılalı Ti	42,30±7,18	54,90±7,81	A*
DLC	9,24±3,24	9,81±2,91	C

* Farklı harfler istatistiksel olarak belirgin farklılığı göstermektedir. ($p < 0.05$)



Şekil 4.4: Diskler üzerinde biriken S.mutans sayısı



Şekil 4.5: Diskler üzerinde biriken S.sanguis sayısı.

4.2. Biyokimyasal Bulgular:

ELISA yöntemi ile yapılan ölçümler sonucunda özellikle TNF- α ile ilgili standart değerlerinin üzerinde anlamlı bir veri elde edilmediğinden, bu inflamatuvar sitokin istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır.

Çizelge 4.3: ELISA ile ölçülmüş MMP-8 ve IL-1 β seviyeleri

Yüzey	MMP-8(med)			IL-1 β (med)		
	3. gün	7.gün	21.gün	3.gün	7.gün	21.gün
CilalıTi	0,231	0	0	1,4	1,1	0,165
TiN	0,169	0,078	0	2,26	1,60	0,19
DLC	0,183	0	0	3,46	1,90	0,75

Çizelge 4.3'te Ti,TiN ve DLC kaplı örneklerin 3., 7.ve 21. günlerdeki MMP-8 ve IL-1 β işaretçi seviyeleri gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre farklı yüzey kaplamalarının, implant çevresi oluk sıvısındaki inflamasyon işaretlerine herhangi bir etki yapmadığı görülmüştür.

Çizelge 4.4: ELISA ile ölçülmüş MMP-8 ve IL-1 β seviyelerinin p değeri tablosu.

Yüzey	MMP-8	IL_1 β
Cilalı Ti	0,033*	0,187
TiN	0,163	0,187
DLC	0,361	0,071

*p<0,05

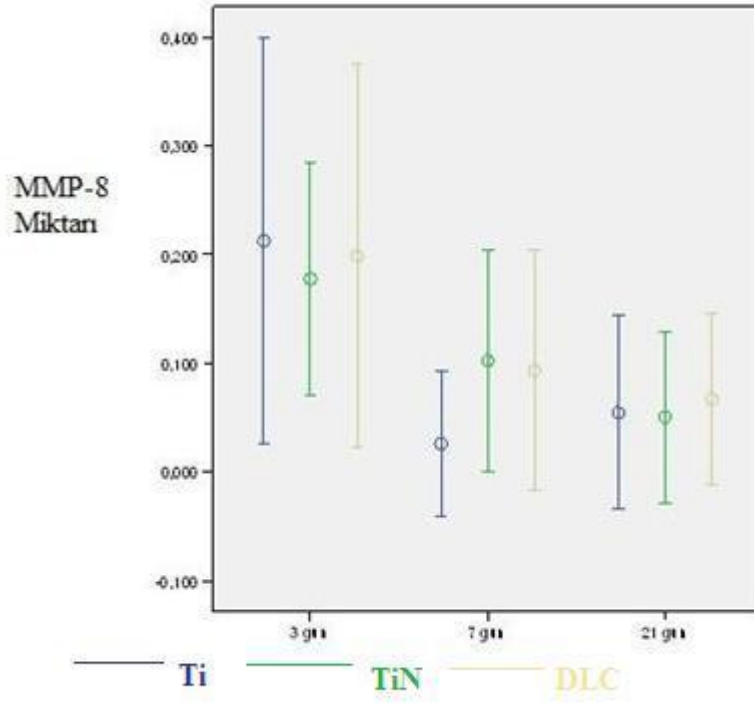
Çizelge 4.4'e göre işaretçiler günden bağımsız olarak, material bazında incelendiğinde Ti örneklerdeki MMP-8 seviyesi istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (p<0,05).

Çizelge 4.5: ELISA ile ölçülmüş MMP-8 ve IL-1 β seviyelerinin p değeri tablosu

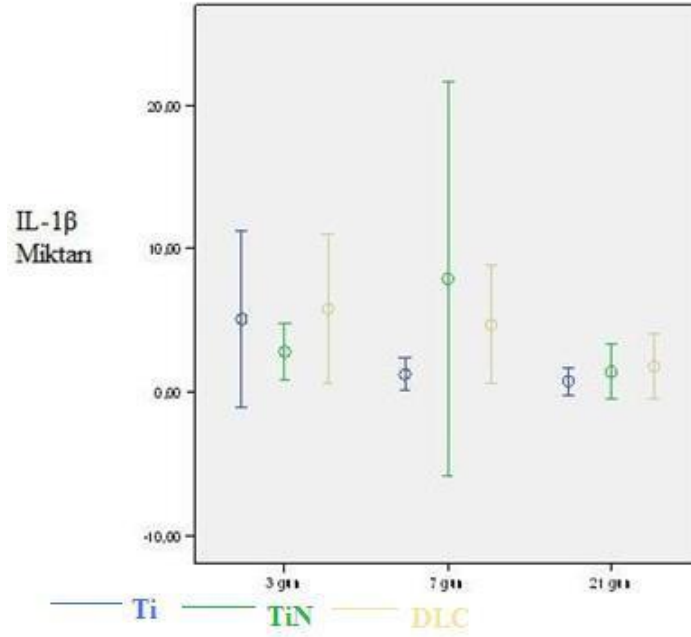
Yüzey	MMP-8	IL_1 β
3-21 gün	0,04*	0,02*

*p<0,05

Çizelge 4.5'de, örnekler materyalden bağımsız 3. ve 21. gün bazında değerlendirildiğinde her iki işaretçide 3. ve 21.günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür(p<0,05)



Şekil 4.6: Günlere ve materyale göre MMP-8 miktarı



Şekil 4.7: Günlere ve materyale göre IL-1β miktarı

5.TARTIŞMA

İmplant destekli restorasyonların uzun dönem klinik ve estetik başarısında, kemik ve implant arasındaki osseoentegrasyonun ve peri-implant yumuşak dokuların uygun şekillenmesinin önemi büyüktür²⁹². Bunlar dışında yumuşak dokunun sağladığı permukozal tıkama da dental implantın başarısı için sağlanması gerekli koşullardan biridir. Permukozal tıkanmanın sağlanmadığı durumlarda, yumuşak doku kemik ve implant ara yüzeyinde apikale doğru ilerler ve implant ve kemik arasındaki direk teması bozan enkapsülasyon dediğimiz olay meydana gelir³⁵.

Yumuşak doku ataçmanın uzun dönem korunması implant transmukozal kısımlarının yüzey özelliklerine ve bu bölgelere yapışan bakteri miktarına bağlıdır. Çalışmamızın ilk kısmında in vitro ortamda, implant transmukozal kısımlarında kullanılacak farklı yüzey kaplamalarının S.mutans ve S.sanguis birikimine olan etkisi incelenmiştir. Daha önce yapılmış çalışmalar, farklı yüzey kaplama materyalleri üzerine yapışan bakteri sayısının azaltılmasında asıl belirleyicilerin, yüzey pürüzlülüğü ve serbest yüzey enerjisi gibi özellikler olduğunu kanıtlamıştır^{21,293,294}. Yoshinari et al²³⁴, iyon implantasyonu, oksidasyon ve iyon kaplama gibi kuru işleme yapılmış yüzey modifikasyonlarının, antibakteriyel aktiviteyi belirgin şekilde artırdığını rapor etmiştir.

Başka bir çalışmada, Ti diskler, sert ve stabil kaplama materyalleri olan TiN ve ZrN ile kaplanmış ve örnekler üzerine yapışan bakteri sayısında azalma olduğu rapor edilmiştir²³⁶. Bizim bulgularımız bu çalışma ile tutarlı sonuçlar vermiştir. Çalışmamızda, S.mutans ve S. Sanguis miktarının TiN ve DLC kaplı diskler üzerinde belirgin derecede azaldığı görülmüştür. Özellikle DLC kaplı diskler en iyi antibakteriyel aktiviteye sahiptir. DLC yüzey kaplamasının antibakteriyel mekanizmasının iki açıklaması olabilir. Birincisi, DLC'nin mükemmel yüzey pürüzsüzlüğü ile bakterilerin yapışmasını ve kolonizasyonunu engellemesidir. İkincisi ise DLC'nin bakterilerin gelişimi için uygun olan reaktif Ti yüzeyleri maskeleyesidir. Pürüzlülük testi bulguları ve AFM görüntüleri, DLC kaplı disklerin cilalı Ti ve TiN kaplı disklerle oranla oldukça pürüzsüz olduğunu göstermiştir. Bugüne kadar, DLC kaplamanın antibakteriyel özelliklerini değerlendiren tek çalışma Katsikogianni tarafından yapılmıştır²⁹⁵. Bu çalışmada, yüzeylerin kimyasal özellikleri ve pürüzlülüğünün bakteriyel adezyonu

oldukça etkilediği ve DLC kaplamanın implante edilmiş tıbbi cihazlardaki bakteriyel adezyonu kuvvetli şekilde inhibe ettiği bulunmuştur.

Ti yüzeylerin bakteri yapışmasına uygun olduğu bilinmektedir. Ti yüzeyinde oluşan oksit tabaka tükürük ile reaksiyona girerek, bakterilerin yapışabildiği pelikül oluşumuna neden olur. Bu yüzden, oksit tabakanın sert kaplama materyalleriyle maskelenmesi, Ti yüzeylere bakteri birikimini azaltmak için iyi bir seçenektir.

Çalışmamızda, TiN kaplı disklerin R_a ve R_{max} değerlerinin, cilalı Ti yüzey değerlerine yakın olduğu bulunmuştur. Bu nedenle TiN kaplı disklerdeki azalmış bakteri miktarının yüzey pürüzlülüğüne bağlı olmadığı, TiN kaplamanın Ti yüzey üzerindeki oksit tabakayı maskeleyen olduğu düşünülebilir. Çalışmamızda kullanılan TiN ve DLC kaplamalar, implant yüzeyinin kimyasal kompozisyonu değiştirerek daha stabil bir tabaka oluşturabilir ve bu tabaka antibakteriyel özellik gösterebilir^{284,293,294}.

DLC kaplamanın mükemmel pürüzsüzlüğünün yanında daha birçok üstün mekanik özelliği vardır^{277,296}. Yüksek sertlik, yüksek aşınma ve korozyon direnci ve düşük sürtünme katsayısı birçok tıbbi uygulamada DLC yi daha popüler hale getirir^{277,280,281,284}. Ayrıca biyouyumlu ve kimyasal olarak stabil bir materyaldir. İmplant materyalleri için doku/kemik teması üzerine yapılan, FDA (U.S. Food and Drug Administration) kuralları ve ISO (International Organization for Standardization) 10993 uluslararası standartlarıyla uyumlu, tüm biyouyumluluk testleri DLC için pozitif sonuçlar vermiştir²⁹⁷. Bu üstün biyolojik ve mekanik özellikleriyle DLC, ortopedik ve kardiyovasküler cerrahide kullanılan parçalarda ve kontakt lens uygulamalarında, kaplama materyali olarak kullanılmaktadır²⁷⁷.

Ortopedide çok sık kullanılan kalça protezleri, eklemde aşınma ve korozyon sonucunda oluşan artıklar nedeniyle oluşan doku inflamasyonu ve osteoliz sonucunda kaybedilebilir. Son dönemde yapılan çalışmalar, mükemmel aşınma direnci ve altındaki materyale iyi şekilde bağlanması nedeniyle DLC kaplamanın ortopedik uygulamalarda tercih edildiğini göstermiştir^{298,299}.

Kardiyovasküler cerrahide restenoz, okluzyon ve stent-ilişkili tromboz stent uygulamalarını büyük oranda sınırlandırmaktadır²⁷⁷. Arter stentlerinde görülen en belirgin yan etkiler metal iyonlarının salınımı ve trombojenitedir. Bu yüzden metalik stentlerin, DLC gibi hematolojik olarak uyumlu, korozyona dirençli ve insan kanında

uzun süre devamlılığını koruyabilen uygun bir biyomateryalle kaplanması gerekmektedir.

Dişhekimliğinde DLC kullanımıyla ilgili ilk çalışma ortodontik tellerin kaplanmasıyla yapılmıştır. Kobayashi et al²⁸¹, ortodontide kullanılan NiTi tellerdeki erozyonu ve oral kaviteye Ni salınımını engellemek için, ortodontik telleri DLC ile kaplamışlardır. Kim et al²⁸⁴ ise çalışmalarında, protetik alt yapı vida gevşemesinde sürtünme ve aşınma faktörlerini değerlendirmiş ve protetik alt yapı vida gevşemesini engellemek için vidaları DLC ile kaplamışlardır. Daha sonra yapılan bir çalışmada De Maeztu et al³⁰⁰, erken protetik yüklemeye izin verecek yeterli kemik miktarının sağlanacağı süreyi kısaltmak için implant yüzeyinde DLC kaplamayı kullanmışlardır.

Ağız içi uygulamalarda TiN kaplamanın bakteri yapışmasını azalttığı rapor edilse de^{7,237}, yüzeyden ayrılma problemi bu kaplamanın kullanımını sınırlandırmaktadır^{32,33}. İmplantın uzun dönem başarısında implantın transmukozal kısımların abrazyon ve aşınma dirençleri büyük önem taşır. Çünkü rutin oral hijyen prosedürleri bu kısımları zedeleyebilir, yüzey özelliklerini değiştirebilir ve bakteri akümülyasyonunu artırabilir. Bununla birlikte, implantların profesyonel profeksi prosedürleri için kullanılan plastik küretler de aşınmaya neden olabilir³⁰¹. Yüksek sertlik, düşük sürtünme katsayısı ve elastisitesi nedeniyle DLC mükemmel şekilde abrazyona dirençli bir materyal haline gelir²⁷⁷. Bununla birlikte, Kobayashi et al²⁸¹ çalışmasının sonuçları, DLC kaplamaların günlük fırçalamayla aşınmadığını ve ortodontik tellere adezyonunun iyi olduğunu göstermiştir. Bu yüzden DLC, bakteri birikimini azaltması yanında, mükemmel abrazyon ve aşınma dirençleriyle implant yüzey problemlerinin üstesinden gelmek için kullanılabilir.

Yüzey pürüzlülüğü açısından da DLC kaplamanın çok avantajlı olduğu görülür. Quirynen et al³⁰², 0.2 µm'den küçük yüzey pürüzlülük değerlerinin mikrobiyal tutunmayı azaltma yönünde ekstra bir avantaj sağlamadığını rapor etmişlerdir. Diğer yandan, Rimondini et al²²⁶, yüzey pürüzlülüğü 0,088 µm'den düşük olduğunda Ti yüzeylerin bakteriyel plak birikimini engellediğini iddia etmektedir. Pier-Francesco et al²¹ ise pürüzlülüğü çok pürüzsüz (R_a 34,57± 5,79 nm), pürüzsüz (R_a 155.00± 33,36 nm), pürüzlü (R_a 233,24 ± 9,86 nm) ve çok pürüzlü (R_a 449,42 ± 32,97 nm) olarak kategorize etmiştir ve yaptıkları in vitro çalışmada çok pürüzsüz yüzeylerde bakteriyel adezyonda belirgin bir azalma olduğunu belirtmiştir. Bununla birlikte, Pier-Francesco et

al.²¹ pürüzlü ve çok pürüzlü yüzeylerle karşılaştığında pürüzsüz yüzeylerde adezyonda artış olduğunu göstermiştir.

Bizim bulgularımız da Rimondini et al²²⁶ ve Pier-Francesco et al²¹ bulgularına uyum gösterir. Çalışmamız, en az bakteri adezyonu görülen DLC kaplamanın ortalama pürüzlülük değerinin yaklaşık 0,04 µm olduğu gösterirken ve TiN kaplı disklerdeki bakteri azalmasının nedeninin alttaki Ti oksit tabakasını maskeleymesi olduğunu düşündürmektedir. Ancak, Quirynen et al³⁰² 0.2 µm lik R_a değerinin epitelyal ataçmanda eşik pürüzlülük değeri olduğunu belirtmişlerdir. Bu eşik değerinden düşük pürüzlülüğün epitelyal doku ataçman problemiyle sonuçlanacağını belirtmişlerdir. DLC açısından buna karar verebilmek için epitelyal ataçmanla ilgili in vivo ve in vitro daha ileri çalışmalar yapılmalıdır.

Çalışmamızın ikinci kısmında, iyileşme başlıkları üzerine kaplanan DLC nin bakteri adezyonunu, bölgedeki enflamasyon riskini ve implant başarısızlıklarını azalacağı düşünülerek, in vivo olarak PİOS'daki bazı inflamatuvar işaretçiler incelenmiştir. PİOS'dan alınan örnekler ELISA yöntemi kullanılarak analiz edilmiş, TiN ve DLC kaplı örneklerdeki inflamatuvar işaretçilerin Ti'dakilere göre istatistiksel olarak fark gösterip göstermediğine bakılmıştır.

Birçok mikrobiyolojik çalışmayla dişler ve implant çevresindeki bakteri florasının benzer olduğu gösterilmişken, PİOS'a ait kesin bilgiler henüz bulunmamaktadır. Periodontal enflamasyon mediatörleriyle ilgili çok geniş çalışmalar yapılmasına karşın implant çevresi dokuların enflamasyonuna yönelik çalışmalar henüz çok fazla değildir. Yapılan çalışmalarda da genellikle periodontal dokulardaki enflamasyondan sorumlu, inflamatuvar sitokinler olan IL-1β ve TNF-α ve konak kaynaklı enzim olan MMP-8 üzerinde durulmuştur.

Daha önce yapılmış, periodontal enflamasyonlara yönelik çalışmalarda dişeti oluşu sıvısı ve PİOS biyokimyasal olarak analiz edilmiş ve inflamasyon varlığında bazı enzim ve sitokinlerde artış olduğu bulunmuştur^{183,206}. Özellikle yapılan birçok klinik ve in vitro çalışmada hastalıklı periodontal ve implant çevresi bölgelerde yüksek konsantrasyonlarda IL-1β bulunduğu görülmüştür^{187,199,207-209}. IL-1β, inflamatuvar durumlarda immün cevabın diğer elemanlarıyla birlikte inflamatuvar reaksiyonları hızlandıracak şekilde lokal olarak salgılanırlar. Ayrıca IL-1β, inflamasyon ve yara iyileşmesi sırasında plazminojen aktivatör sistemin ekstraselüler matriks bozma

aktivitesini³⁰³ ve sert dokularda yıkımın başlamasında major rol oynayan prostoglandin E2 sentezini kontrol eder^{304,305}. TNF- α 'da IL-1 β ile benzer özellikler gösteren ancak periodontitis bölgelerinde daha az rastlanılan bir sitokindir. Bu sitokinler kemik rezorbsiyonunu, prostoglandin sentezini ve proteaz üretimini stimule ederler^{214,215,219}. Bağ doku yıkımının ise spesifik inhibitörlerden çok, tamamen matriks metalloproteinaz kaynaklı olduğuna inanılır^{305,306}. Literatürde erişkin periodontitiste asıl sorumlunun MMP-8, juvenil periodontitiste ise MMP-1 olduğu söylenmektedir^{164,307}. Son dönemde yapılan az sayıdaki çalışma hastalıklı implantlar çevresindeki PIOS' ta kolajenaz aktivitesi ve MMP-8 seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla olduğunu göstermiştir^{13,152,160}.

Çalışmamızda MMP-8, IL-1 β ve TNF- α seviyeleri incelenmiş, 3 farklı yüzeye sahip iyileşme başlıkları çevresindeki PIOS'tan alınan örneklerin inflamatuvar işaretçileri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği bulunmuştur. Bu sonuç bize TiN ve DLC kaplı iyileşme başlıklarının, bugüne kadar enflamasyon açısından altın standart olarak kabul edilen Ti ile benzer özellik gösterdiğinden implantların transmukozal kısımlarında kullanılabileceği fikrini verebilir.

Tüm örnekler materyalden bağımsız sadece gün açısından değerlendirildiğinde ise, MMP-8 seviyesinin 3. günde en yüksek ve IL-1 β seviyesinin 21. günde en düşük olduğu bulunmuştur. 3.günde henüz yara iyileşmesi başlamadığı ve akut enflamasyon varlığı söz konusu olduğu için enflamasyondan sorumlu yıkıcı enzim olan MMP-8 miktarının yüksek olduğu düşünülmüştür. IL-1 β ise hem akut enflamasyonda hem de yara iyileşmesinde görev yaptığı için her iki sürecin de son bulduğu 21. günde IL-1 β miktarının kesin olarak azalması söz konusu olabilir.

Diğer bir bulgumuz da PIOS' da özellikle IL-1 β seviyesinin diğer mediatörlere göre daha fazla arttığı yönündedir. Bu da IL-1 β 'nın yine hem yıkım, hem de yara iyileşmesi süreçlerinde görev aldığını gösterir. Ayrıca her 3 yüzey için PIOS'ta TNF- α miktarında belirgin bir artış olmamıştır. Bu sonuçlar da, daha önce DOS ve PIOS'ta yapılmış çalışmalarla tutarlılık göstermektedir^{187,193,203}.

Ancak unutulmamalıdır ki, implant çevresi hastalıkların ciddiyeti bireylere özgü faktörlere de bağılıdır. Oral hijyenin yanında, alışkanlıklar, tütün kullanımı ve hastanın sistemik medikal durumunun enfeksiyon bölgesindeki lokal immunolojik cevaba etkisi vardır. Bu nedenle hastaların seçimi yapılırken bu durumların göz önünde

bulundurulması sonuçları etkileyebilir. Ayrıca tam dişsiz ve kısmi dişsiz hastaların ağız içi bakteri florası farklılık gösterebileceğinden hasta seçiminde dişsizlik durumu da bir kriter olarak belirlenebilir.

İstatistiksel olarak daha anlamlı sonuçların alınabilmesi için hasta sayısı, ağız içerisine yerleştirilen implant sayısı yani örnek sayısı artırılabilir. Kurutma kağıtlarının PIOS'taki bekletilme süresinin artırılması da daha anlamlı sonuçların alınmasında bir etken olabilir.

Biyolojik ve mekanik özelliklerinin üstünlüğü kanıtlanmış ve günümüzde medikal uygulamalarda kullanılan DLC ile ilgili yaptığımız bu çalışma DLC'nin dental uygulamalarda da kullanılabileceğine dair bir fikir vermektedir. Özellikle mükemmel pürüzsüzlüğü ve Ti yüzeyleri maskeleyen etkisi sayesinde implantın transmukozal kısmındaki bakteriyel adezyonunu azaltabilmesi açısından DLCnin ideal bir materyal olabileceği gösterilmiştir.

Daha önce fakültemizde yapılan bir tez çalışmasında DLC kaplamanın galvanik korozyonu engellediği ve protetik alt yapı yüzeyinin DLC ile kaplanmasının protetik üstyapı parçasının oturma ve uyumuna herhangi bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir³⁰⁸. Bu nedenle özellikle son dönemde piyasaya sürülen ve transmukozal kısımları tamamen protetik alt yapılar üzerinde bulunan kemik seviyesi implantlarda tüm protetik alt yapı yüzeyinin DLC ile kaplanması, korozyonu engellediği gibi bakteriyel adezyonu da azaltacağından, iyi bir kaplama materyali seçeneği olarak düşünülebilir. Bunların yanında düşük maliyeti, DLC kaplama kullanımını daha avantajlı hale getirebilir.

Bu materyalin dental implantlarda kullanılıp kullanılmayacağına yönelik in vivo çalışmalar yapılabilir. Bu in vivo çalışmalarda ağız içerisine yerleştirilen apareyler üzerine Ti, TiN ve DLC kaplı diskler yerleştirilerek diskler üzerindeki bakteri birikimi kontrol edilebilir. Ayrıca transmukozal ataşman oluşumunun değerlendirilmesi için histomorfolojik kesitlerin inceleneceği hayvan çalışmaları da faydalı olabilir.

6.SONUÇ ve ÖNERİLER

- DLC kaplı, TiN kaplı ve cilalı Ti disklerin yüzey topografileri AFM ile karşılaştırıldığında DLC kaplı yüzeyin diğer örneklere göre belirgin derecede pürüzsüz olduğu görülmektedir.
- Düşük yüzey pürüzlülüğüne bağlı olarak DLC kaplı diskler üzerine yapışan S.mutans ve S.sanguis miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görülmektedir.
- DLC kaplı, TiN kaplı ve cilalı Ti iyileşme başlıklarının etrafındaki PİOS'dan alınan örneklerin ELISA ile analizinde inflamasyon işaretçilerinin düzeyinde bir fark olmadığı görülmektedir.

Tüm bu sonuçlar ışığında; daha ileri tetkik ve araştırmaların gerekliliği ile beraber, elmas benzeri karbon kaplamanın başarılı bir şekilde, implant transmukozal parçalarında mikrobiyal adezyonu azaltmak için kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Martinez H, Davarpanah M, Missika P, Celletti R, Lazzara R.** Optimal implant stabilization in low density bone. *Clin Oral Implants Res*, **2001**; 12: 423-432
2. **Molly L.** Bone density and primary stability in implant therapy. *Clin Oral Implants Res*, **2006**; 17:124-135.
3. **Rabel A, Köhler SG, Schmidt-Westhausen AM.** Clinical study on the primary stability of two dental implant systems with resonance frequency analysis. *Clin Oral Invest*, **2007**; 11:257–265.
4. **Berglundh T, Abrahamsson I, Welander M, Lang NP, Lindhe J.** Morphogenesis of the peri-implant mucosa: an experimental study in dogs. *Clin. Oral Impl. Res*, **2007**; 18: 1–8.
5. **Welander M, Abrahamsson I, Berglundh T.** The mucosal barrier at implant abutments of different materials. *Clin. Oral Impl. Res*, **2008**;19: 635–641.
6. **Abrahamsson I, Berglundh T, Glantz PO, Lindhe J.** The mucosal attachment at different abutments. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*, **1998**; 25(9):721-727
7. **Grossner-Schreiber B, Griepentrog M, Haustein I, Muller WD, Lange KP, Briedigkeit H, Gobel UB.** Plaque formation on surface modified dental implants: An in vitro study. *Clin. Oral Impl. Res*, **2001**; 6:543-551.
8. **La'nge K, Herold M, Scheideler L, Geis-Gerstorfer J, Wendel H-P, Gauglitz G.** Investigation of initial pellicle formation on modified titanium dioxide (TiO₂) surfaces by reflectometric interference spectroscopy (RIfS) in a model system. *Dental Materials*, **2004**; 20: 814–822
9. **Rompen E, Raepsaet N, Domken O, Touati B, Van Dooren E.** Soft tissue stability at the facial aspect of gingivally converging abutments in the esthetic zone: a pilot clinical study. *J Prosthet Dent*, **2007**; 97: 119-125.
10. **Schwarz F, Ferrari D, Herten M, Mihatovic I, Wieland M, Sager M, Becker J.** Effects of surface hydrophilicity and microtopography on early stages of soft and hard tissue integration at non-submerged titanium implants: an immunohistochemical study in dogs. *J Periodontol*, **2007**; 78: 2171-2184
11. **Schultze-Mosgau S, Wehrhan F, Wichmann M, Schlegel KA, Holst S, Thorwarth M.** Expression of interleukin 1-beta, transforming growth factor beta-1, and vascular endothelial growth factor in soft tissue over the implant before uncovering. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **2006**;10: 565-571.
12. **Myshin HL, Wiens JP.** Factors affecting soft tissue around dental implants: a review of the literature. *J Prosthet Dent*, **2005**; 94: 440-444. Review.
13. **Apse P, Ellen RP, Overall CM, Zarb GA.** Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osteointegrated dental implant sulcus: A comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients. *J Periodont Res*, **1989**; 24: 96-105.
14. **Branemark PI.** Introduction to osseointegration. In: Tissue integrated prostheses, osseointegration in clinical dentistry. Zarb GA, Albrektsson T, editors. Chicago: Quintessence Publishing Company Inc. **1985**
15. **Santavirta S, Christina A, Konttinen Y.** Proteinases in implant sulcular fluid 307T. Cemented versus cementless hip arthroplasty. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, **1992**; 63: 225-232.

16. **Santavirta S, Sorsa T, Konttinen YT, Saari H, Eskola A, Eisen AZ.** Role of mesenchymal collagenase in the loosening of total hip prosthesis. *Clin Orthop Relat Res*, **1993**; 290: 206-215.
17. **Seymour GJ, Gemmell E, Lenz LJ, Henry P, Bower R, Yamazaki K.** Immunohistologic analysis of the inflammatory infiltrates associated with osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **1989** ; 4:191-198.
18. **Nomura T, Ishii A, Shimizu H, Taguchi N, Yoshie H, Kusakari H, Hara K.** Tissue inhibitor of metalloproteinases-1, matrix metalloproteinases- 1 and -8, and collagenase activity levels in peri-implant crevicular fluid after implantation *Clin Oral Impl Res*, **2000**; 11: 430–440.
19. **Schierano G, Pejrone G, Brusco P, Trombetta A, Martinasso G, Preti G, Canuto RA.** TNF-alpha TGF-beta2 and IL-1beta levels in gingival and peri-implant crevicular fluid before and after de novo plaque accumulation. , **2008**; 35: 532-538.
20. **Plagnat D, Giannopoulou C, Carrel A, Bernard JP, Mombelli A, Belser UC.** Elastase, alpha2-macroglobulin and alkaline phosphatase in crevicular fluid from implants with and without periimplantitis.*Clin Oral Implants Res*, **2002**;13: 227-233.
21. **Pier-Francesco A, Adams RJ, Waters MG, Williams DW.** Titanium surface modification and its effect on the adherence of Porphyromonas gingivalis: an in vitro study. *Clin. Oral Impl. Researc*, **2006**; 6: 633-637.
22. **Grossner-Schreiber B, Neubert A, Müller WD, Hopp M, Griepentrog M, Lange KP.** Fibroblast growth on surface-modified dental implants: an in vitro study. *Journal of Biomedical Materials Research A*, **2003**; 4: 591-599.
23. **Scarano A, Piattelli M, Vrespa G, Caputi S, Piattelli A.** Bacterial adhesion on titanium nitride-coated and uncoated implants: an in vivo human study. *Journal of Oral Implantology*, **2003**; 2: 80-85.
24. **Scheie AA.** Mechanisms of Dental Plaque Formation. *Adv. Dent. Res*,**1994**; 8: 246-253
25. **Rosan B, Lamont RJ.** Dental plaque formation *Microbes and Infection*, **2000**; 2: 1599–1607
26. **Bollen CM, Papaioanno W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, Van Steenberghe D.** The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *Clin Oral Implants Res*, **1996**; 7: 201-211.
27. **Elter C, Heuer W, Demling A, Hannig M, Heidenblut T, Bach FW, Stiesch-Scholz M.** Supra and subgingival biofilm formation on implant abutments with different surface characteristics. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **2008**; 23: 327-334.
28. **Wu-Yuan CD, Eganhouse KJ, Keller JC, Walters KS.** Oral bacterial attachment to titanium surfaces: a scanning electron microscopy study. *Journal of Oral Implantology*, **1995**; 3: 207-213.
29. **Leonhardt A, Dahlen G.** Effect of titanium on selected oral bacterial species in vitro. *Eur J Oral Sci*, **1995**; 103: 382-387.
30. **Pappas MJ, Makris G, Buechel FF.** Titanium nitride ceramic film against polyethylene: a 48 million-cycle wear test. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **1995**; 317: 64–70.
31. **Peterson CD, Hillberry BM, Heck DA.** Component wear of total knee prostheses using Ti-6Al-4V, titanium nitride coated Ti-6Al-4V, and cobalt-chromium-molybdenum femoral components. *Journal of Biomedical Materials Research*, **1988**; 22: 887–903.

32. **Shenhar A, Gotman I, Radin S, Ducheyne P, Gutmanas EY.** Titanium nitride coatings on surgical titanium alloys produced by a powder immersion reaction assisted coating method: residual stresses and fretting behavior. *Surface and Coatings Technology*, **2000**; 126: 210-218.
33. **Starosvetsky D, Gotman I.** Corrosion behavior of titanium nitride coated Ni-Ti shape memory surgical alloy. *Biomaterials*, **2001**; 22: 1853-1859.
34. *The Glossary of Prosthodontic Terms 7th Ed.*, Mosby, *J Prosthet Dent*, **1991**;81(1):65,69,104.
35. **Misch CE.** *Contemporary Implant Dentistry 2nd Ed.*, Michigan: Mosby. **1999**
36. **Van de Velde T, Collaert B, Sennerby L, De Bruyn H.** Effect of Implant Design on Preservation of Marginal Bone in the Mandible. *Clin Implant Dent Relat Res*. **2009** Feb 13.
37. **Baggi L, Cappelloni I, Di Girolamo M, Maceri F, Vairo G.** The influence of implant diameter and length on stress distribution of osseointegrated implants related to crestal bone geometry: a three-dimensional finite element analysis. *J Prosthet Dent*, **2008** ;100: 422-431.
38. **Le Guehennec L, Goyenvalle E, Lopez-Heredia MA, Weiss P, Amouriq Y, Layrolle P.** Histomorphometric analysis of the osseointegration of four different implant surfaces in the femoral epiphyses of rabbits. *Clin Oral Implants Res*, **2008**; 19: 1103-1110.
39. **Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, et al.** Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery. Supplementum*, **1977**; 16: 1–132.
40. **Albrektsson T, Brånemark PI, Hansson HA, Lindström J.** Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, **1981**; 52: 155–170.
41. **Misch CE.** *Dental Implant Prosthetic*. Michigan. Mosby. **2005**.
42. **Brunski JB, Moccia AF Jr, Pollack SR, Korostoff E, Trachtenberg DI.** The influence of functional use of endosseous dental implants on the tissue-implant interface. I. Histological aspects. *Journal of Dental Research*, **1979**; 58:1953–1969.
43. **Traini T, Pecora G, Iezzi G, Piattelli A. J** Preferred collagen fiber orientation human peri-implant bone after a short- and long-term loading period: a case report. *Oral Implantol*, **2006**; 32: 177-181.
44. **Esposito M, Grusovin MG, Martinis E, Coulthard P, Worthington HV.** Interventions for replacing missing teeth: 1- versus 2-stage implant placement. *Cochrane Database Syst Rev*. **2007** Jul 18;(3):CD006698.
45. **Buser DA, Schroeder A, Sutter F, Lang NP.** The new concept of ITI hollow-cylinder and hollow-screw implants: Part 2. Clinical aspects,
46. **Schupbach P, Glauser R.** The defense architecture of the human periimplant mucosa: a histological study. *J Prosthet Dent*, **2008**; 99: 167.
47. www.straumann.com
48. **Lindhe J.** *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 4th Ed. Blackwell Munksgaard. **2003**.
49. **Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liljenberg B, Thomsen P** The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clin Oral Implants Res*, **1991**; 2: 81–90

50. **Schwarz F, Herten M, Sager M, Wieland M, Dard M, Becker J.** Histological and immunohistochemical analysis of initial and early subepithelial connective tissue attachment at chemically modified and conventional SLA® titanium implants. A pilot study in dogs *Clin Oral Invest*, **2007**; 11: 245–255.
51. **Becker J, Kirsch A, Schwarz F, Chatzinikolaidou M, Rothamel D, Lekovic V, Laub M, Jennissen HP** Bone apposition to titanium implants biocoated with recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). A pilot study in dogs. *Clin Oral Invest* **2006**; 10: 217–224
52. **Lindhe J, Berglundh T.** The interface between the mucosa and the implant *Periodontology* **2000**, **1998**; 17: 47-54
53. **Van Drie, H.J.Y., Beertsen, W. & Grevers, A.** *Healing of the gingiva following installment of Biotess implants in beagle dogs.* In: De Putter, C., de Lange, G.L., De Groot, K., & Lee, A.J.C., eds. *Advances in Biomaterials*, Vol. 8, 485–490. Amsterdam: Elsevier Science Publishers. **1988**
54. **Berglundh T, Lindhe J.** Dimension of the peri-implant mucosa. Biological width revisited *J Clin Periodontol*, **1996**; 23: 971-973.
55. www.smile-mag.com
56. **Branemark P-I, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom I, Hallén O, Ohman A.** Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plastic Reconstr Surg Hand Surg*, **1977**; 11: 1-132
57. **Moon IS, Berglundh T, Abrahamsson I, Linder E, Lindhe J.** The barrier between the keratinized mucosa and the dental implant. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*, **1999**; 26: 658-663.
58. **Buser D, Weber HP, Donath K, Fiorellini JP, Paquette DW, Williams RC** Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs. *J Periodontol*, **1992**; 63: 225–235
59. **Abrahamsson I, Berglundh T, Wennstrom J, Lindhe J** The peri-implant hard and soft tissues at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Implants Res*, **1996**; 7: 212–219
60. **Berglundh T, Lindhe J, Jonsson K, Ericsson I** The topography of the vascular systems in the periodontal and periimplant tissues in the dog. *J Clin Periodontol* **1994**; 21: 189–193.
61. **Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Higginbottom FL, Buser D** Biologic width around titanium implants. A histometric analysis of the implant-to-gingival junction around unloaded and loaded nonsubmerged implants in the canine mandible. *J Periodontol* **1997**; 68: 186–198
62. **Gotfredsen K, Rostrup E, Hjorting-Hansen E, Stoltze K, Budtz-Jorgensen E** Histological and histomorphometrical evaluation of tissue reactions adjacent to endosteal implants in monkeys. *Clin Oral Implants Res* **1991**; 2: 30–37
63. **Abrahamsson I, Zitzmann NU, Berglundh T, Linder E, Wennerberg A, Lindhe J:** The mucosal attachment to titanium implants with different surface characteristics: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*, **2002**; 29: 448–455.
64. **Ericsson I, Nilner K, Klinge B, Glantz PO.** Radiographical and histological characteristics of submerged and nonsubmerged titanium implants. An experimental study in the Labrador dog. *Clin Oral Implants Res*, **1996**; 7: 20-26.

65. **Weber HP, Buser D, Donath K, Fiorellini JP, Doppalapudi V, Paquett DW, Williams RC.** Comparison of healed tissues adjacent to submerged and non-submerged titanium dental implants. A histometric study in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*, **1996**; 7: 11-19.
66. www.durimplant.com
67. **Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J.** The mucosal barrier following abutment disconnection. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*, **1997**; 24: 568-572.
68. **Deppe H, Horch HH, Schrödl V, Haczek C, Miethke T.** Effect of 308-nm excimer laser light on peri-implantitis-associated bacteria: an in vitro investigation. *Lasers Med Sci*, **2007**; 22: 223-227
69. **Branemark PI, Zarb GA, Albrektson T.** *Tissue integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry*. Chicago: Quintessence; **1985**.
70. **Carmichael RP, Aspe P, Zarb GA, McCulloch CAG.** *Biological, microbiological and clinical aspects of the peri-implant mucosa*. In: The Branemark Osseointegrated Implant. Chicago: Quintessence **1989**.
71. **Schlegel KA, Eppeneder S, Wiltfang J.** Soft tissue findings above submerged titanium implants—a histological and spectroscopic study. *Biomaterials*, **2002**; 23: 2939-2944.
72. **Bauman GR, Rapley JW, Hallmon WW, Mills M.** The periimplant sulcus. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **1993**; 8: 273-280.
73. **Carmichael RP, McCulloch CA, Zarb GA.** Quantitative immunohistochemical analysis of keratins and desmoplakins in human gingiva and peri-implant mucosa. *J Dent Res*, **1991**; 70: 899-905.
74. **Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P.** Failure patterns of four osseointegrated oral implant systems. *J Mater Sci Mater Med*, **1997**; 8: 843-847.
75. **Jaffin RA, Berman CL.** The excessive loss branemark fixtures in type IV bone: a 5-year analysis. *J Periodontol*, **1991**; 62: 2-4.
76. **Heydenrijk K, Meijer HJ, Van Der Reijden, WA, Raghoobar GM, Vissink A, Stegenga B.** Microbiota around root-form endosseous implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **2002**; 17: 829-838.
77. **Ainamo J, Barmes D, Beagrie G, Cutress T, Martin J, Sardo-Infirri J.** Development of the World Health Organization (WHO) community periodontal index of treatment needs (CPITN). *Int Dent J*, **1982**; 32: 281-291.
78. **DeCarlo A Jr.** *Matrix metalloproteinase activation and induction in keratinocytes by a purified thiol-proteinase from Porphyromonas gingivalis (PhD thesis/dissertation)*. Birmingham, AL: University of Alabama, **1994**
79. **Drake DR, Paul J, Keller JC.** Primary bacterial colonization of implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants*. **1999**, 14:226- 232.
80. **Kesim S, Zortuk M, Kaya E, Özbilge H.** Porphyromonas Gingivalis'in Dental İmplant Üzerine Yapışmasının Scanning Elektron Mikroskop'ta İncelenmesi *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal Of Health Sciences)*, **2007**; 16: 140-144.
81. **Ericsson I, Berglundh T, Marinello CP, Liljenberg B, Lindhe J.** Long standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *Clin Oral Implants Res*, **1992**; 3: 99-103

82. **Pontoriero R, Tonelli MP, Carnevale G, Mombelli A, Nyman S, Lang NP.** Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clin Oral Implants Res*, **1994**; 5: 254-259.
83. **Zitzmann NU, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J.** Experimental peri-implant mucositis in man. *Journal of Clin Periodontology*, **2001**; 28: 517-523.
84. **Hardt C, Gröndahl K, Lekholm U, Wennström J.** Outcome of implant therapy in relation to experienced loss of periodontal bone support. *Clin Oral Implants Res*, **2002**; 13: 488-494
85. **Leonhardt A, Berglundh T, Ericsson I, Dahlen G.** Putative periodontal pathogens on titanium implants and teeth in experimental gingivitis and periodontitis in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*, **1992**; 3: 112-119.
86. **Van Steenberge D, Klinge B, Linden U, Quirynen M, Herrmann I, Gargland C.** Periodontal indices around natural titanium abutments. A longitudinal multicenter study. *Journal of Periodontology*, **1993**; 64: 538-541.
87. **Weyant RJ, Burt BA.** An assessment of survival rates and within patients clustering of failures for endosseous oral implants. *Journal of Dental Research*, **1993**; 72: 2-8.
88. **Weyant RJ.** Characteristics associated with the loss and peri-implant tissue health of endosseous dental implants. *Int Journal of Oral and Maxillofacial Imp*, **1994**; 9: 95-102.
89. **Brägger U, Aeschlimann S, Bürgin W, Hämmerle C, Lang NP.** Biological and technical complications and failures with fixed partial dentures (FPD) on implants and teeth after four to five years of function. *Clin Oral Implants Res*, **2001**; 12: 26-34.
90. **Marinello CP, Berglundh T, Ericsson I, Klinge B, Glantz PO, Lindhe J.** Resolution of ligature-induced periimplantitis lesions in dog. *Journal of Clinical Periodontology*, **1995**; 22: 475-480.
91. **Ericsson I, Persson LG, Berglundh T, Edlund T, Lindhe J.** The effect of antimicrobial therapy on peri-implantitis lesions. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*, **1996**; 7: 320-328.
92. **Persson LG, Ericsson I, Berglundh T, Lindhe J.** Guided bone regeneration in the treatment of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*, **1996**; 7: 366-372
93. **Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J.** Bone reactions at implants subjected to experimental peri-implantitis and static load. An experimental study in the dog IV. *Journal Of Clinical Periodontology*, **2002**; 29: 144-151.
94. **Sanz M, Aladez J, Lazaro P, Calvo JL, Quirynen M, Van Steenberge D.** Histopatologic characteristics of peri-implant soft tissues in Branemark implants with two distinct clinical and radiological patterns. *Clin Oral Implants Res*, **1991**; 2: 128-134.
95. **Piatelli A, Scarano A, Piatelli M.** Histologic observations on 230 retrieved dental implants: 8 year experience (1989-1996) *Journal Of Periodontology*, **1998**; 69: 178-184.
96. **Berglundh T, Gislason Ö, Lekholm U, Sennerby L, Lindhe J.** Some histopatological characteristics of human perimplantitis lesions. *Clin Oral Implants Res*, **2004**; 31: 341-347.
97. **Sbordone L, Bortolaia C.** Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease *Clin Oral Invest*, **2003**; 7: 181-188

98. **Mombelli A.** Microbiology Of The Dental Implant *Adv Dent Res*, **1993**; 7: 202-206
99. **Theilade E, Theilade J.** Formation and ecology of plaque at different locations in the mouth. *Scand J Dent Res*, **1985**; 93: 90-95.
100. **Lekholm U, Adell R, Lindhe J, Rockier B, Lindvall AM, Yoneyama T.** Marginal tissue reaction at osseointegrated titanium implants. II. A cross-sectional retrospective study. *International Journal of Oral Surgery*, **1986**; 15: 53-61.
101. **Mombelli A, Van Osten M, Schurch E, Lang NP** The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiology and Immunology*, **1987**; 1: 145-151.
102. **Haanaes HRJ** Implants and infections with special reference to oral bacteria. *Clin Periodontol*, **1990**; 17: 516-524. Review
103. **Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, Liljenberg B, Marinello C.** Experimental breakdown of periimplant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clinical Oral Implants Research*, **1992**; 3: 9-16.
104. **Marsh PD** Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. *Dent Clin North Am*, **1999**; 43: 599-614
105. **Marshall KC, Stout R, Mitchell R** Mechanism of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. *J Gen Microbiol*, **1971**; 68: 337-348.
106. **Van Loosdrecht MCM, Lyklema J, Norde W, Zehnder AJB.** Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiol Rev*, **1990**; 54: 75-87.
107. **Listgarten MA** Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. *J Periodontol*, **1976**; 47: 1-18
108. **Olsson J, van der Heijde Y, Holmberg K** Plaque formation in vivo and bacterial attachment in vitro on permanently hydrophobic and hydrophilic surfaces. *Caries Res*, **1992**; 26: 428-433
109. **M, Bollen CM** The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol*, **1995**; 22: 1-14
110. **Socransky SS** Microbiology of periodontal disease— present status and future considerations. *J Periodontol*, **1977**; 48: 497-504
111. **Slots J** Microflora in the healthy gingival sulcus in man. *Scand J Dent Res*, **1977**; 85: 247-254.
112. **Busscher HJ, Weerkamp AH, Van der Mei HC, Van Pelt AWJ, De Jong HP, Arends J** Measurements of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion. *Appl Environ Microbiol*, **1984**; 48: 980-983.
113. **Busscher HJ, Uyen MHWJC, Van Pelt AWJ, Weerkamp AH, Arends J.** Kinetics of adhesion of the oral bacterium *S. sanguis* CH3 to polymers with different surface free energies. *Appl Environ Microbiol*, **1986a**; 51: 910-914.
114. **Busscher HJ, Uyen MHWJC, Weerkamp AH, Postma WJ, Arends J.** Reversibility of adhesion of oral streptococci to solids. *FEMS Microbiol Lett*, **1986b**; 35: 303-306.
115. **Uyen HM, Busscher HJ, Weerkamp AH, Arends J.** Surface free energies of oral streptococci and their adhesion to solids. *FEMS Microbiol Lett*, **1985**; 30: 103-106.

116. **Van Pelt AWJ, Weerkamp AH, Uyen HM, Busscher HJ, De Jong HP, Arends J** Adhesion of *Streptococcus sanguis* to polymers with different surface free energies. *Appl Environ Microbiol*, **1985**; 49: 1270-1275.
117. **Pratt-Terpstra IH, Weerkamp AH, Busscher HJ.** On a relation between interfacial free energy-dependent and non-interfacial free energy-dependent adherence of oral streptococci to solid substrata. *Curr Microbiol*, **1988**; 6: 311-313.
118. **Levinson W.** *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmunoloji*. 8. Baskı. Lange Medical Books. Güneş Kitapevi **2006**
119. **Van der Mei HC, Weerkamp AH, Busscher HJ** Physico-chemical surface characteristics and adhesive properties of *Streptococcus salivarius* strains with defined cell surface structures. *FEMS Microbiol Lett*, **1987**; 40: 15-19.
120. **Van der Mei HC, Leonard AJ, Weerkamp AH, Rouxhet PG, Busscher HJ.** Properties of oral streptococci relevant for adherence: Zeta potential, surface free energy and elemental composition. *Coll Surf*, **1988a**; 32: 297-305.
121. **Van der Mei HC, Leonard AJ, Weerkamp AH, Rouxhet PG, Busscher HJ.** Surface properties of *Streptococcus salivarius* HB and non-fibrillar mutants: Measurement of zeta potential and elemental composition by x-ray photoelectron spectroscopy. *Bacteriol*, **1988b**; 170: 2462-2466.
122. **Van der Mei HC, Noordmans J, Busscher HJ.** Molecular surface characterization of oral streptococci by Fourier transform infrared spectroscopy. *Biochem Biophys Acta*, **1989**; 991: 395-398.
123. **Van der Mei HC, De Soet JJ, De Graaff J, Rouxhet PG, Busscher HJ.** Comparison of the physicochemical surface properties of *Streptococcus rattus* with those of other mutans streptococcal species. *Caries Res*, **1991a**; 25: 415-423.
124. **Gristina AG.** Biomaterials-centered infection: microbial adhesion vs tissue integration. *Science*, **1987**; 237: 1588-1597.
125. **Kolenbrander PE, London J** *Ecological significance of coaggregation among oral baceth eria.* In: *Advances in microbial ecology*. 12th Ed. Marshall KC, editor. New York: Plenum Press, **1992**.
126. **Busscher HJ, Van der Mei HC.** Physico- chemical interactions in initial microbial adhesion and relevance for biofilm formation *Adv Dent Res*, **1997**; 11: 24-32.
127. **Ellen RP, Veisman H, Buivids IA, Rosenberg M** Kinetics of lactose-reversible coadhesion of *Actinomyces naeslundii* WVU 398A and *Streptococcus oralis* 34 on the surface of hexadecane droplets. *Oral Microbiol Immunol*, **1994**; 9: 364-371.
128. **Bos R, Van der Mei HC, Meinders JM, Busscher HJ** A quantitative method to study co-adhesion of microorganisms in a parallel plate flow chamber: basic principles of the analysis. / *Microbiol Meth*, **1994**; 20: 289-305.
129. **Bos R, Van der Mei HC, De Vries J, Busscher HJ** The role of physico-chemical and structural surface properties in co-adhesion of microbial pairs in a parallel plate flow chamber. *Coll SurfB: Biointerfaces*, **1996**; 7: 101-112.
130. **Rosenberg E** Microbial surfactants. *CRC Crit Rev Biotechnol*, **1986**; 3: 109-131.
131. **Fletcher M, Lessmann JM, Loeb GI.** Bacterial surface adhesives and biofilm matrix polymers of marine and freshwater bacteria. *Biofouling*, **1991**; 4: 129-140.

132. **Busscher HJ, Bos R, Van der Mei HC.** Initial microbial adhesion is a determinant for the strength of biofilm adhesion. *FEMS Microbiol Lett*, **1995**; 128: 229-234.
133. **Marsh PD, Bradshaw BD, Watson GK, Allison C.** *Community development in a mixed species oral biofilm.* In: *The life and death of biofilm.* Wimpenny J, Handley PS, Gilbert P, Lappin-Scott H, editors. Cardiff: Bioline, **1995**.
134. **Ritz HL** Microbial population shifts in developing human dental plaque. *Arch Oral Biol*, **1967** ; 12: 1561-1568.
135. **Beighton D, Hayday H, Walker J.** The acquisition of *Streptococcus mutans* by infant monkeys (*Macaca fascicularis*) and its relationship to the initiation of dental caries. *J Gen Microbiol*, **1982**; 128: 1881-1892.
136. www.images.google.com.tr
137. **Quirynen M, De Soete M, Dierickx K, van Steenberghe D** The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcome of periodontal therapy. A review of the literature. *J Clin Periodontol*, **2001**; 28: 499–507.
138. **Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C** Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infect Immun*, **1998**; 66: 4729–4732.
139. **Cook GS, Costerton JW, Lamont RJ** Biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis* and *Streptococcus gordonii*. *J Periodontal Res*, **1998**; 33: 323–327.
140. **Lamont RJ, Jenkinson HF** Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*, **1998**; 62: 1244–1263.
141. **Mombelli A, Buser D, Lang NP.** Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. Early results. *Oral Microbiol Immunol*, **1988**; 3: 113-120.
142. **Mombelli A, Meriske-Stern R.** Microbial features of stable osseointegrated implants used as abutments for overdentures. Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. *Clin Oral Implants Res*, **1990**; 1: 1-7
143. **Rams TE, Roberts TW, Tatum H Jr, Keyes PH.** The subgingival microbial flora associated with human dental implants. *J Prosthet Dent*, **1984**; 51: 529-534.
144. **Rams TE, Link CC.** Microbiology of failing dental implants in humans: electron microscopic observations. *Oral Implantol*, **1983**; 11: 93-100.
145. **Trowbridge HO, Emling RC.** *Inflammation. A review of the process.* 5th ed. Chapter 7. Quintessence Publishing **1997**.
146. **Jovanovic SA, Kenney EB, Carranza FA, Donath K.** The regenerative potential of plaque-induced peri-implant bone defects treated by a submerged membrane technique: An experimental study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, **1993**; 8: 13–18.
147. **Listgarten MA, Lang NP, Schroeder A.** Periodontal tissues and their counterparts around endosseous implants. *Clinical Oral Implants Research*, **1991**; 2: 1-19.
148. **Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liejens B, Thomsen P.** The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clinical Oral Implants Research*, **1991**; 2: 81–90.

149. **Listgarten MA, Lang NP, Schroeder HE, Schroeder A.** Periodontal tissues and their counterparts around endosseous implants. *Clinical Oral Implants Research*, **1991**; 2: 1–19.
150. **Tonetti MS, Schmid JH, Hämmerle CH, Lang NP.** Intraepithelial antigen-presenting cells in the keratinized mucosa around teeth and osseointegrated implants. *Clinical Oral Implants Research*, **1993**; 4: 177– 180.
151. **Craig SM, Charles PKJr, Langub MC, Kryscio RJ, Thomas MV.** Salivary biomarkers of existing periodontal disease: A cross-sectional study *J Am Dent Assoc*, **2006**; 137: 322-329
152. **Teronen O, Konttinen YT, Lindqvist C, Salo T, Ingman T, Lauhio A, Ding Y, Santavirta S, Sorsa T.** Human Neutrophil Collagenase MMP-8 in Per-implant Sulcus Fluid and its Inhibition by Clodronate *J Dent Res*, **1997**; 76: 1529-1537
153. **Cimasoni G.** Crevicular fluid updated. *Monogr Oral Sci*, **1983**; 12: 103-123
154. **Brill N.** Gingival conditions related to flow of tissue fluid into gingival pockets. *Acta Odontol Scand*, **1960**; 18: 411-422
155. **Armitage GC.** Clinical evaluation of periodontal diseases. *Periodontol 2000*, **1995**; 7: 39-53. Review.
156. **Armitage GC.** Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontol 2000*, **2004**; 34: 109-119. Review.
157. **Santavirta S, Christina A, Konttinen YT.** Cemented versus cementless hiparthroplasty. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, **1992**; 63: 225-232.
158. **Santavirta S, Sorsa T, Konttinen YT, Saari H, Eskola A, Eisen AZ.** Role of mesenchymal collagenase in the loosening of total hip prosthesis. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **1993**; 290: 206-15
159. **Ataoglu H, Alptekin NO, Haliloglu S, Gursel M, Ataoglu T, Serpek B, Durmus E.** Interleukin-1b, tumor necrosis factor- α levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid *Clin. Oral Impl. Res*, **2002**; 13: 470–476
160. **Ingman T, Kononen M, Konttinen YT, Siirild HS, Suomalainen K, Sorsa T.** CoUagenase. gelatinase and elastase activities in sulcular fluid of osseointegrated implants and natural teeth. *J CUn Periodontol*, **1994**; 21: 301-303
161. **Gangbar S, Overall CM, McCulloch CA, Sodek J** Identification of polymorphonuclear leukocyte collagenase and gelatinase activities in mouthrinse samples: correlation with periodontal disease activity in adult and juvenile periodontitis. *J Periodont Res*, **1990**; 25: 257-267.
162. **Overall CM, Sodek J, McCulloch CA, Birek P.** Evidence for polymorphonuclear leukocyte collagenase and 92- kilodalton gelatinase in gingival crevicular fluid. *Infect Immun*, **1991**; 59: 4687-4692.
163. **Westerlund U, Ingman T, Lukinmaa P-L, Salo T, Kjeldsen L, Borregaard N.** Human neutrophil gelatinase and associated lipocalin in adult and localized juvenile periodontitis. *J Dent Res*, **1996**; 75: 1553-1563.
164. **Sorsa T, Uitto V-J, Suomalainen K, Vauhkonen M, Lindy S.** Comparison of interstitial collagenases from human gingiva, sulcular fluid and polymorphonuclear leukocytes. *J Periodont Res*, **1988**; 23: 386-393.

165. **Sorsa T, Ding Y, Salo T, Lauhio A, Teronen O, Ingman T.** Effects of tetracyclines on neutrophil, gingival, and salivary collagenases. A functional and Western-blot assessment with special reference to their cellular sources in periodontal diseases. *Ann NY Acad Sci*, **1994**; 732: 112-131.
166. **Sorsa T, Lukinmaa P-L, Westerlund U, Ingman T, Ding Y, Tschesche H** The expression, activation, and chemotherapeutic inhibition of matrix metalloproteinase-8 (neutrophil collagenase/collagenase-2) in inflammation. In: Biological mechanisms of tooth eruption, resorption and replacement by implants. Davidovitch Z, editor. Boston, MA: Harvard Society for the Advancement of Orthodontics, **1996**.
167. **Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC.** J Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *Oral Sci*, **2008**; 50: 53-56.
168. **Tonetti MS, Freiburghaus K, Lang NP, Bickel M.** Detection of interleukin-8 and matrix metalloproteinases transcripts in healthy and diseased gingival biopsies by RNA/PCR. *J Periodont Res*, **1993**; 28: 511-513.
169. **Sodek J, Overall CM.** Matrix metalloproteinases in periodontal tissue remodelling. *Matrix Suppl*, **1992**;1: 352-362.
170. **Delaisse JM, Engsig MT, Everts V.** Proteinases in bone resorption: obvious and less obvious roles. *Clin Chim Acta*, **2000**; 291: 223-234.
171. **Woessner JF Jr.** Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J*, **1991**;5: 2145-2154.
172. **Weiss SJ** Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med*, **1989**; 320: 365-376.
173. **Caton JG, Ciancio SG, Blieden TM.** Treatment with subantimicrobial dose doxycycline improves the efficacy of scaling and root planing in patients with adult periodontitis. *J Periodontol*, **2000**; 71: 521-532.
174. **Caton JG, Ciancio SG, Blieden TM.** Subantimicrobial dose doxycycline as an adjunct to scaling and root planing: post-treatment effects. *J Clin Periodontol*, **2001**; 28: 782-9.
175. **Novak MJ, Johns LP, Miller RC, Bradshaw MH.** Adjunctive benefits of subantimicrobial dose doxycycline in the management of severe, generalized, chronic periodontitis. *J Periodontol* **2002**;73(7):762-9.
176. **Preshaw PM, Hefti AF, Novak MJ.** Subantimicrobial dose doxycycline enhances the efficacy of scaling and root planing in chronic periodontitis: a multicenter trial. *J Periodontol* **2004**;75(8):1068-1076.
177. **Golub LM, Siegel K, Ramamurthy NS, Mandel ID.** Some characteristics of collagenase activity in gingival crevicular fluid and its relationship to gingival disease in humans. *Journal of Dental Research*, **1976**; 55: 1049-1057.
178. **Villela B, Cogen RB, Bartolucci AA, Birkedal-Hansen H.** Collagenolytic activity in crevicular fluid from patients with chronic adult periodontitis, localized juvenile periodontitis, and from healthy control subjects. *Jourat of Feriodontal Research* **1987**; 22: 3ii\~3H9.
179. **Ingman T, Sorsa T, Suomalainen K, Halinen S, Lindy O, Lauhio A, Saari H, Konttinen YT, Golub LM.** Tetracycline inhibition and the cellular sources of coliagenase in gingiva! Crevicular fluid in different periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, **1993a**; 64: 82-88.

180. **Sakai T, Gross J** Some properties of the products of reaction of tadpole with collagen. *Biochemistry* . **1964**.
181. **Turto H, Lindy S, Uitto VJ, Wegelius O, Uitto J**. Human leukocyte collagenase: Characterization of enzyme kinetics by a new method. *Analytical Biochemi. Strv*, **1977**; S3: 557-569.
182. **Tatakis DN**. Interleukin-1 and bone metabolism: a review. *J Periodontol*, **1993**; 64: 416-31.
183. **Kornman KS, Crane A, Wang HY**. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*, **1997**; 24: 72-77.
184. **Engebretson SP, Lamster IB, Herrera-Abreu M**. The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *J Periodontol*, **1999**; 70: 567-573.
185. **Delima AJ, Karatzas S, Amar S, Graves DT**. Inflammation and tissue loss caused by periodontal pathogens is reduced by interleukin-1 antagonists. *J Infect Dis*, **2002**; 186: 511-516.
186. **Dayan S, Stashenko P, Niederman R, Kupper TS**. Oral epithelial overexpression of IL-1alpha causes periodontal disease. *J Dent Res*, **2004**; 83: 786-790.
187. **Graves DT, Cochran D**. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, **2003**; 74: 391-401.
188. **Dinarello CA**. Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv Immunol*, **1989**; 44:153-205.
189. **Mizel SB, Dayer JM, Krane SM, Mergenhagen SE**. Stimulation of rheumatoid synovial cell collagenase and prostaglandin production by partially purified lymphocyte-activating factor (interleukin 1). *Proc Natl Acad Sci USA*, **1981**;78: 2474-2477.
190. **Kupper TS**. Mechanisms of cutaneous inflammation: interactions between epidermal cytokines, adhesion molecules, and leukocytes. *Arch Dermatol*, **1989**; 125: 1406-1412.
191. **Larsen CG, Anderson AO, Oppenheim JJ, Matsushima K**. Production of interleukin-8 by human dermal fibroblasts and keratinocytes in response to interleukin-1 or tumour necrosis factor. *Immunology*, **1989**; 68: 31-36.
192. **Meikle MC, Atkinson SJ, Ward RV, Murphy G, Reynolds JJ**. Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin 1: evidence that breakdown is mediated by metalloproteinases. *J Periodont Res*, **1989**; 24: 207-213.
193. **Stashenko P, Dewhirst FE, Peros WJ, Kent RL, Ago JM**. Synergistic interactions between interleukin 1, tumor necrosis factor, and lymphotoxin in bone resorption. *J Immunol*, **1987**; 138: 1464-1468.
194. **Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC**. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res*, **1990**; 2: 156-163.
195. **Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socransky SS**. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol*, **1991**; 62: 504-509.
196. **Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB**. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol*, **2002**; 29: 48-53.

197. **Mogi M, Otogoto J, Ota N, Inagaki H, Minami M, Kojima K.** Interleukin 1 beta, interleukin 6, beta 2-microglobulin, and transforming growth factor-alpha in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Arch Oral Biol*, **1999**; 44: 535-539.
198. **Tsai CC, Ho YP, Chen CC.** Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol*, **1995**; 66: 852-859.
199. **Gonzales JR, Herrmann JM, Boedeker RH, Francz PI, Biesalski H, Meyle J.** Concentration of interleukin-1beta and neutrophil elastase activity in gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J Clin Periodontol*, **2001**; 28: 544-549.
200. **Lee HJ, Kang IK, Chung CP, Choi SM.** The subgingival microflora and gingival crevicular fluid cytokines in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol*, **1995**; 22: 885-890.
201. **Alexander DC, Martin JC, King PJ, Powell JR, Caves J, Cohen ME.** Interleukin-1 beta, prostaglandin E2, and immunoglobulin G subclasses in gingival crevicular fluid in patients undergoing periodontal therapy. *J Periodontol*, **1996**; 67: 755-762.
202. **Graves DT, Delima A, Assuma R., Amar S, Oates T, Cochran D.** Interleukin- 1 and tumor necrosis factor antagonist inhibit the progression of inflammatory cell infiltration toward alveolar bone in experimental periodontitis. *Journal of Periodontology*, **1998**; 69: 1419–1425.
203. **Delima, AJ, Oates T, Assuma R, Schwartz Z, Cochran D, Amar S, Graves DT.** Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, **2001**: 28; 233–240.
204. **Delaleu N, Bickel M.** Interleukin-1b and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontology 2000*, **2004**; 35: 42–52.
205. **Jandinski JJ, Stashenko P, Feder LSI.** Localization of interleukin-1 beta in human periodontal tissue. *J Periodontol*, **1991**; 62: 36-43.
206. **Gemmell E, Seymour GJ.** Cytokine profiles of cells extracted from humans with periodontal diseases. *J Dent Res*, **1998**; 77: 16-26.
207. **Kao RT, Curtis DA, Richards DW, Preble J.** Increased interleukin-1b in the crevicular fluid of diseased implants. *International Journal of Oral Maxillofacial Implants*, **1995**; 10: 696–701.
208. **Panagakos FS, Aboyousef H, Dondero R, Jandinski JJ.** Detection and measurement of inflammatory cytokines in implant crevicular fluid: a pilot study. *International Journal of Oral Maxillofacial Implants*, **1996**; 11: 794–799.
209. **Salcetti JM, Moriarty JD, Cooper LF, Smith FW, Collins JC, Socransky SS, Offembacher S.** The clinical, microbiological and host response characteristics of the failing implant. *International Journal of Oral Maxillofacial Implants*, **1997**; 12: 32–42.
210. **Aboyousef H, Carter C, Jandinski JJ, Panagakos F.** Detection of prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase in implant crevicular fluid. *International Journal of Oral Maxillofacial Implants*, **1998**; 13: 689–696.
211. **Murata M, Tatsumi J, Kato Y, Suda S, Nunokawa Y, Kobayashi Y, Takeda Y, Arakai H, Shin K, Okuda K, Miyata T, Yoshie H.** Osteocalcin, deoxyypyridinoline and interleukin 1b in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clinical Oral Implant Research*, **2002**; 13: 637–643.
212. **Tsalikis L, Parapanisiou E, Bata-Kyrkou A, Polymenides Z, Konstantinidis A.** Crevicular fluid levels of interleukin-1alpha and interleukin-1beta during experimental gingivitis in young and old adults. *Journal of International Academy of Periodontology*, **2002**; 4: 5–11.

213. **Gowen M, Mundy GR.** Actions of recombinant IL-1 IL-2 and interferon-a on bone resorption in vitro. *Journal of Immunology*, **1986**; 136: 2478–2482.
214. **Billingham ME.** Cytokines as inflammatory mediators. *British Medical Bulletin*, **1987**; 43:350–357.
215. **Tatakis DN, Schneeberger G, Dziak R.** Recombinant interleukin-1 stimulates prostaglandin E2 production by osteoblastic cells: synergy with parathyroid hormone. *Calcified Tissue International*, **1988**; 42: 358–362.
216. **Cornelini R, Rubini C, Fioroni M, Bavero G, Strocchi R.** Transforming growth factor-beta 1 expression in the periimplant soft tissues of healthy and failing dental implants. *Journal of Periodontology*, **2003**; 74: 446–450.
217. **Beutler B, Cerami, A.** Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature*, **1986**; 320: 584–588.
218. **Dewhirst FE, Stashenko P, Mole JE, Tsurumachi T.** Purification and partial sequence of human osteoclast activating factor: Identity with interleukin 1b. *Journal of Immunology*, **1985**; 135: 2562–2568.
219. **Lorenzo JA, Sousa SL, Alender C, Raisz LG, Dinarello CA.** Comparison of bone resorbing activity in the supernatants from phytohemagglutinin-stimulated human peripheral blood mononuclear cells with that of cytokines through the use of an antiserum to IL-1. *Endocrinology*, **1987**; 121: 1164–1170.
220. **Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Spahr A, Slaby I.** *Inducing bone growth using extracellular matrix proteins.* In: Ellingsen JE, Lyngstadaas SP, editors. *The Bio-implant Interface; Improving Biomaterials and Tissue Reactions.* Boca Raton: CRC Press LLC, **2003**
221. **Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J.** Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Implants Res*, **1998**; 9: 73-9
222. **Schroeder A, van der Zypen E, Stich H, Sutter F** The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. *J Maxillofac Surg*, **1981**; 9: 15–25
223. **Albrektsson T, Isidor F** Consensus report of session IV. In: Lang, NP, Karring, T (eds) *Proceedings of the first European workshop on periodontology.* Quintessence, London, **1994**
224. **Schwarz F, Bieling K, Bonsmann M, Latz T, Becker J** Nonsurgical treatment of moderate and advanced periimplantitis lesions: a controlled clinical study. *Clin Oral Investig*, **2006**; 10: 279–288.
225. **Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M** Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater*, **1997**; 13: 258–269
226. **Rimondini L, Fare S, Brambilla E, Felloni A, Consonni C, Brossa F, Carrassi A** The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on titanium. *J Periodontol*, **1997**; 68: 556–562
227. **Schwarz F, Sculean A, Romanos G, Herten M, Horn N, Scherbaum W, Becker J** Influence of different treatment approaches on the removal of early plaque biofilms and the viability of SAOS2 osteoblasts grown on titanium implants. *Clin Oral Investig*, **2005**; 9: 111–117

228. **Siegrist BE, Brex MC, Gusberti FA, Joss A, Lang NP** In vivo early human dental plaque formation on different supporting substances. A scanning electron microscopic and bacteriological study. *Clin Oral Implants Res*, **1991**; 2: 38–46
229. **Guy SC, McQuade MJ, Scheidt MJ, McPherson JC, 3rd, Rossmann JA, Van Dyke TE** In vitro attachment of human gingival fibroblasts to endosseous implant materials. *J Periodontol*, **1993**; 64: 542–546
230. **Hormia M, Kononen M** Immunolocalization of fibronectin and vitronectin receptors in human gingival fibroblasts spreading on titanium surfaces. *J Periodontol Res*, **1994**; 29: 146–150
231. **Mustafa K, Silva Lopez B, Hultenby K, Wennerberg A, Arvidson K** Attachment and proliferation of human oral fibroblasts to titanium surfaces blasted with TiO₂ particles. A scanning electron microscopic and histomorphometric analysis. *Clin Oral Implants Res*, **1998**; 9: 195–207
232. **Liljenberg B** Direct bone anchorage of dental implants. *J Prosthet Dent*, **1983**; 50: 255–261
233. **Listgarten MA, Buser D, Steinemann SG, Donath K, Lang NP, Weber HP** Light and transmission electron microscopy of the intact interfaces between non-submerged titanium-coated epoxy resin implants and bone or gingiva. *J Dent Res*, **1992**; 71: 364–371
234. **Yoshinari M, Oda Y, Kato T, Okuda K** Influence of surface modifications to titanium on antibacterial activity in vitro. *Biomaterials*, **2001**; 22: 2043–2048.
235. **Grössner-Schreiber B, Hannig M, Dück A, Griepentrog M, Wenderoth DF**. Do different implant surfaces exposed in the oral cavity of humans show different biofilm compositions and activities? *Eur J Oral Sci*, **2004**; 112: 516–522.
236. **Grössner-Schreiber B, Griepentrog M, Haustein I, Müller WD, Lange KP, Briedigkeit H, Göbel UB**. Plaque formation on surface modified dental implants. An in vitro study. *Clin Oral Implants Res*, **2001**; 12: 543–551.
237. **Scarano A, Piattelli M, Vrespa G, Caputi S, Piattelli A**. Bacterial adhesion on titanium nitride-coated and uncoated implants: an in vivo human study. *J Oral Implantol*, **2003**; 29: 80–85.
238. **Callister J**. *Materials Science and Engineering: an Introduction* 5th Ed., United states of America: John Wiley and Sons, **1999**.
239. **Hosson JD**. “Dutch Reserach Database: Surface and Interface Engineering”, <http://www.onderzoekinformatie.nl/en/oi/nod/onderzoek/OND1300702/>, **2007**.
240. **Ströck, M**. Eight Allotropes of Carbon, [http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Eight Allotropes of Carbon.png](http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Eight_Allotropes_of_Carbon.png), **2006**.
241. **Michler T, Grischke M, Traus I, Bewilogua K, Dimigen H**. DLC Films deposited by bipolar pulsed DC PACVD. *Diamond and Related Materials*, **1998**; 7: 459–462.
242. **Erdemir A, Fenske GR, Terry J, Wilbur P**. Effect of source gas and deposition method on friction and wear performance of diamond like carbon films, *Surface and Coatings Technology*, **1997**; 94–95: 525–530.
243. **Robertson J**. Amorphous Carbon: State of the Art, World Scientific Publishing, Singapore, **1998**: 32–45.
244. **Venables JD, Wernick JH, Angus JC, Bell PM, Cuomo JJ, DeVries RC, Feldman A, Gels MW, Hoover DS, Messier R**. Status and Applications of Diamond and Diamond-Like Materials: An Emerging Technology Report of the Committee on Superhard Materials, **1990**.

245. **Aisenberg S, Chabot R.** Ion beam deposition of thin films of. Diamond-like carbon. *Appl. Phys.*, Vol. 42, p. 2953, **1971**.
246. **Salvadori M, Martins D, Cattani M.** DLC Coating Roughness as a Function of Film Thickness. *Surface and Coatings Technology*, **2006**; 200: 5119– 5122.
247. **Erdemir A, Donnet C.** *Handbook of Modern Tribology, Tribology of diamond, diamond-like carbon, and related films*, CRC Press, **2001**.
248. **Grill A.** Tribology of diamond-like carbon and related materials: an updated review. *Surface and Coatings Technology*, **1997**; 94-95: 507–513.
249. **Thorwarth G, Hammerl C, Kuhn M, Assmann W, Schey B, Stritzker B.** Investigation of DLC synthesized by plasma immersion ion implantation and deposition. *Surface and Coatings Technology*, **2005**; 193: 206.
250. **Donnet C, Fontaine J, Grill A, Le Mogne T.** The role of hydrogen on the friction mechanism of diamond-like carbon films. *Tribology Letters*, **2000**; 9: 3-4.
251. **Donnet C, Grill A.** Friction control of diamond-like carbon coatings. *Surface and Coatings Technology*, **1997**; 94/95: 456–462.
252. **Donnet C.** Recent progress on the tribology of doped diamond-like and carbon alloy coatings: a review. *Surface and Coatings Technology*, **1998**; 100/101: 180–186.
253. **Camino D, Jones A, Mercs D, Teer D.** High performance sputtered carbon coatings for wear resistant applications. *Vacuum*, **1999**; 52: 125–131.
254. **Meneve J, Havermans D, Vercammen K, Haefke H, Gerbig Y, Pflüger E.** Mechanical Properties and Tribological Behaviour of State-of-the-Art Diamond-Like Carbon Coatings. *Advanced Engineering Materials*, **2001**; 3: 163–166.
255. **Chowdhury S, Laugier MT, Rahman IZ.** Effects of substrate temperature on bonding structure and mechanical properties of amorphous carbon film. *Thin Solid Films*, **2004**; 447-448: 174-180.
256. **Sanchez NA, Rincon UC, Zambrano G, Galindo H, Prieto P.** Characterization of diamond-like carbon DLC thin films prepared by r.f. magnetron sputtering. *Thin Solid Films*, **2000**; 373: 247-250.
257. **Libardi J, Grigorov K, Massi M, Otani C, Ravagnani SP, Maciel HS, Guerino M, Ocampo JM.** Comparative studies of the feed gas composition effects on the characteristics of DLC films deposited by magnetron sputtering. *Thin Solid Films*, **2004**; 459: 282-285.
258. **Ueng H, Guo C, Dittrich K.** Development of a hybrid coating process for deposition of diamond-like carbon films on microdrills. *Surface and Coatings Technology*, **2006**; 200: 2900–2908.
259. **Ha P, McKenzie D, Bilek M, Doyle E, McCulloch D, Chu P.** Control of stress and delamination in single and multi-layer carbon thin films prepared by cathodic arc and RF plasma deposition and implantation. *Surface and Coatings Technology*, **2006**; 200: 6405–6408.
260. **Wang D, Chang Y, Chang C, Huang Y.** Deposition of diamond-like carbon films containing metal elements on biomedical Ti alloys. *Surface and Coatings Technology*, **2005**; 200: 2175–2180.

261. **Fan F, Tang W, Liu S, Hei L, Li C, Chen G, Lu F.** An effort to enhance adhesion of diamond coatings to cemented carbide substrates by introducing Si onto the interface. *Surface and Coatings Technology*, **2006**; 200: 6727-6732.
262. **Brendle M, Colin G.** Friction and Traction, The frictional and transfer behaviour of compacted solid lubricants on smooth metallic surfaces, London: Butterworth, **1991**.
263. **Wei Q, Sharma AK, Sankar J, Narayan J.** Mechanical properties of diamond-like carbon composite thin films prepared by pulsed laser deposition, *Composites Part B: Engineering*, **1999**;30: 675-684.
264. **Okpalugo TI, McKenna E, Magee AC, McLaughlin J, Brown NM.** The MTT assays of bovine retinal pericytes and human microvascular endothelial cells on DLC and Si-DLC-coated TCPS. *J Biomed Mater Res A*, **2004**; 71: 201-208.
265. **Kumari TV, Anil Kumar PR, Muraleedharan CV, Bhuvaneshwar GS, Sampeur Y, Derangere F, Suryanarayanan R.** In vitro cytocompatibility studies of Diamond Like Carbon coatings on titanium. *Biomed Mater Eng*, **2002**; 12: 329-338.
266. **LaVan DA, Padera RF, Friedmann TA, Sullivan JP, Langer R, Kohane DS.** In vivo evaluation of tetrahedral amorphous carbon. *Biomaterials*, **2005**; 26: 465-473.
267. **Thompson LA, Law FC, Rushton N, Franks J.** Biocompatibility of diamond-like carbon coating. *Biomaterials*, **1991**; 12: 37.
268. **Allen M, Law F, Rushton N.** The effects of diamond-like carbon coatings on macrophages, fibroblasts and osteoblast-like cells in vitro. *Clin. Mater*, **1994**; 17: 1-10.
269. **Zolynski K, Witkowski P, Kaluzny A, Has Z, Niedzielski P, Mitura S.** Implants with hard carbon layers for application in Pseudoarthrosis femoris sin. Ostitis post fracturam apertam olim factam. *J.Chem. Vapor Depos*, **1996** ;4: 232-239.
270. **Du C, Su XW, Cui FZ, Zhu XD.** Morphological behaviour of osteoblasts on diamond-like carbon coating and amorphous C-N film in organ culture. *Biomaterials*, **1998**; 19: 651-658.
271. **Allen M, Myer B, Rushton N.** In vitro and in vivo investigations into the biocompatibility of diamond-like carbon (DLC) coatings for orthopedic applications. *J.Biomed. Mater. Res*, **2001**; 58: 319-328.
272. **Linder S, Pinkowski W, Aepfelbacher M.** Adhesion, cytoskeletal architecture and activation status of primary human macrophages on a diamond-like carbon coated surface. *Biomaterials*, **2002**; 23: 767-73.
273. **Dowling DP, Kola PV, Donnelly K, Brumitt K, Lloyd L, Eloy R, Therin M, Weill N.** Evaluation of diamond-like carbon coated orthopaedic implants. *Diamond Relat. Mater*, **1997**; 6: 390.
274. **Gril A.** Diamond-like carbon coatings as biocompatible materials—an overview. *Diamond and Related Materials*, **2003**; 12: 166–170
275. **Mohanty M, Anilkumar TV, Mohanan PV, Muraleedharan CV, Bhuvaneshwar GS, Derangere F, Sampeur Y, Suryanarayanan R.** Long term tissue response to titanium coated with diamond like carbon. *Biomolecular Engineering*, **2002**; 9: 125-128.
276. **Dearnaley G, Arps J.** Biomedical applications of diamond-like carbon (DLC) coatings: A review. *Surface and Coatings Technology*, **2005**; 200: 2518–2524.

277. **Roy RK, Lee KR.** Biomedical applications of diamond-like carbon coatings: A review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **2007**; 83: 72-84. Review.
278. **Gutensohn K, Beythien C, Bau J, Fenner T, Grewe P, Koester R, Padmanaban K, Kuehnl P.** In vitro analyses of diamond-like carbon coated stents. Reduction of metal ion release, platelet activation, and thrombogenicity. *Thromb Res*, **2000**; 99: 577-585.
279. **Yang P, Kwok SCH, Chu PK, Leng YX, Chen JY, Wang J, Huang N.** Haemocompatibility of hydrogenated amorphous carbon (a-C:H) films synthesized by plasma immersion ion implantation-deposition. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B*, **2003**; 206: 721-725.
280. **Olborska A, Swider M, Wolowiec R, Niedzielski P, Rylski A, Mitura S.** Diamond-like carbon coatings for biomedical applications. *Diamond and Related Materials*, **1994**; 3: 899-901.
281. **Kobayashi S, Ohgoe Y, Ozeki K, Sato K, Sumiya T, Hirakuri KK, Aoki H.** Diamond-like carbon coatings on orthodontic archwires. *Diamond and Related Materials*, **2005**; 14: 1094-1097
282. **Sleptsov VV, Elinson VM, Simakina NV, Laymin AN, Tsygankov IV, Kivaev AA, Musina AD.** Ophthalmological application of contact lenses modified by means of ionassisted carbon films. *Diamond Related Mater*, **1996**; 5: 483-485.
283. **Elinson VM, Sleptsov VV, Laymin AN, Potraysay VV, Kostuychenko LN, Moussina AD.** Barrier properties of carbon films deposited on polymer-based devices in aggressive environments. *Diamond Related Mater*, **1999**; 8: 2103-2109.
284. **Kim SK, Lee JB, Koak JY, Heo SJ, Lee KR, Cho LR, Lee SS.** An abutment screw loosening study of a Diamond Like Carbon-coated CP titanium implant. *Journal of Oral Rehabilitation*, **2005**; 32: 346-350
285. **Yang P, Kwok SCH, Chu PK, Leng YX, Chen JY, Wang J, Huang N.** Haemocompatibility of hydrogenated amorphous carbon (a-C:H) films synthesized by plasma immersion ion implantation-deposition. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B*, **2003**; 206: 721-725.
286. **Yu LJ, Wang X, Wang XH, Liu XH.** Haemocompatibility of tetrahedral amorphous carbon films. *Surf Coat Technol*, **2000**; 128/129: 484-488.
287. **Nurdin N, Francois P, Moret M, Unal K, Krumeich J, Aronsson BO, Discounts P.** Hemocompatible diamond-like carbon (DLC) surfaces. *Eur Cells Mater*, **2003**; 5: 17-28.
288. **Jones MI, McColl IR, Grant DM, Parker KG, Parker TL.** Haemocompatibility of DLC and TiC-TiN interlayers on titanium. *Diamond Relat Mater*, **1999**; 8: 457-462.
289. **Tither D, Ahmed W, Ahmed E.** Hybrid plasma CVD of diamond like carbon (DLC) at low temperatures. *Journal of Materials Science*, **1997**; 32: 1931-1936.
290. **Koidl P, Wild C, Dischler B, Wagner J, Ramsteiner M.** Plasma Deposition, Properties and Structure of Amorphous Hydrogenated Carbon Films. *Materials science forum*, **1989**; 52/53: 41-70.
291. **Erdemir A, Eryilmaz OL, Fenske G.** Synthesis of diamondlike carbon films with superlow friction and wear properties. *The Journal of Vacuum Science and Technology A*, **2000**; 18: 1987-1992.
292. **Schultze-Mosgau S, Blatz MB, Wehrhan F, Schlegel KA, Thorwart M, Holst S.** Principles and mechanisms of peri-implant soft tissue healing. *Quintessence Int*, **2005**; 36: 759-769.

293. **Mabboux F, Ponsonnet L, Morrier JJ, Jaffrezic N, Barsotti O.** Surface free energy and bacterial retention to saliva-coated dental implant materials-an in vitro study. *Colloids and Surfaces B: Biointerface*, **2004**; 39: 199-205.
294. **Pereni CI, Zhao Q, Liu Y, Abel E.** Surface free energy effect on bacterial retention *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2006**; 48: 143-147.
295. **Katsikogianni M, Spiliopoulou I, Dowling DP, Missirlis YF.** Adhesion of slime producing Staphylococcus epidermidis strains to PVC and diamond-like carbon/silver/fluorinated coatings. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2006**; 17: 679-689.
296. **Huang GF, Lingping Z, Weiqing H, Lihua Z, Shaolu L, Deyi L.** The mechanical performance and anti-corrosion behavior of diamond-like carbon film. *Diamond and Related Materials*, **2003**; 8: 1406-1410.
297. **Brizuela M., Garcia-Luis A, Viviente JL, Braceras I, Onate JI.** Tribological study of lubricious DLC biocompatible coatings. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2002**; 13: 1129-1133.
298. **Lappalainen R, Anttila A, Heinonen H.** Diamond coated total hip replacements. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **1998**; 352: 118-127.
299. **Wimmer MA, Artelt D, Schneider E, Kunze J, Morlock MM, Nassutt R.** Friction and Wear Properties of Metal/Metal Hip Joints. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*, **2001**; 12: 891-896.
300. **De Maeztu MA, Braceras I, Alava JL, Sanchez-Garces MA, Gay-Escoda C.** Histomorphometric study of ion implantation and diamond-like carbon as dental implant surface treatments in beagle dogs. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, **2007**; 2: 273- 279.
301. **Ramaglia L, Di Lauro AE, Morgese F, Squillace A.** Profilometric and standard error of the mean analysis of rough implant surfaces treated with different instrumentations. *Implant Dentistry*, **2006**; 15: 77-82.
302. **Quirynen M, Bollen CM, Papaioannou W, Van Eldere J, Van Steenberghe D.** The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, **1996**; 11: 169-178.
303. **Hannocks MJ, Oliver L, Gabrilove JL, Wilson EL.** Regulation of proteolytic activity in human bone marrow stromal cells by basic fibroblast growth factor, interleukin-1, and transforming growth factor beta. *Blood*, **1992**; 79: 1178-1184
304. **Hurley MM, Fall P, Harrison JR, Petersen DN, Kream BE, Raisz LG.** Effects of transforming growth factor alpha and interleukin-1 on DNA synthesis, collagen synthesis, procollagen mRNA levels, and prostaglandin E2 production in cultured fetal rat calvaria. *J Bone Miner Res*, **1989**; 4: 731-736.
305. **Ransjö M, Marklund M, Persson M, Lerner UH.** Synergistic interactions of bradykinin, thrombin, interleukin 1 and tumor necrosis factor on prostanoid biosynthesis in human periodontal-ligament cells. *Arch Oral Biol*, **1998**; 43: 253-60.
306. **Birkedal-Hansen H.** Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*, **1993** ; 64: 474-484. Review.

307. **Reynolds JJ.** Collagenases and tissue inhibitors of metalloproteinases: a functional balance in tissue degradation. *Oral Dis*, **1996**; 2: 70-76. Review.
308. **Özkömür A.** Elmas Benzeri Karbon Kaplamanın İmplant Üstyapı Parçaları Arası Galvanik Korozyona Etkinliğinin İncelenmesi. Ç.Ü. Dişhekimliği Fakültesi, Doktora Tezi, ADANA **2008**.

8.ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Almanya'da doğdu. İlköğrenimi 1988 yılında Mersin Barbaros İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimini 1996 yılında İçel Mersin Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2001 yılında Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden mezun oldu. 2003 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. Doktora eğitimi süresince Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde klinik ve akademik faaliyetlerde bulundu.