T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PERİODONTAL HASTALIKLARIN TEDAVİSİ AMACIYLA HYALURONİK ASİT VE MELATONİN TABANLI YENİ BİR MALZEME GELİŞTİRİLMESİ

Ayşenur ERTUNÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Programı

Danışman

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK

Aralık, 2019

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PERİODONTAL HASTALIKLARIN TEDAVİSİ AMACIYLA HYALURONİK ASİT VE MELATONİN TABANLI YENİ BİR MALZEME GELİŞTİRİLMESİ

Ayşenur ERTUNÇ tarafından hazırlanan tez çalışması 25.12.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı, Biyomühendislik Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Rabia ÇAKIR KOÇ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Mithat ÇELEBİ, Üye
Yalova Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Periodontal Hastalıkların Tedavisi Amacıyla Hyaluronik Asit ve Melatonin Tabanlı Yeni Bir Malzeme Geliştirilmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Ayşenur ERTUNÇ

Aileme, sevdiklerime

ve

bilime…

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca ilgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, çalışmalarımın şekillenmesinde büyük emeği bulunan, engin bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan, motive edici sözleriyle daima yanımda olan çok değerli danışmanım Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK'a,

Yıldız Teknik Üniversitesi'nin bana kattığı en büyük değerlerden biri olan, başarılı akademik kariyeri ve güzel kişiliğiyle her zaman yanımda olan, desteğini, ilgisini ve sevgisini daima hissettiren çok değerli hocam Dr. Özlem TAVUKÇUOĞLU'na,

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarımın her aşamasında birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli Selim IŞILDAK, Yiğit TANYERİ, Mustafa NİĞDE, Rıdvan YILDIRIM, Özge YILMAZ ve Bekir ALTINDİŞOĞULLARI'na,

Hayatımın her anında yanımda ve verdiğim her kararın arkasında olan sevgili annem Fatma ERTUNÇ'a, sevgili babam Fatih ERTUNÇ'a, canım ablam Merve ERTUNÇ'a, canım kardeşim Melike ERTUNÇ'a ve sevgili arkadaşım Hüseyin Anıl DİBLEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayşenur ERTUNÇ

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ vii

KISALTMA LİSTESİ viii

ŞEKİL LİSTESİ ix

TABLO LİSTESİ xi

ÖZET xii

ABSTRACT xiv

1 GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1

1.2 Tezin Amacı 2

1.3 Hipotez 2

2 GENEL BİLGİLER 3

2.1 Periodontal Hastalıklar 3

2.1.1 Gingivitis 4

2.1.2 Periodontitis 4

2.1.3 Periodontiyumu Etkileyen Diğer Durumlar 5

2.2 Periodontal Hastalıklar İçin Tedavi Yaklaşımları 6

2.2.1 Geleneksel Mekanik Tedavi 6

2.2.2 Antibiyotik Tedavisi 7

2.3 Periodontal Hastalıklarda Lokal İlaç Salım Sistemleri 10

2.3.1 Periodontal Hastalıklarda Lokal İlaç Salım Sistemleri İçin Farmakokinetik Parametreler 11

2.3.2 Periodontal Hastalıklarda Lokal İlaç Salım Sistemlerinin Endikasyonları ve Kontrendikasyonları 12

2.3.3 Periodontal Hastalıklarda Lokal İlaç Salım Sistemlerinin Avantajları ve Dezavantajları 12

2.3.4 Periodontal Hastalıklarda Lokal İlaç Salım Sistemlerinin İdeal Özellikleri 13

2.4 Lokal İlaç Salım Sistemlerinin Sınıflandırılması 14

2.4.1 Lokal İlaç Salım Sistemlerinin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması 14

2.4.2 Lokal İlaç Salım Sistemlerinin Fiziksel Formlarına Göre Sınıflandırılması 14

2.5 Periodontal Hastalıklarda Hyaluronik Asit ve Melatoninin Önemi 17

2.5.1 Periodontal Hastalıklarda Hyaluronik Asitin Önemi 17

2.5.2 Periodontal Hastalıklarda Melatoninin Önemi 18
3 MATERYAL VE YÖNTEM 19
3.1 Kullanılan Materyaller ve Cihazlar 19
3.2 Yöntem 19
3.2.1 Mikropartikül Yapıların Hazırlanması 19
3.2.2 Çift Fazlı Formülasyonların Boş Mikropartiküller ile Hazırlanması 20
3.2.3 Hyaluronik Asit, Melatonin, Tetrasiklin ve Metronidazol Yüklü Çift Fazlı Formülasyonların Hazırlanması 20
4 SONUÇ VE ÖNERİLER 22
4.1 Sonuçlar 22
4.1.1 Hyaluronik Asit, Melatonin, Tetrasiklin ve Metronidazolün Sodyum Karboksimetil Selüloz ile Etkileşimi 22
4.1.2 Jel Yapı ve Solid Hidrojel Partiküllerin Şekil ve Yüzey Morfolojilerinin İncelenmesi 28
4.1.3 *In vitro* Salım Çalışmaları 31
4.1.4 Viskozite Analizleri 44
4.1.5 *In vitro* Antibakteriyel Analizler 44
4.1.6 Formülasyonlarının Enjekte Edilebilirlik Özelliklerinin Ölçülmesi 47
4.2 Bulgular ve Öneriler 48
4.2.1 Hyaluronik Asit, Melatonin, Tetrasiklin ve Metronidazolün Sodyum Karboksimetil Selüloz Polimeri ile Etkileşiminin Değerlendirilmesi 48
4.2.2 Jel Yapı ve Solid Hidrojel Partiküllerin Şekil ve Yüzey Morfolojilerinin Değerlendirilmesi 48
4.2.3 *In vitro* Salım Çalışmalarının Değerlendirilmesi 49
4.2.4 Viskozite Analizlerinin Değerlendirilmesi 51
4.2.5 *In vitro* Antibakteriyel Analizlerin Değerlendirilmesi 51
4.2.6 Formülasyonlarının Enjekte Edilebilirlik Özelliklerinin Değerlendirilmesi 52
Kaynakça 54
Tezden Üretilmiş Yayınlar 57

SİMGE LİSTESİ

Abs	Absorbans
cm^{-1}	Dalga Sayısı
Da	Dalton
g	Gram
h	Saat
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mPa.s	Milipaskal.Saniye
m.w.	Molekül Ağırlığı
MWCO	Molekül Ağırlığı Ayırma Sınırı
nm	Nanometre
R^2	Regresyon Katsayısı
rpm	Devir/Dakika
w/v	Hacimde Ağırlıkça Yüzde
w/w	Ağırlıkça Yüzde
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
λ	Dalga Boyu
^oC	Santigrat
%	Yüzde
%T	Yüzde Geçirgenlik

KISALTMA LİSTESİ

ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
DOS	Diş Eti Oluğu Sıvısı
FTIR-ATR	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre – Zayıflatılmış Toplam Yansıtma
HA	Hyaluronik Asit
MEL	Melatonin
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
min.	Minimum
MZ	Metronidazol
NaCMC	Sodyum Karboksimetil Selüloz
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
T	Tetrasiklin
UV	Ultraviyole

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Periodontal hastalıklar olan gingivitis ve periodontitisin şekilsel gösterimi 4

Şekil 2.2 Periodontal hastalıklar ve çeşitli sistemik durumlar arasındaki ilişki 6

Şekil 2.3 Hyaluronik asitin kimyasal yapısı (D-glukuronik asit, N-asetil-glukozamin 17

Şekil 2.4 Melatoninin kimyasal yapısı (N-asetil-5-metoksi triptamin) 18

Şekil 4.1 MP1 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının FTIR spektrumu 22

Şekil 4.2 MP2 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının FTIR spektrumu 23

Şekil 4.3 MP3 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının FTIR spektrumu 24

Şekil 4.4 MP1 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F1 formülasyonunun FTIR spektrumu 25

Şekil 4.5 MP2 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F2 formülasyonunun FTIR spektrumu 26

Şekil 4.6 MP3 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F3 formülasyonunun FTIR spektrumu 27

Şekil 4.7 HA, MEL, T ve MZ'nin toz formlarının FTIR spektrumu 28

Şekil 4.8 SEM aparatlarına yerleştirilen örnekler 28

Şekil 4.9 MP1 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının SEM görüntüsü 29

Şekil 4.10 MP2 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının SEM görüntüsü 29

Şekil 4.11 MP3 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının SEM görüntüsü 29

Şekil 4.12 MP1 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F1 formülasyonunun SEM görüntüsü 30

Şekil 4.13 MP2 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F2 formülasyonunun SEM görüntüsü 30

Şekil 4.14 MP3 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F3 formülasyonunun SEM görüntüsü 30

Şekil 4.15 MEL standart çözeltilerinin 400-200 nm dalga boyu aralığındaki kalibrasyon spektrumu 32

Şekil 4.16 MEL standart çözeltilerinin 222 nm dalga boyundaki kalibrasyon grafiği ve kalibrasyon denklemi 32

Şekil 4.17 T standart çözeltilerinin 400-200 nm dalga boyu aralığındaki kalibrasyon spektrumu.....33

Şekil 4.18 T standart çözeltilerinin 356 nm dalga boyundaki kalibrasyon grafiği ve kalibrasyon denklemi 33

Şekil 4.19 MZ standart çözeltilerinin 400-200 nm dalga boyu aralığındaki kalibrasyon spektrumu.....34

Şekil 4.20 MZ standart çözeltilerinin 322 nm dalga boyundaki kalibrasyon grafiği ve kalibrasyon denklemi 34

Şekil 4.21 F1 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde T salım oranı.....41

Şekil 4.22 F1 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde MZ salım oranı.....41

Şekil 4.23 F2 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde T salım oranı.....42

Şekil 4.24 F2 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde MZ salım oranı.....42

Şekil 4.25 F3 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde T salım oranı.....43

Şekil 4.26 F3 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde MZ salım oranı.....43

Şekil 4.27 F1, F2 ve F3 formülasyonlarının antibakteriyel analizleri 45

Şekil 4.28 Formülasyonların bakterilere karşı göstermiş oldukları inhibisyon zonlarının grafikle gösterimi 47

Şekil 4.29 Enjekte edilebilir jel görseli.....47

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Tetrasiklin ve metronidazol antibiyotiklerinin periodontopatojenler üzerindeki MİK90 değerleri 8

Tablo 3.1 Üç farklı sitrik asit konsantrasyonunda hazırlanan mikropartikül formülasyonlarının oranları 20

Tablo 3.2 Boş mikropartiküllerin hazırlanma oranları 20

Tablo 3.3 HA, MEL, T ve MZ yüklü formülasyonların hazırlanma oranları 21

Tablo 4.1 F1 formülasyonunun *in vitro* salım takibiyle elde edilen konsantrasyon değerleri 35

Tablo 4.2 F2 formülasyonunun *in vitro* salım takibiyle elde edilen konsantrasyon değerleri 36

Tablo 4.3 F3 formülasyonunun *in vitro* salım takibiyle elde edilen konsantrasyon değerleri 37

Tablo 4.4 F1 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde salım oranları 38

Tablo 4.5 F2 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde salım oranları 39

Tablo 4.6 F3 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde salım oranları 40

Tablo 4.7 F1, F2 ve F3 formülasyonlarına ait viskozite değerleri 44

Tablo 4.8 F1, F2 ve F3 formülasyonlarının antibakteriyel aktivite sonuçları (mm) 46

Tablo 4.9 F1, F2 ve F3 formülasyonlarının antibakteriyel aktivite sonuçlarının standart sapma değerleri (mm) 46

ÖZET

Periodontal Hastalıkların Tedavisi Amacıyla Hyaluronik Asit ve Melatonin Tabanlı Yeni Bir Malzeme Geliştirilmesi

Ayşenur ERTUNÇ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK

Periodontal hastalıklar dünyadaki yetişkin popülasyonunun yaklaşık yüzde 35'ini etkileyen yaygın mikrobiyal enfeksiyonlardan biridir ve diş etinin lokalize iltihabı olan gingivitis ile başlamaktadır. Gingivitis diş ve diş eti üzerinde oluşan mikrobiyal bir biyofilm olan diş plağındaki patojenik bakterilerin oluşturduğu geri dönüşümlü bir hastalıktır. Bu aşamada diş etlerinde kızarıklık, şişlik, kanama ve diş hassasiyeti meydana gelmektedir. Erken dönemde rahatsızlığa sebep olmamakla birlikte tedavi edilmediği durumda ilerleyerek periodontitise dönüşmektedir. Periodontitis diş ve dişleri destekleyen alveolar kemik ve bağ dokularda geri dönüşümsüz hasara neden olmaktadır. Hastalık ilerledikçe öncelikle dişler gevşemekte ve sonrasında diş kayıpları meydana gelmektedir. Periodontal hastalıkların tedavi stratejisi; mikroorganizmaları hedef alan, konak yanıtını modüle eden ve meydana gelen hasarı en aza indiren yaklaşımları içermelidir. Tez çalışmasında; periodontal hastalıkların tedavisini sağlamak amacıyla hyaluronik asit, melatonin, tetrasiklin ve metronidazol karışımını içeren karboksimetil selüloz bazlı lokal salım sistemi geliştirilmesi amaçlanmıştır. Melatonin, esas olarak pineal bezde sentezlenen endojen bir hormondur. Ağız

boşluğu içindeki rolü temel olarak antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle ilişkilidir. Bir glikozaminoglikan olan hyaluronik asit, kemik iyileşmesini uyaran önemli bir bileşiktir. Melatonin ve hyaluronik asit, ağız boşluğunun yumuşak ve sert dokuları üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Tetrasiklin, gram pozitif ve gram negatif organizmalara karşı; metronidazol ise anaerobik bakterilere karşı aktiviteye sahip antibiyotiklerdir. Tetrasiklin ve metronidazol sahip oldukları bu aktiviteler sayesinde periodontal hastalıkların tedavisinde yaygın olarak tercih edilen terapötik ajanlardır. Geliştirilen salım sistemi fiziksel olarak jel formdadır ve solid hidrojel partikülleri içermektedir. Bu çift fazlı formülasyon; hyaluronik asit, melatonin ve terapötik ajan olan antibiyotikleri jel yapıdan ve solid partüküllerden kontrollü olarak salacak şekilde tasarlanmıştır. Tasarlanan lokal salım sisteminin fiziksel ve kimyasal özellikleri FTIR spektroskopisi, SEM analizleri, UV-VIS spektrofotometre ve viskozimetreyle; mikrobiyolojik etkinliği ise antibakteriyel analizlerle değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, tasarlanan lokal salım sisteminde kullanılan bileşenler kendilerine özgü özelliklerini formülasyon içinde de korumaktadır. Bu sayede tasarımın periodontal hastalıkların lokal tedavisini sağlamakta etkili olacağı öngörülmektedir.

Anahtar kelimeler: Periodontal hastalıklar, hyaluronik asit, melatonin, terapötik ajanlar, lokal ilaç salım sistemi

ABSTRACT

Development of a Novel Material for the Treatment of Periodontal Diseases Based on Hyaluronic Acid and Melatonin

Ayşenur ERTUNÇ

Department of Bioengineering

Master of Science Thesis

Advisor: Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK

Periodontal disease is one of the common microbial infections affecting about 35 percent of the world's adult population. Periodontal diseases begins with gingivitis the localized inflammation of the gum. Gingivitis is a reversible disease caused by pathogenic bacteria in the dental plaque, a microbial biofilm formed on the teeth and gums. At the gingivitis stage, gingival redness, swelling, bleeding and tooth sensitivity occurs. Although it does not cause any discomfort in the early period, it progresses to untreated periodontitis. Periodontitis causes irreversible damage to bone and connective tissues that are supporting teeth. As the disease progresses, the teeth loosens first and then tooth losses start to occur. Treatment strategy of periodontal diseases should target for microorganisms such that modulates the host response and reduces the damage as much as possible. In order to provide treatment of periodontal diseases, it is aimed to develop a local delivery system based on carboxymethyl cellulose containing hyaluronic acid, melatonin, tetracycline and metronidazole mixture in the thesis study. Melatonin is an endogenous hormone mainly synthesized in the pineal gland. Its role in the oral

cavity is mainly related to its antioxidant and anti-inflammatory effects. Hyaluronic acid, a glycosaminoglycan, is an important compound that stimulates bone healing. Melatonin and hyaluronic acid have positive effects on the soft and hard tissues of the oral cavity. Tetracycline has activity against gram positive and gram negative organisms; on the other hand metronidazole is an antibiotic with activity against anaerobic bacteria. Tetracycline and metronidazole are widely preferred as therapeutic agents for the treatment of periodontal diseases due to their activities. The developed release system is physically in gel form and contains solid hydrogel particles. This biphasic formulation is designed to release hyaluronic acid, melatonin and therapeutic agent antibiotics from the gel structure and solid particles on a controlled basis. The physical and chemical properties of the designed local delivery system are determined by FTIR spectroscopy, SEM analysis, UV-VIS spectrophotometer and viscometer; microbiological efficacy was evaluated by antibacterial analysis. According to the results obtained, the components used in the designed local delivery system retain their unique properties in the formulation. Thus, it is predicted that the design will be effective in providing local treatment of periodontal diseases.

Key words: Periodontal diseases, hyaluronic acid, melatonin, therapeutic agents, local delivery system

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Periodontal hastalıklar dünyadaki yetişkin popülasyonunun yaklaşık yüzde 35'ini etkileyen yaygın mikrobiyal enfeksiyonlardan biridir. Hastalık süreci diş etinin lokalize iltihabı olan gingivitis ile başlamaktadır. Gingivitis diş ve diş eti üzerinde oluşan diş plağındaki patojenik bakterilerin oluşturduğu geri dönüşümlü bir hastalıktır. Bu aşamada diş etlerinde kızarıklık, şişlik, kanama ve diş hassasiyeti meydana gelmektedir. Erken dönemde rahatsızlığa sebep olmamakla birlikte tedavi edilmediği durumda ilerleyerek periodontitise dönüşmektedir. Periodontitis diş ve dişleri destekleyen alveolar kemik ve bağ dokularda geri dönüşümsüz hasara sebep olmaktadır. Hastalık ilerledikçe öncelikle dişler gevşemekte ve diş kayıpları meydana gelmektedir. Periodontal hastalıkların tedavi stratejisi mikroorganizmaları hedef alan ve konak yanıtını modüle edecek yaklaşımları içermelidir. Tedavide ilk adım geleneksel mekanik tedavi ile diş plağının elimine edilmesidir. Periodontal anatomiye, hastaya ve hekime bağlı çeşitli sınırlamaları olan bu tedavi şeklinin antibiyotik tedavisi ile birleştirilmesi tedavi başarısını büyük ölçüde artırmaktadır. Antibiyotik tedavisi sistemik veya lokal antibiyotik tedavisi olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. Sistemik antibiyotik kullanımı; hastalarda ilaç duyarlılığı, bakteriyel direnç gelişimi, hastalık bölgesinde yetersiz konsantrasyon ve gastrointestinal rahatsızlıklar gibi çeşitli yan etkilere sebep olmaktadır. Sistemik antibiyotik kullanımıyla ortaya çıkan olumsuz etkilerin elimine edilmesi amacıyla lokal antibiyotik kullanımı ön plana çıkmıştır. Lokal antibiyotikler; fiber, strip ve jel gibi çeşitli fiziksel formlarda lokal salım sistemleri olarak tasarlanmaktadır. Etkili bir periodontal tedavi için, antibiyotik cebin derinliğine ulaşmalı ve diş eti oluğu sıvısındaki konsantrasyonu, patojenler için minimum inhibe edici konsantrasyondan daha yüksek olmalıdır. Bilim ve teknolojideki son gelişmeler, periodontal hastalık sorunlarına temel bakış açısı ve

yaklaşımında devrim yaratmıştır. Daha önce periodontal problemlerin her zaman ilerici olduğu ve morbid etkilerinin zaman geçtikçe arttığı varsayılmıştır. Periodontal hastalığın etiyopatogenezinin tam olarak anlaşılması, klinisyenlere ve araştırmacılara, tedavi seçeneklerini genişleten bir dizi tanı aracı ve tekniği sağlamıştır [1,2].

1.2 Tezin Amacı

Tez çalışmasında; hyaluronik asit, melatonin, tetrasiklin ve metronidazol karışımını içeren karboksimetil selüloz bazlı lokal salım sistemi geliştirilmesi amaçlanmıştır. Hastalık bölgesine bir enjektör yardımıyla uygulanabilir formda olan lokal salım sisteminin içeriğindeki hyaluronik asit ve melatonin yumuşak ve sert dokuların yara iyileşmesine yardımcı olmaktadır. Terapötik ajan olarak kullanılan tetrasiklin ve metronidazol antibiyotikleri periodontopatojen mikroorganizmaları inhibe etmektedir. Tasarlanan lokal salım sistemi ile periodontal hastalıkların hızlı ve güvenli bir şekilde tedavi edilmesi öngörülmektedir. Tez çalışmasında bir araya getirilen hyaluronik asit, melatonin, tetrasiklin ve metronidazolün karboksimetil selüloz bazlı iki farklı dozaj formundan salım yaptığı bir başka çalışmanın yapılmamış olması, bu çalışmayı diğerlerinden ayıran özelliktir.

1.3 Hipotez

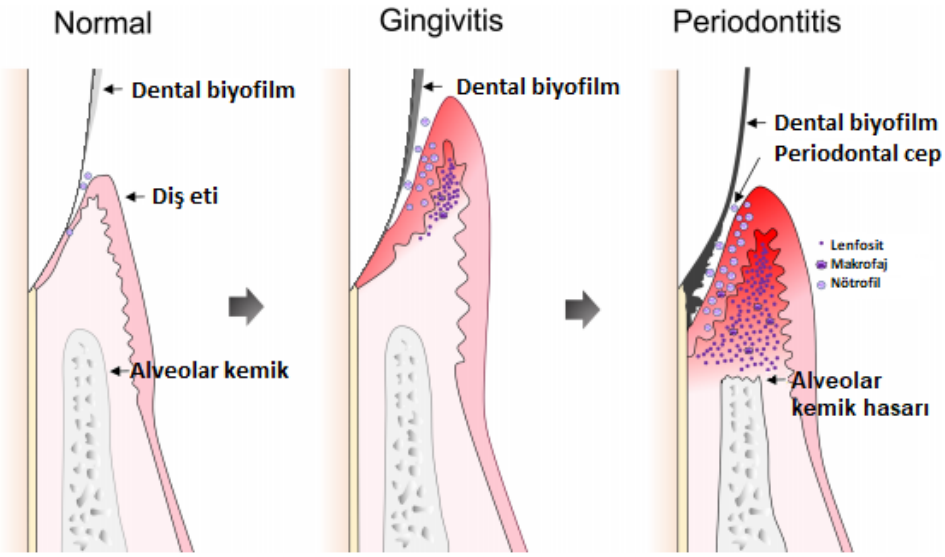
Periodontal hastalıkların tedavisi amacıyla geliştirilen karboksimetil selüloz bazlı formülasyonun; iyileştirici ajan olan hyaluronik asit ve melatonini, terapötik ajan olan tetrasiklin ve metronidazolü hastalık bölgesine jel ve solid fazdan kontrollü salım yapacak şekilde tasarlanması tezin özgün değeridir. Geliştirilen formülasyonun iyileştirici ve terapötik ajanları kontrollü bir şekilde salma ve periodontopatojenleri inhibe etme yeteneğine sahip olması tez çalışmasının hipotezini oluşturmaktadır.

2
GENEL BİLGİLER

2.1 Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalıklar, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde yaygın olan ve popülasyonun yaklaşık %20-50'sini etkileyen küresel bir hastalıktır. Büyüme çağındaki bireyler, erişkinler ve yaşlı bireyler arasında oldukça yaygın olması periodontal hastalıkların halk sağlığı için önemli bir endişe kaynağı olduğunu göstermektedir. Periodontal hastalıklar periodontal ceplerde yaşayan spesifik periodontal patojenlerle ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır. Hastalığa bağlı olarak dişler ve dişleri destekleyen alveolar kemik ve bağ dokuları hasar görmekte ve bu durum kişilerin yaşam kalitesini etkilemektedir. Yetersiz beslenme, diş kaybı, sosyal ve finansal problemler, sigara tüketimi, ağız hijyenine önem verilmemesi, diyabet, çeşitli ilaçların kullanımı, yaş, genetik yatkınlık ve stres gibi çeşitli risk faktörlerinin periodontal hastalıklarla yakından ilgisi olduğu bilinmektedir. *Porfromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Treponema denticola* (*T. denticola*) ve *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) gibi bazı spesifik gram negatif bakteriler hastalığın başlatılmasında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*), *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), *Campylobacter rectus* (*C. rectus*), *Peptostreptococcuss migros* (*P. migros*) ve *Eikenella corrodens* (*E. corrodens*) gibi bakteriler de periodontal hastalıkların oluşumunda baskın tür olarak yer almaktadır. Bu patojenik bakterilerin diş ve dişleri destekleyen kemik ve bağ dokularda kolonileşmesiyle hastalık süreci başlamaktadır. 4-7 gün sonrasında mikrobiyal bir biyofilm olan diş plağı oluşumu ve diş plağındaki bakterilerin diş etinin lokalize iltihabını başlatmasıyla ilerlemektedir. Bu esnada inflamasyon oluşumuna bağlı olarak lezyon bölgesinde lenfosit, makrofaj ve nötrofillerin sayısının arttığı görülmektedir. Hastalık erken dönemde geri dönüşümlü bir hastalık olan gingivitis ile başlamakta ve hastalık

ilerledikçe geri dönüşümsüz tahribatlara neden olan periodontitis meydana gelmektedir (Şekil 2.1) [3,4].



Şekil 2.1 Periodontal hastalıklar olan gingivitis ve periodontitisin şekilsel gösterimi [5]

2.1.1 Gingivitis

Gingivitis, genellikle yetersiz ağız hijyeninin neden olduğu geri dönüşümlü bir periodontal hastalıktır. Erken evrede diş etinde kızarma, parlama, şişlik, yumuşama, kanama ve ağız kokusu ile tanımlanmaktadır. Sonrasında periodontal ceplerde oluşan diş plağı diş etlerinin ayrılmasına neden olmakta, plakta bulunan bakteriler ise diş etini tahriş etmektedir. Tedavisi; diş etrafındaki plağın temizlenmesiyle başlatılmaktadır. Tedavi sonucunda dişin etrafındaki iltihaplı dokular genellikle hızla ve tamamen iyileşmektedir. Kişisel ve profesyonel bakımı içeren destekleyici bir periodontal bakım, inflamasyonun yeniden başlamasının önlenmesinde önemli bir faktördür [6, 7, 8].

2.1.2 Periodontitis

Periodontitis, dişleri ve dişleri destekleyen dokuları önemli ölçüde etkileyen bir dizi inflamatuvar hastalıktır. Hastalık, dişlerin etrafındaki alveolar kemiğin ilerlemeli kaybını içerir ve tedavi edilmezse öncelikle dişlerin gevşemesine sonrasında ise kaybına yol açabilmektedir. Bu süreç, diş eti dokusunu birbirine

bağlayan epitel hücrelerin çoğalmasıyla diş yüzeylerinin ve hücre tabakasının ayrılmasıyla meydana gelmektedir. Daha sonra dişler ve diş eti dokuları arasında periodontal cep adı verilen patojenik diş cebi oluşmaktadır. Bu periodontal cep, mikroorganizmaların çoğalması için ideal koşulları sağlamaktadır. Periodontitise yaklaşık 350 bakterinin sebep olduğu bilinmektedir. Ağız, kanama ihtimalinin oldukça yüksek olduğu bir bölgedir. Buna bağlı olarak periodontitis meydana geldiğinde bakteriyemi riski ve immün komplekslerin sistemik yayılımı çok kolay gerçekleşmektedir. Bu da periodontitisin kardiyovasküler hastalıklar, inme, prematüre ya da düşük kilo ağırlıklı bebek doğumu, üst solunum yolu enfeksiyonları, diyabet ve şişmanlık, eklem iltihabı, renal hastalıklar gibi pek çok sistemik hastalıklarla bir arada görülmesine neden olmaktadır (Şekil 2.2).

Periodontitisin ilerlemesi genel bir çerçevede dört sınıfa ayrılmaktadır. Birinci aşama gingivitis ve periodontitis arasındaki sınır bölgesidir. Erken teşhisle tedavisi kolay olmakla birlikte düşük maliyet gerektirmektedir. İkinci aşama periodontitisin karakteristik belirtilerinin tanımlandığı aşamadır. Diş plağında yer alan bakteriler dişleri destekleyen kemik ve bağ dokularda inflamatuvar yanıta neden olmaktadır. Profesyonel bir tedavi hastalığın ilerlemesini durdurmaktadır. Üçüncü aşama hastalığın kökün orta kısmına kadar uzandığı, kemik ve bağ dokularda ciddi hasarların meydana geldiği aşamadır. Diş etinde şişme ve kanama meydana gelmektedir. Çiğneme işlevi korunmakla birlikte tedavi edilmediği durumda diş kaybı meydana gelmektedir. Dördüncü aşama hastalığın kökün alt kısımlarına kadar uzandığı ve çiğneme işlevi kaybının meydana geldiği aşamadır. Diş etindeki şişlik, kanama, kemik ve bağ dokulardaki tahribat oranı artmaktadır. Bağ ve kemik doku kayıpları nedeniyle dişler gevşemektedir. Gerekli tedavi ile kontrol altına alınmadığı durumda çoklu diş kaybı meydana gelmektedir [5, 9, 10, 11].

2.1.3 Periodontiyumu Etkileyen Diğer Durumlar

Periodontal hastalıkların meydana gelmesini sağlayan pek çok sebep daha bulunmaktadır. Bunlara; periodontal destek dokuları etkileyen sistemik hastalıklar, periodontal apseler ve endodontik periodontal lezyonlar, diş eti şekil bozuklukları, diş ve protezler ile ilgili faktörler örnek olarak verilebilmektedir [12].



Şekil 2.2 Periodontal hastalıklar ve çeşitli sistemik durumlar arasındaki ilişki [3]

2.2 Periodontal Hastalıklar İçin Tedavi Yaklaşımları

2.2.1 Geleneksel Mekanik Tedavi

Geleneksel mekanik tedavi standart olarak ölçeklendirme, kök planlaması, küretaj, kemiksiz ve kemik greftli flep ameliyatı, kök ampütasyonu işlemlerini içermektedir. Geleneksel kök planlaması ve ölçeklendirilmesi, birincil antimikrobiyal ölçü olarak diş yüzeylerinin mekanik debridmanıyla yürütülmektedir. Gingivitis ve periodontitisin önlenmesi; sigara tüketimi, diyabet, genetik yatkınlık, periodontal filmdeki spesifik gram negatif anaerobik bakteri türleri, eğitimsizlik, stres, depresyon gibi çeşitli nedensel ve risk faktörlerinin kontrolüne dayanmaktadır. En yaygın kabul gören risk faktörü, etkili oral hijyen yokluğunda dişlerde oluşan biyofilmdir [9,13 14].

Tüm gingivitis formları risk faktörlerinin azaltılması, ölçekleme ve kök planlaması olarak adlandırılan bir diş hijyen prosedürü ile plak ve taşların diş yüzeylerinden kazınarak uzaklaştırılması, günlük evde bakım ve profesyonel takip ile kolaylıkla tedavi edilmektedir. Tüm ağız hijyeni prosedürleri kesildikten sonra, biyofilm 24

saat içinde dişlerde gelişmeye başlamakta ve 10-21 gün içinde diş eti iltihabına neden olmaktadır. Düzenli diş temizliği ile diş eti yaklaşık 1 hafta içinde sağlıklı bir duruma getirilmektedir. Profesyonel olarak uygulanan oral hijyen ile periodontal biyofilmin kontrolü, periodontitis ve diş kaybını yıllarca durdurabilmektedir. Mekanik tedavi hastaların sağlıklarına geri dönmelerinde etkili olsa da elde edilen klinik gelişme kısa süreli olabilmektedir. Bu nedenle tedavinin sık sık tekrarlanması nüksü önleme açısından gerekli görülmektedir. Bu da hem hasta hem hekim için pahalı, uzun ve yorucu olmakla birlikte zaman kayıplarına neden olmaktadır. Hastalığın nüksü yetersiz ev bakımı nedeniyle patojen bakterilerin yeniden üremesi ya da daha önce yetersiz elimine edilmesinden kaynaklı olabilmektedir. Bu sebeple mekanik tedaviyle birlikte antimiktobiyal ajanların kullanım gerekliliği ortaya çıkmıştır [15, 16].

2.2.2 Antibiyotik Tedavisi

Periodontal hastalıkların tedavisinde öncelikle spesifik patojenik bakterilerin elimine edilmesi ve ardından doğal mikrobiyotanın kolonizasyonunun yeniden sağlanması amaçlanmaktadır. Geleneksel mekanik tedavinin, periodontal anatomiye, hastaya ve hekime bağlı çeşitli sınırlamaları bulunmaktadır. Derin ve dar periodontal ceplerin varlığı, diş ve kök anatomisi geleneksel periodontal tedaviyi güçleştirerek mekanik tedavinin etkinliğini azaltmaktadır. Bunun yanında hastanın ağız bakımı becerisi ve hekimin deneyimi gibi faktörler de tedaviyi büyük oranda etkilemektedir. *Aggregatibacter actinomycetemcommitans* (*A. actinomycetemcommitans*)'ın bağ dokulara, *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*)'nın ise periodontal cep epitel hücrelerine invaze olabilmesi ve ağız mukozası ve dil üzerinde bulunan biyofilm tabakasının rezervuar oluşturması nedeniyle mekanik periodontal tedaviye ek olarak antibiyotik tedavisi ortaya çıkmıştır. Periodontal hastalıkların geleneksel tedavisine yardımcı olacak antimikrobiyal ajanların periodontal ceplere ulaşması için sistemik uygulama, yıkama, sürekli ve kontrollü lokal salım sistemleri gibi pek çok uygulama yöntemi üzerinde çalışılmıştır. Bir antibiyotiğin periodontal tedavide etkili olması için diş eti içine iyice nüfuz etmesi ve diş eti oluğu sıvısındaki (DOS) minimum inhibe edici

konsantrasyonlarının (MİK) spesifik patojenik bakterileri elimine edecek kadar yüksek olması gerekmektedir.

Periodontal hastalıkların tedavisi amacıyla tetrasiklin, minosiklin, doksisiklin, eritromisin, klindamisin, ampisilin, amoksisilin ve metronidazol antibiyotikleri kapsamlı bir şekilde test edilmiştir. Antibiyotik seçiminde antibiyotiğin diş eti oluğu sıvısındaki konsantrasyonu ve minimumum inhibitör konsantrasyonu göz önünde bulundurulması gereken faktörlerdir. Diş eti oluğu sıvısı; antibiyotik tedavisi sonrasında antibiyotiğin periodontal cepteki konsantrasyonu hakkında bilgi sağlamaktadır. Minimum inhibitör konsantrasyonu ise spesifik periodontal patojenlerin periodontal cepte büyümesini inhibe edecek antibiyotik konsantrasyonunun *in vitro* belirlenmesini sağlamaktadır. Tedavi bölgesindeki bakterilerin %90'ının büyümesini inhibe edecek konsantrasyon MİK90 olarak ifade edilmektedir. Sonuç olarak, uygulanacak tedavi için antimikrobiyal aktivite DOS ve MİK90 arasındaki ilişki olarak tanımlanmaktadır. Bu tanım her bir antibiyotik ve her bir organizma için yüzde olarak ifade edildiğinde; 100(DOS/MİK90) değeri antimikrobiyal aktivite oranına karşılık gelmektedir [17, 18].

Tablo 2.1 Tetrasiklin ve metronidazol antibiyotiklerinin periodontopatojenler üzerindeki MİK90 değerleri [19]

Tetrasiklin/Patojen	**MİK90 (µg/ml)**	**Metronidazol/Patojen**	**MİK90 (µg/ml)**
A. actinomycetemcomitans	1,5	*A. actinomycetemcomitans*	96
P. gingivalis	0,25	*P. gingivalis*	<0,016
P. intermedia	4	*P. intermedia*	0,25
F. nucleatum	0,19	*F. nucleatum*	0,023
P. micra	0,125	*P. micra*	0,023

2.2.2.1 Sistemik Antibiyotik Tedavi

Mekanik tedaviyle periodontal patojenlerin tümüyle elimine edilememesi farklı tedavi arayışlarına sebep olmuştur. Derin periodontal ceplerin varlığında, periodontal patojenlerin elimine edilmesi için mekanik periodontal tedavi sistemik antibiyotiklerle desteklenmiştir. Periodontal hastalıkların tedavisinde sistemik antibiyotik kullanımı diş eti oluğu sıvısında uygun miktarda derişim elde etmek için yüksek dozlara ihtiyaç duyulması, bakterilerin hızlı bir direnç göstermesi ve ilaçların yan etkileri sebebiyle sınırlı bir uygulamadır.

Sistemik antibiyotik kullanımının avantajları:

- Sistemik antibiyotikler derin periodontal ceplerin dibindeki periodontal patojenlere kan serumu yoluyla kolayca ulaşabilmektedir.
- Bağ dokuda bulundukları için tüm doku istilacılarını etkilemektedir.
- Birden fazla bölgeyi aynı anda tedavi etmektedir.
- Daha az zaman alıcıdır.
- Birçok antibiyotik tek bir dozla tek seferde kullanılabilmektedir.
- Ucuzdur.

Sistemik antibiyotik kullanımının dezavantajları:

- Sistemik antibiyotik uygulanmasıyla bakteriler direnç kazanabilmektedir.
- Hastalarda alerjik reaksiyon gelişebilmektedir.
- İlacın diş eti oluğu sıvısında yeterli süre muhafaza edilememesi sonucu yetersiz konsantrasyon meydana gelebilmektedir.
- Diş eti oluğu sıvısında etkili bir ilaç konsantrasyonunun sağlanabilmesi ve bu konsantrasyonun korunabilmesi için ilacın yüksek dozlarda verilmesi gerekmektedir. Bu durum hastalarda bulantı, kusma ve gastrointestinal rahatsızlıklar gibi çeşitli yan etkilere neden olabilmektedir [18, 20, 21].

2.2.2.2 Lokal Antibiyotik Tedavi

Antibiyotiklerin periodontal cebe lokal olarak uygulanmaları hem etki bölgesinde doğrudan ilaç konsantrasyonunun arttırılması hem de gastrointestinal şikayetler, depresyon, taşikardi gibi sistemik yan etkilerin önlenmesi açısından oldukça avantajlı bir uygulama yöntemidir. Antimikrobiyal ajanların periodontal cepler

içine kontrollü bir şekilde verilmesi periodontal hastalıkların klinik belirtilerini azaltmada başarılı olmuştur.

Lokal antibiyotik kullanımının avantajları:

- Yüksek hasta uyumluluğuna sahiptir.
- Uygulanan toplam ilaç dozajı düşüktür.
- Bakterilerin direnç geliştirme riski yoktur.
- İlaç hastalık bölgesinde yeterli konsantrasyona sahiptir.
- İlaç hastalık bölgesindeki konsantrasyonunu yeterli süre korumaktadır.
- Yan etkileri azdır.

Lokal antibiyotik kullanımının dezavantajları:

- Zaman alıcı, zahmetli ve yüksek maliyetlidir.
- Antimikrobiyal ajanın terapötik konsantrasyonunun daha derin periodontal ceplerdeki lezyonlara yerleştirilmesi zordur.
- Hastalar lokal antibiyotik tedavisini evde kendi kendine bakım prosedürü olarak uygulayamazlar [20].

2.3 Periodontal Hastalıklarda Lokal İlaç Salım Sistemleri

Periodontal hastalıklara yönelik terapötik yaklaşımlar, öncelikle periodontal patojenleri hedefleyen, sonrasında ise bu periodontal patojenlerin periodontal ceplerden elimine edilmesini sağlayan bir etkinliğe sahip olmalıdır. Mekanik periodontal tedavinin başarısı, hekimin uyguladığı ölçeklendirme ve kök planlama tedavilerinin yanında hastanın günlük plak kontrolünün performansı ile yakından ilgilidir. Sistemik antibiyotik tedavisi, tekrarlayan periodontal hastalıkların tedavisinde faydalı olmakla birlikte hastalık bölgesindeki konsantrasyonların elde edilmesi için gereken doz yan etkilerle ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle periodontal hastalıkların güvenli ve yan etkisiz tedavisini sağlamak amacıyla lokal ilaç taşıma sistemleri geliştirilmiştir. Periodontal hastalıklarda lokal ilaç taşıma sistemleri; ilacın bir taşıyıcıdan salınması ve periodontal cep boyunca dağıtılması prensibine dayanan bir tedavi yöntemidir. Burada periodontal cep, lokal ilaç taşıma sisteminden ilacın salımı için doğal bir tedavi alanı olarak görev yapmaktadır. Bir antibakteriyel maddenin periodontal cebe lokal ilaç taşıma

sistemi içerisinde verilmesindeki amaç; ilacın istenilen süre ve konsantrasyonda hastalık bölgesinde kalmasını sağlamaktır. Lokal ilaç taşıma sistemiyle antibakteriyel madde kök yüzeyi ile doğrudan temas halinde kalmaktadır. Böylece mekanik tedavi yöntemiyle ulaşılamayan periodontal patojenler kolayca ortamdan elimine edilmektedir [22].

2.3.1 Periodontal Hastalıklarda Lokal İlaç Salım Sistemleri İçin Farmakokinetik Parametreler

Lokal ilaç taşıma sistemi ile taşınması tasarlanan bir antimikrobiyal ajanın formakolojik hedeflerine ulaşması üç farmakokinetik parametreye bağlıdır. Bunlar; etki bölgesi, yeterli konsantrasyon ve yeterli etki süresidir. Periodontal ceplerde kullanım için tasarlanan bir lokal ilaç taşıma sistemi bakterileri hedeflemektedir. Ancak periodontal cebin anatomik yapısı sebebiyle ilacın istenilen yere yerleştirilmesinde fiziksel zorluklar ortaya çıkabilmektedir. Bu durum bir kanül veya başka bir cihaz yardımıyla ilacın solüsyon olarak bölgeye verilmesiyle aşılmaktadır. Antimikrobiyal ajanların minimum inhibe edici konsantrasyonları, planktonik koşullar altında yetişen bakterilerden en az 50 kat daha yüksektir. Bu nedenle, lokal bölgede yeterli ilaç konsantrasyonunun muhafaza edilmesi gerekmektedir. Ayrıca, antimikrobiyal bir maddenin hedeflenen mikroorganizmalara karşı etki etmesi için yeterli bir ilaç-mikrobiyal temas süresi sağlanmalıdır. Optimal ilaç iletimi için önemli kabul edilen ve arzu edilen diğer faktörler periodontal klirens ve güvenilirliktir. Periodontal cepteki bir farmakolojik ajanın beklenen yarı ömrü yaklaşık bir dakika olduğundan, bu yüksek klirens oranı, cebin içindeki antimikrobiyal ajanın etkin konsantrasyonlarının korunmasındaki ana engeldir. Bu nedenle, diş eti oluğu sıvısının sirkülasyonu nedeniyle ilacın sürekli kaybını önlemek için ilacı zamanla serbest bırakabilen bir hazne gereklidir. İlaç taşıma sisteminde ilacın salımını yapan bu haznenin seçimi ve tasarımı bir antimikrobiyal ajanın periodontal cebe yerleştirilmeden önce başarılması gereken en önemli husustur [22].

2.3.2 Periodontal Hastalıklarda Lokal İlaç Salım Sistemlerinin Endikasyonları ve Kontrendikasyonları

Periodontal hastalıklarda lokal ilaç taşıma sistemlerinin aşağıdaki durumlarda kullanılması avantajlıdır:

- Ölçekleme ve kök planlaması için erişimin zor olduğu uygulamalar
- Tekrarlanan ölçeklendirme ve kök planlamasına cevap vermeyen derin cepler
- Cerrahi tedavi uygulamasının hastalar için tıbbi açıdan tehlikeli olduğu durumlar
- Geleneksel mekanik tedaviye ek olarak planlanan uygulamalar

Periodontal hastalıklarda lokal ilaç taşıma sistemleri aşağıdaki durumlarda kullanılmamalıdır:

- Hastaların lokal ilaç taşıma sisteminde kullanılan herhangi bir bileşene alerjisi varsa
- Kullanılan ilacın fetüs ya da bebek üzerinde zararlı bir etkiye sahip olduğu biliniyorsa
- Birden fazla periodontal hastalığa sahip periodontal cepler mevcutsa
- Hastalığı yok etmek için sistemik antibiyotik gerektirebilecek agresif periodontitis formu mevcutsa [22].

2.3.3 Periodontal Hastalıklarda Lokal İlaç Salım Sistemlerinin Avantajları ve Dezavantajları

Lokal ilaç taşıma sistemleri istenilen etkinin herhangi bir yan etkiye neden olmadan gerçekleştirilmesi için yeterince uzun süre muhafaza edilebilen etkili bir konsantrasyonda ilaç sağlamaktadır. Periodontal cepteki sistemik bir tedaviyle karşılaştırıldığında 100 kat daha yüksek bir antimikrobiyal madde konsantrasyonu elde edilebilmektedir. Bu tedavi sistemik olarak kullanıma uygun olmayan klorheksidin gibi geniş spektrumlu çeşitli antiseptik çözeltilerin kullanılması için uygun bir yöntemdir. Süper enfeksiyon ve bakteriyel direnç nadir olarak görülmektedir. Evde öz bakım prosedürünün bir parçası olarak günlük ilaçların periodontal ceplere yerleştirilme potansiyelleri uyumlu bir hasta tarafından

gerçekleştirilebilir. Lokal ilaç taşıma sistemleriyle antibiyotik tedavisi, vajinal süper enfeksiyonlar için eğilimi olan kadınların tedavisi için ve sistemik uygulamaların sebep olabileceği yan etkiler için bir alternatif sağlamaktadır [22].

Periodontal cebe uygulanan lokal ilaç taşıma sistemlerinin avantajları şunlardır:

- Hedef hastalıklara doğrudan erişim sağlanır.
- Hasta uyumunu iyileştirilir.
- Oral ilaca bağlı gastrointestinal sistem ile ilgili sorunlar ortadan kalkar.
- Karaciğer tarafından ilk geçiş metabolizması atlanır.
- İlacın terapötik etkinliği iyileştirilir.
- İlaç yutamayan hastalar için güvenli bir tedavidir.
- İlaç yönetimi daha güvenlidir.
- Daha uzun etki süresi elde edilir.
- İnvaziv olmayan, ağrısız ve basit bir uygulamadır.

Periodontal cebe uygulanan lokal ilaç taşıma sistemlerinin dezavantajları şunlardır:

- Tahriş edici maddeler bu sistemlerde kullanılamaz.
- Tedavi edici alan küçük olduğu için doz sınırlamaları vardır.
- Peptidaz ve esteraz gibi enzimler ilacın presistematik eliminasyonuna neden olarak ilacın biyoyararlanımının azalmasına neden olabilir.
- Lokal ilaç taşıma sistemlerinin üretimi yüksek maliyetlidir [23].

2.3.4 Periodontal Hastalıklarda Lokal İlaç Salım Sistemlerinin İdeal Özellikleri

Periodontal hastalıkların tedavisi için tasarlanan ideal bir ilaç taşıma sisteminin sahip olması gereken özellikler:

- Periodontal cebe hızla yapışmalı ve yeterli mekanik dayanıma sahip olmalıdır.
- Kontrollü ilaç salımı yapmalıdır.
- Hasta uyumu yüksek olmalıdır
- Konuşma, yeme, içme gibi normal işlevleri engellememelidir.

- Güvenilir olmalıdır.
- Periodontal cebe doğru tek yönlü bir ilaç salımı gerçekleştirmelidir.
- Diş eti oluğu sıvısının sirkülasyonuna dirençli olmalıdır [24].

2.4 Lokal İlaç Salım Sistemlerinin Sınıflandırılması

2.4.1 Lokal İlaç Salım Sistemlerinin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması

Periodontolojide kullanılan lokal salım sistemleri etki süresine göre iki sınıfa ayrılmaktadır.

2.4.1.1 Sürekli Salım Sistemleri

Sürekli salım sistemleri ile ilaç salımı; birden fazla uygulamanın gerektiği, salımın yirmi dört saatten daha az sürede gerçekleştiği sistemlerdir. Bu sistemler birinci dereceden kinetiği takip etmektedir. İlaç salımı pasif difüzyonla gerçekleşir ve ilaç salım oranı çözünmüş maddenin konsantrasyonuna bağlıdır. İlaç konsantrasyonundaki artışla salım hızı artmaktadır [22, 25, 26].

2.4.1.2 Kontrollü Salım Sistemleri

Kontrollü salım sistemleri ile ilaç salımı; bir kez uygulamanın yeterli olduğu, ilacın etki bölgesinde kalma süresinin bir günden fazla olduğu sistemlerdir. Bu sistemler sıfırıncı dereceden kinetiği takip etmektedir. İlaç salımı aktif transportla gerçekleşir ve ilaç salım oranı çözünmüş maddenin konsantrasyonundan bağımsızdır. İlaç konsantrasyonu artırılsa bile salım hızında artış meydana gelmemektedir [22, 25, 26].

2.4.2 Lokal İlaç Salım Sistemlerinin Fiziksel Formlarına Göre Sınıflandırılması

Periodontal hastalıkların lokal ilaç salım sistemleriyle tedavisinde, ilacı diş eti oluğu sıvısında (DOS) minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) üzerinde tutmak için birçok farklı formda lokal ilaç salım sistemleri tasarlanmıştır. Tasarlanan bu lokal ilaç salım sistemleri biyobozunur ve biyobozunur olmayan salım sistemleri olarak iki gruba ayrılmaktadır. Biyobozunur olmayan salım sistemleri başarılı terapötik etkinlik süresine sahip olmasına rağmen, vücutta

yabancı cisim olarak algılanıp bağışık sistemin tepkisine neden olabilecekleri için potansiyel bir tehlike konumunda değerlendirilmektedir. Diş hekiminin salım sistemini kontrol etmesi açısından avantajlı görünse de hastaların diş hekimini birden fazla ziyaret etmeleri hastalar için daha maliyetli bir hale gelmektedir. Biyobozunur salım sistemleri ise terapötik etkinlik süresinin muhafaza edilebildiği tasarımlar için oldukça avantajlıdır. Biyolojik olarak parçalanabilir yapıda oldukları için vücutta bağışıklık sistemi tepkisi oluşturmayacaklarından dolayı yüksek güvenilirliğe sahiptir [1, 14, 27].

2.4.2.1 Fiberler

Fiberler, bir aplikatör kullanılarak periodontal cebe yerleştirilen ve siyanoakrilat gibi bir yapışkan malzemeyle sabitlenen rezervuar tipi salım sistemidir. İplik benzeri bu yapılar; elektrospinnig ile kolay üretim, yüzey/hacim oranı, ilaç yükleme etkinliği ve uygulama kolaylığı gibi pek çok konuda avantaj sağlamaktadır. Çoğunlukla biyobozunur polimerler olan poli(laktik-ko-glikolik asit) veya poli(-kaprolakton) gibi sentetik ya da kitosan, zein ve jelatin gibi doğal polimerler ile hazırlanmaktadır. Aynı zamanda etilen vinil asetat, selüloz asetat gibi biyobozunur olmayan polimerler de üretilmektedir [28].

2.4.2.2 Filmler

Filmler, ilacın polimer boyunca dağıldığı ve bir matrisin difüzyonu, erozyonu veya çözünmesi ile salındığı bir matris verme sistemi şeklidir. Bu sistem birkaç avantajlı özelliğe sahip olduğu için daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Filmlerin boyutu ve şekli esnektir. Tedavi bölgesindeki cep boyutlarına uyacak şekilde kolayca kesilebildiği için avantajlıdır [29].

2.4.2.3 Enjekte Edilebilir Sistemler

Enjekte edilebilir sistemler, kolay ve hızlı uygulama avantajına sahip sistemlerdir. Hasta acı çekmeden ilaçlar doğrudan periodontal cebe bir enjektör kullanılarak verilmektedir. Tedavi için harcanan maliyet ve zaman diğer ilaç salım sistemlerine kıyasla oldukça düşüktür [29].

2.4.2.4 Jeller

Jeller, ilaçların hedefli olarak verilmesi için de dikkat çeken yarı katı muko-yapışkan salım sistemleridir. Hastalık bölgesinde salım yapmaları için enjektör yardımıyla periodontal cebe enjekte edilmektedirler. Uygulama kolaylığı, sürekli salım yeteneği, minimum doz sıklığı ve toksik olmamaları açısından büyük avantaja sahiptir. Jeller; karbopol, ksantan, karboksimetil selüloz, kitosan gibi çeşitli polimerler kullanılarak formüle edilmektedir [28, 29].

2.4.2.5 Mikropartikül Sistemleri

Mikropartüküller, 1-1000 μm arasında değişen boyutlarda katı küresel polimerik yapılardır. İlaçların dış ortamdan korunması, uyumsuzluğun giderilmesi ve hoş olmayan tatların ortadan kaldırılması açısından avantajlı sistemlerdir. Sahip oldukları dozaj formu sayesinde biyoyararlanımları yüksektir ve sürekli olarak terapötik aktiviteye sahiptir. Mikropartikül sistemleri; polyesterler, polianhidritler gibi biyoparçalanabilir sentetik polimerler ya da kitosan, hyaluronik asit ve aljinik asit gibi biyoparçalanabilir doğal polimerler ile hazırlanabilmektedir [28, 29].

2.4.2.6 Stripler

Stripler, ilaçların polimer boyunca dağıtıldığı ince ve uzun matris bantlardır. Genel olarak, stripler bir konum sabitleme mekanizmasına sahip olan esnek polimerlerden oluşur ve çok çeşitli interproksimal aralıklara uyarlar. Çeşitli antimikrobiyal maddelerle yüklenen akrilik (polietil metakrilat) stripler geliştirilmiş ve değerlendirilmiştir [2, 29].

2.4.2.7 Nanopartikül Sistemleri

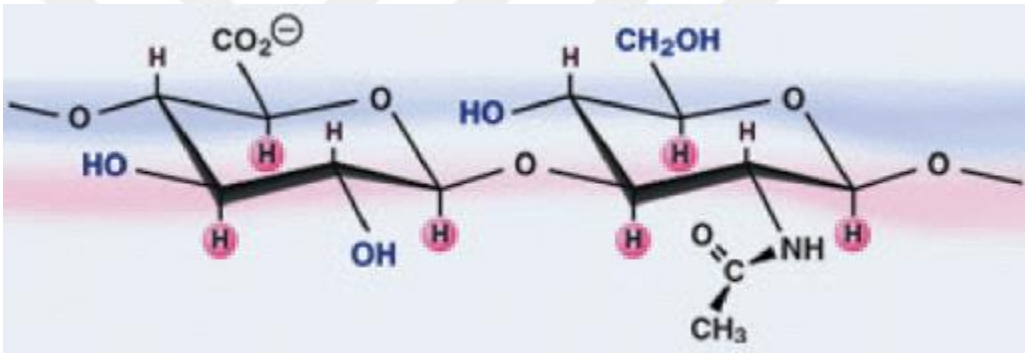
Nanopartikül sistemleri, hedefe yönelik yavaş kontrollü ilaç salımı için tasarlanan sistemlerdir. Mikropartikül ve emülsiyon bazlı dağıtım sistemlerine kıyasla, sulu bir ortamda yüksek dağılabilirlik, kontrollü salım hızı ve arttırılmış stabilite dahil olmak üzere çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Nanoparçacıklar, küçük boyutları nedeniyle, diş eti hattının altındaki periodontal cep alanları gibi diğer dağıtım sistemlerine erişilemeyen bölgelere nüfuz etmektedir. Bu sistemler uygulama sıklığını azaltmakta ve ayrıca aktif maddenin uzun bir süre boyunca homojen bir dağılımını sağlamaktadır. 2-hidroksietil metakrilat ve polietilenglikol

dimetakrilattan oluşturulan nanoparçacıklar, nanopartikül sistemlerinde kullanılan polimerlerdendir [8].

2.5 Periodontal Hastalıklarda Hyaluronik Asit ve Melatoninin Önemi

2.5.1 Periodontal Hastalıklarda Hyaluronik Asitin Önemi

Hyaluronik asit (HA), ekstrasellüler matriksin ana komponentlerinden biri olan yüksek molekül ağırlıklı (4000-20000000 Da) bir polisakkarittir. Birbirine β(1,4) ve β(1.3) glikozid bağlarıyla bağlı, tekrarlayan D-glukuronik ve N-asetil-glukozamin asit zincirlerinden oluşmaktadır. Fizyolojik koşullarda bir sodyum tuzu formundadır. Bu nedenle negatif olarak yüklenir ve sodyum hayluronat olarak adlandırılır [30, 31].



Şekil 2.3 Hyaluronik asitin kimyasal yapısı (D-glukuronik asit, N-asetil-glukozamin) [32]

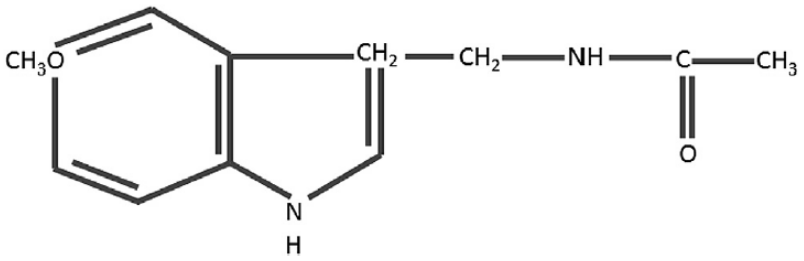
Hyaluronik asit; büyüme faktörleriyle etkileşim kurma, ozmotik basıncı düzenleme, doku lubrikasyonu gibi hücresel ve hücre dışı aktiviteleri içeren çeşitli fizyolojik ve yapısal fonksiyonlara sahiptir. Sahip olduğu bu özellikler dokunun yapısal ve homeostaz bütünlüğünün korunmasına yardımcı olmaktadır. İnsan fizyolojisi üzerinde sahip olduğu olumlu yönleriyle kozmetik, tıbbi ve farmasötik alanlarda tercih edilmektedir [33].

Hyaluronik asit, sağlıklı diş eti ve oral mukoza için dokunun vazgeçilmez bir bileşenidir. Periodontal sağlıkta; hyaluronik asitin viskoelastik özellikleri ve yüksek hidrasyon oranı, doku yaralarının kontrolü ve kemik yarası iyileşmesinde yüksek fayda sağlamaktadır. Aynı zamanda erken granülasyon dokusu oluşumunu

indükleyerek iyileşme bölgesinde skar oluşumunu azaltmaktadır. İyileşme bölgesinde inflamasyonu inhibe etmekte ve böylece sağlıklı epitalyal oluşumunu desteklemekte ve bağ dokusu anjiyogenezini teşvik ederek yara iyileşmesine yardımcı olmaktadır [32, 34, 35].

2.5.2 Periodontal Hastalıklarda Melatoninin Önemi

Melatonin (N-asetil-5-metoksi triptamin), epifiz bezinin ana salgı ürünü olan bir hormondur. Vücudun sirkadyen döngüsünde oynadığı role ek olarak insan dokuları üzerinde antioksidan, antiinflamatuvar ve antitoksik özelliklere sahiptir. Kollajen ve kemik dokusunun proliferasyonunu uyarma, yaşlanma ve toksin maruziyeti ile ilişkili hücresel dejenerasyona karşı koruyucu görevi bulunmaktadır. Sahip olduğu bu özelliklerin bir sonucu olarak ağız boşluğunda meydana gelen çeşitli hastalıklarda önemli görevler üstlenmektedir. Melatoninin diş patojenleri üzerinde inhibe edici etkisi ve kemik dokusu üzerinde sahip olduğu rejeneratif etkisiyle periodontal ilaç ve yapı iskelelerinde kullanılmaktadır [36, 37, 38].



Şekil 2.4 Melatoninin kimyasal yapısı (N-asetil-5-metoksi triptamin) [39]

3
MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Materyaller ve Cihazlar

Sodyum karboksimetil selüloz (NaCMC, 3500 mPa.s min.) Tito (Türkiye), Sitrik asit ve Selüloz membran diyaliz tüpü (14000 MWCO) Sigma-Aldrich (Almanya), Hyaluronik asit sodyum tuzu (HA, m.w. 30000-50000 Da) Glentham Life Science (İngiltere), Melatonin (MEL), Tetrasiklin (T) ve Metronidazol (MZ) Alfa Aesar (ABD), Nutrient Broth Merck (Almanya), Mueller Hinton Broth (MHB) ve Mueller Hinton Agar (MHA) Lam M (UK), Gliserol Riedel-de Haen (Almanya), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) bakterilerinin liyofilize edilmiş kültürleri Microbiologics Inc.'den (Saint Cloud, MN, ABD) temin edildi.

Çalışmalarda; Radwag (60/220.R2) 0,0001 g duyarlılıkta analitik laboratuvar terasizi, Binder (ED 115) etüv, Hedidolph (MR 3001) manyetik karıştırıcı, Bandelin (RK 510 H) ultrasonik banyo, Purelab Flex ultra saf su cihazı, PG (T60) UV-Visible spektrofotometre, Shimadzu IR FTIR-ATR cihazı, Gökçe Makine set üstü öğütücü (1500 DVR), Brookfield (VR-II+PRO) viskozimetre, Vapour Line Lite otoklav, WTW Cond 315i pH metre ve steril hava kabini kullanıldı.

3.2 Yöntem

3.2.1 Mikropartikül Yapıların Hazırlanması

NaCMC'nin üç farklı sitrik asit konsantrasyonu ile çapraz bağlanmasıyla üç farklı çapraz bağlanma oranında polimer hidrojel elde edildi. NaCMC hidrojelleri (%6 w/v), 100 ml ultra saf suya 6 g NaCMC tozu eklenerek hazırlandı. NaCMC suda tamamen çözününceye kadar oda sıcaklığında karıştırıldı. Homojenizasyonun ardından çapraz bağlayıcı ajan olan sitrik asit (%1,2, %1,8 ve %2,4 (w/w polimer)) yavaşça karıştırılan karışımlara dahil edildi. Karışımlar 4 saat boyunca karıştırıldı.

Daha sonra çapı 60 mm olan polistiren petri kaplarına döküldü. 24 saat 50°C'de etüvde kurutuldu. Ardından çapraz bağlanma reaksiyonu için 24 saat 80°C'de etüvde kurutuldu. Etüvden alınan örnekler öğütücüden geçirilerek maksimum boyutu 400 µm olan partiküller haline getirildi.

Tablo 3.1 Üç farklı sitrik asit konsantrasyonunda hazırlanan mikropartikül formülasyonlarının oranları

Mikropartikül kodu	NaCMC (%6 w/v)	Sitrik Asit (w/w polimer)	Ultra saf su
MP1	6 g	% 1,2 (0,072 g)	100 ml
MP2	6 g	% 1,8 (0,108 g)	100 ml
MP3	6 g	% 2,4 (0,144 g)	100 ml

3.2.2 Çift Fazlı Formülasyonların Boş Mikropartiküller ile Hazırlanması

Boş mikropartiküllü çift fazlı yapı 1 g NaCMC mikropartiküllerinin 20 ml ultra saf su ile birleştirilmesiyle hazırlandı.

Tablo 3.2 Boş mikropartiküllerin hazırlanma oranları

1 g MP1	20 ml ultra saf su
1 g MP2	20 ml ultra saf su
1 g MP3	20 ml ultra saf su

3.2.3 Hyaluronik Asit, Melatonin, Tetrasiklin ve Metronidazol Yüklü Çift Fazlı Formülasyonların Hazırlanması

HA, MEL, T ve MZ yüklü çift fazlı formülasyonlar MP1, MP2 ve MP3 kodlu mikropartiküller ile hazırlandı.

- HA çözeltisi (%0,6 w/w polimer); 10 ml ultra saf suya 30 mg HA eklenerek hazırlandı. HA suda tamamen çözününceye kadar 50°C'ye ayarlanmış ultrasonik su banyosunda bekletildi.
- MEL çözeltisi %0,4 (w/w polimer); HA çözeltisinin üzerine 20 mg MEL eklenerek hazırlandı. MEL, HA çözeltisi içinde çözününceye kadar 50°C'ye ayarlanmış ultrasonik su banyosunda bekletildi.
- T çözeltisi %8 (w/w); 70 ml ultra saf suya 400 mg T eklenerek hazırlandı. T suda tamamen çözününceye kadar 80°C'ye ayarlanmış ultrasonik su banyosunda bekletildi.
- MZ çözeltisi %10 (w/w polimer); 20 ml ultra saf suya 500 mg T eklenerek hazırlandı. MZ suda tamamen çözününceye kadar 80°C'ye ayarlanmış ultrasonik su banyosunda bekletildi.

Hazırlanan çözeltiler bir araya getirilerek homojenleştirildi. Karışımların üzerine 5 g mikropartikül ilave edildi. Homojen hale gelinceye kadar karıştırıldı.

Tablo 3.3 HA, MEL, T ve MZ yüklü formülasyonların hazırlanma oranları

Formülasyon 1 (F1)	**Formülasyon 2 (F2)**	**Formülasyon 3 (F3)**
5 g MP1	5 g MP2	5 g MP3
Hyaluronik asit 30 mg	Hyaluronik asit 30 mg	Hyaluronik asit 30 mg
Melatonin 20 mg	Melatonin 20 mg	Melatonin 20 mg
Tetrasiklin 400 mg	Tetrasiklin 400 mg	Tetrasiklin 400 mg
Metronidazol 500 mg	Metronidazol 500 mg	Metronidazol 500 mg
100 ml ultra saf su	100 ml ultra saf su	100 ml ultra saf su

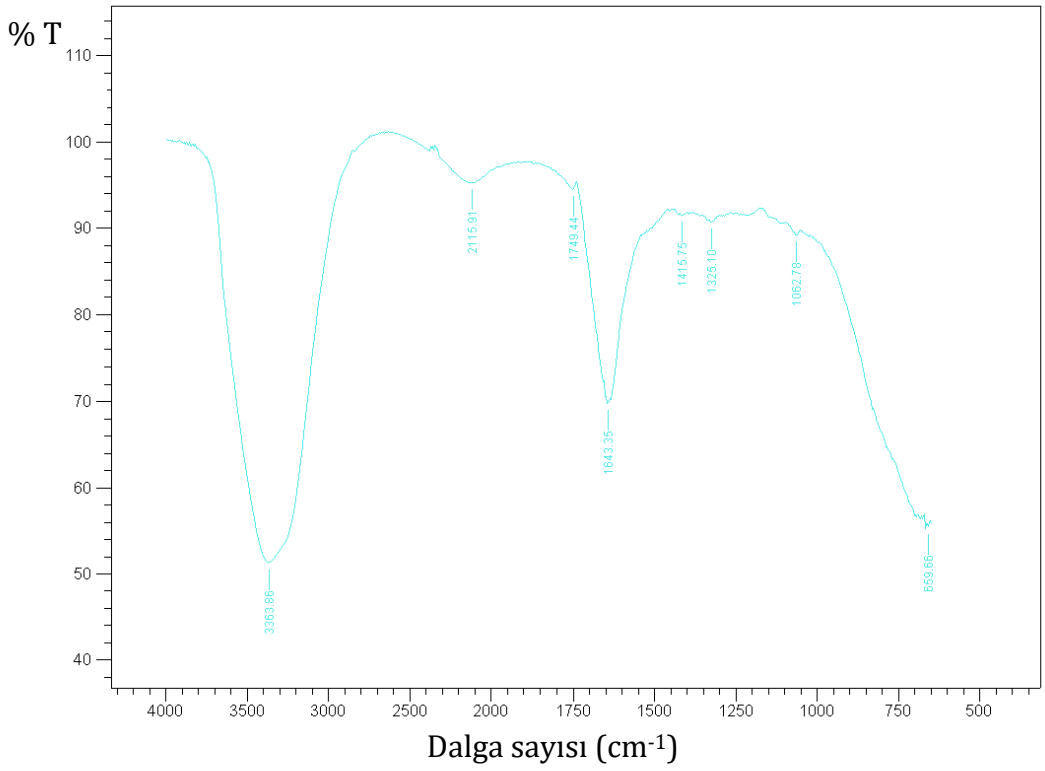
4
SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1 Sonuçlar

4.1.1 Hyaluronik Asit, Melatonin, Tetrasiklin ve Metronidazolün Sodyum Karboksimetil Selüloz ile Etkileşimi

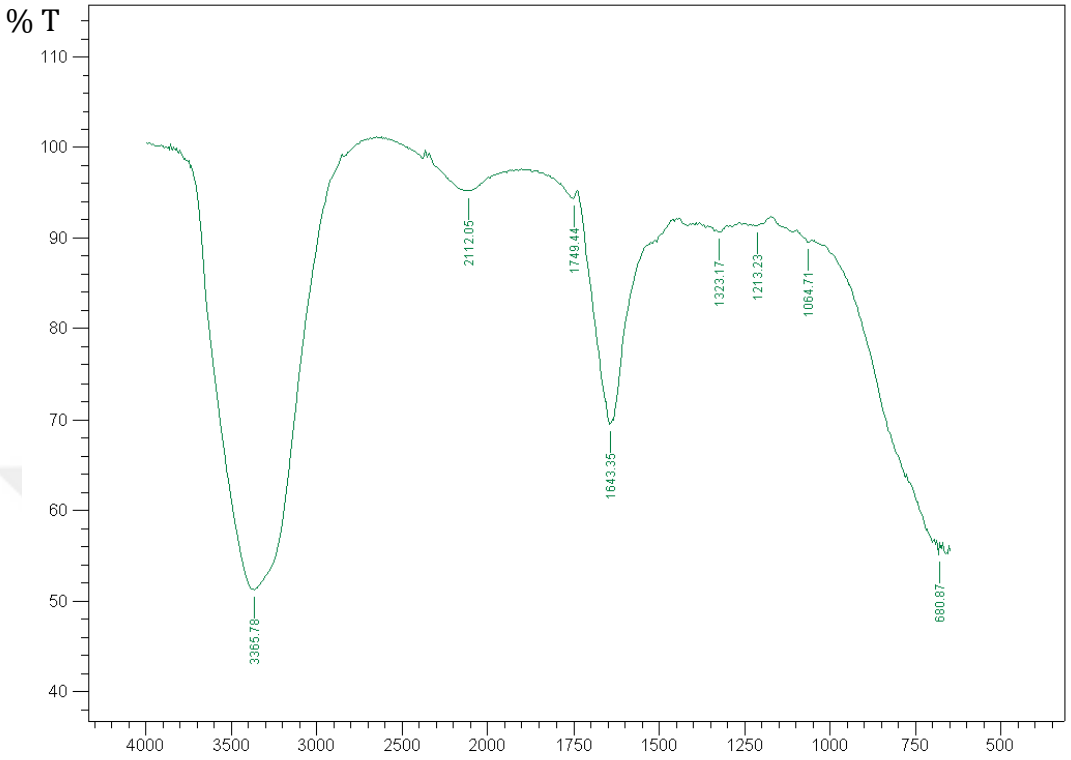
HA, MEL, T ve MZ'nin sodyum karboksimetil selüloz polimeriyle ve birbirleriyle olan etkileşimleri ve HA, MEL, T ve MZ'nin toz formlarının birbiriyle etkileşimleri 4000-600 cm^{-1} dalga sayısı aralığında FTIR-ATR cihazında analiz edildi.

- 3.2.2'de anlatıldığı gibi MP1 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının FTIR spektrumu Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



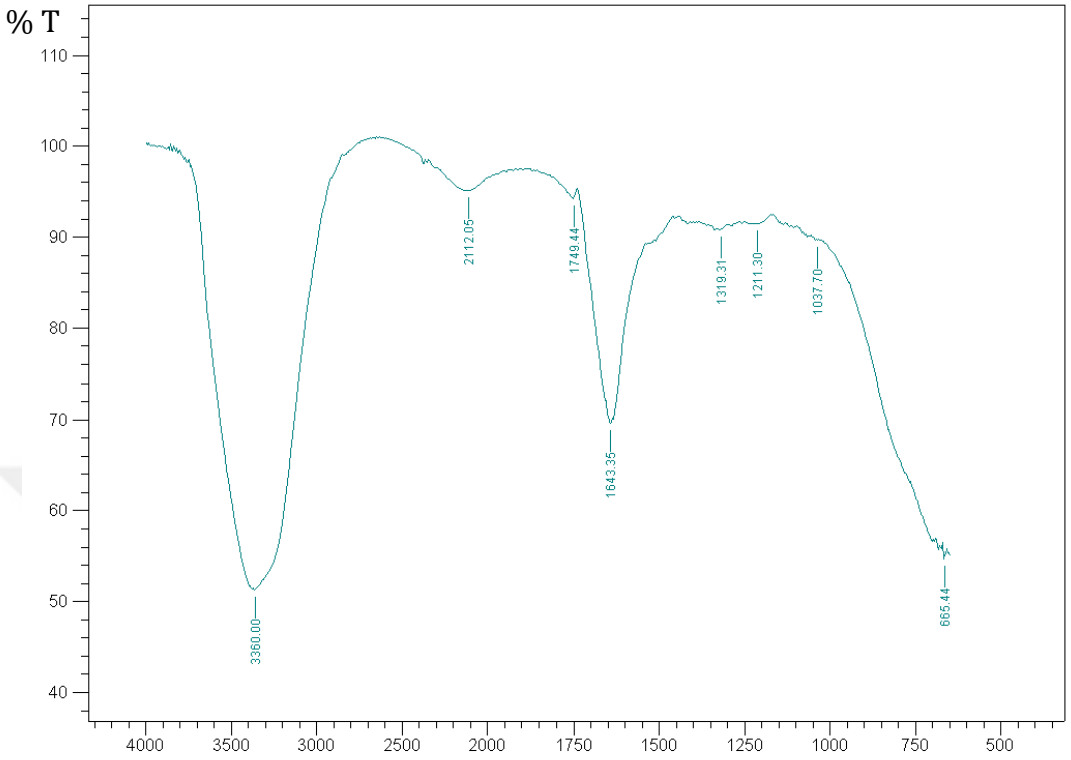
Şekil 4.1 MP1 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının FTIR spektrumu

- 3.2.2'de anlatıldığı gibi MP2 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının FTIR spektrumu Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



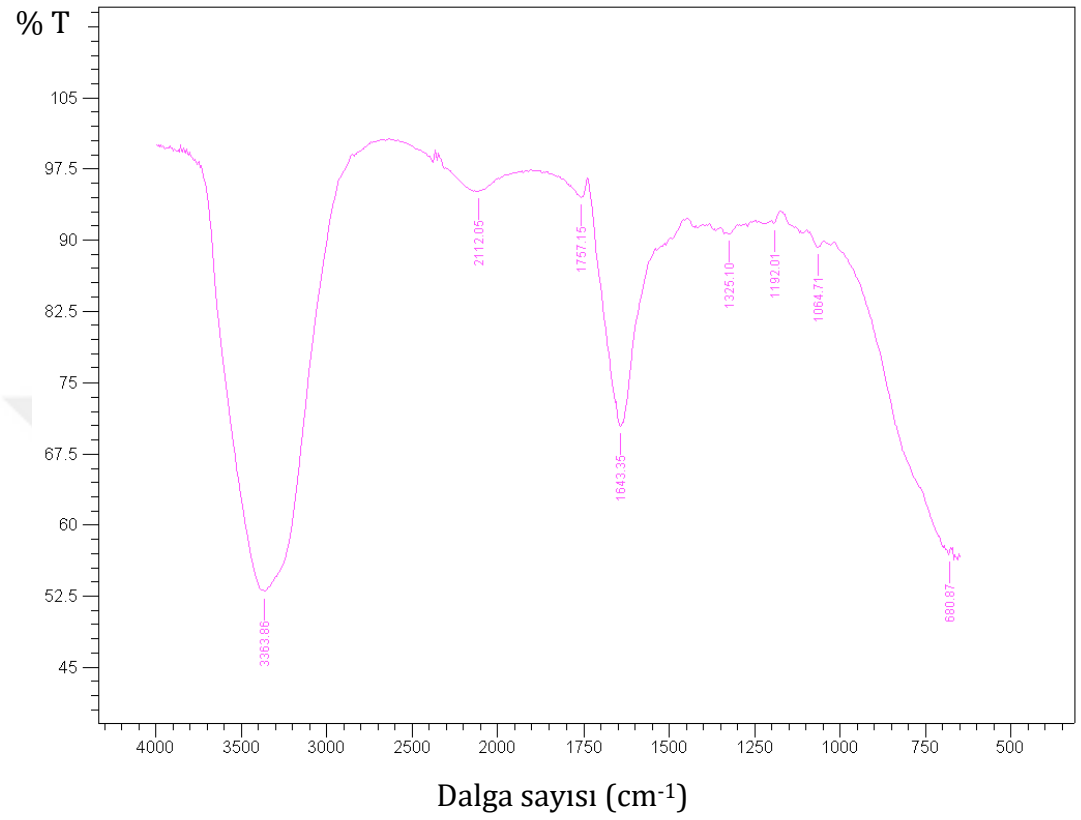
Şekil 4.2 MP2 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının FTIR spektrumu

- 3.2.2'de anlatıldığı gibi MP3 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının FTIR spektrumu Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



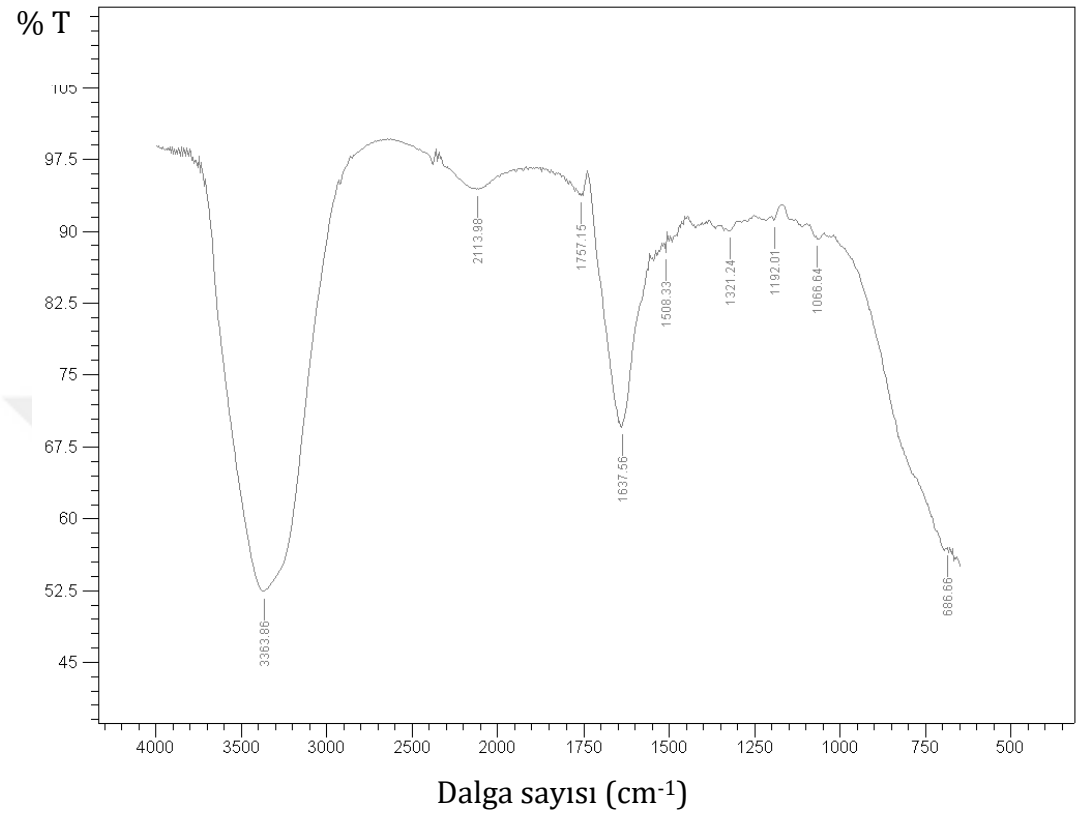
Şekil 4.3 MP3 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının FTIR spektrumu

- 3.2.3'te anlatıldığı gibi hazırlanan MP1 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan HA, MEL, T ve MZ yüklü çift fazlı F1 formülasyonunun FTIR spektrumu Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



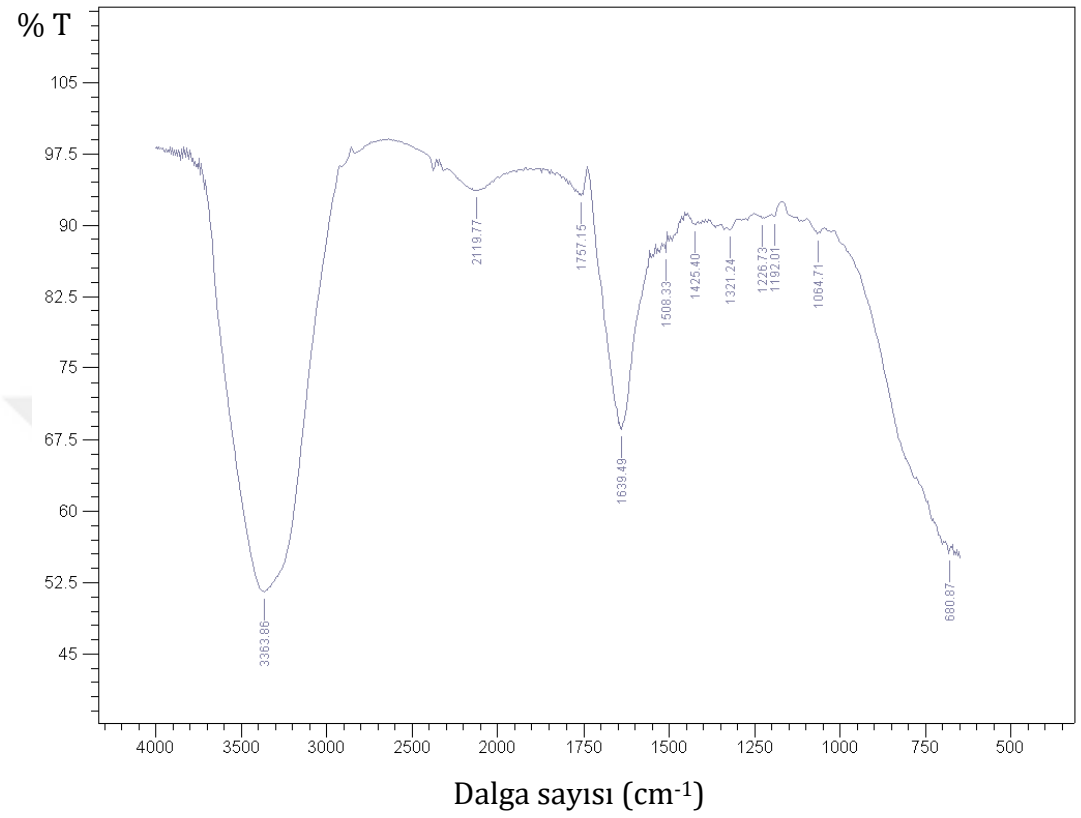
Şekil 4.4 MP1 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F1 formülasyonunun FTIR spektrumu

- 3.2.3'te anlatıldığı gibi hazırlanan MP2 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan HA, MEL, T ve MZ yüklü çift fazlı F2 formülasyonunun FTIR spektrumu Şekil 4.5'te gösterilmiştir.

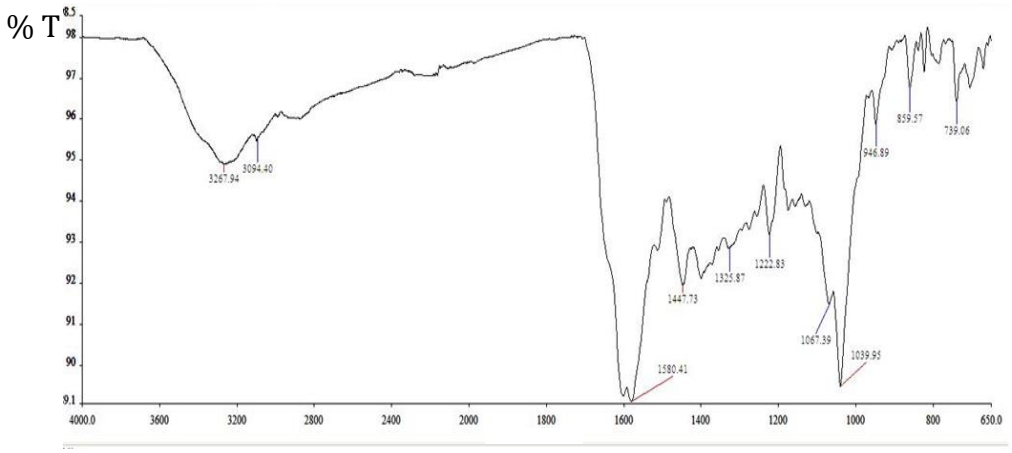


Şekil 4.5 MP2 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F2 formülasyonunun FTIR spektrumu

- 3.2.3'te anlatıldığı gibi hazırlanan MP3 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan HA, MEL, T ve MZ yüklü çift fazlı F3 formülasyonunun FTIR spektrumu Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6 MP3 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F3 formülasyonunun FTIR spektrumu

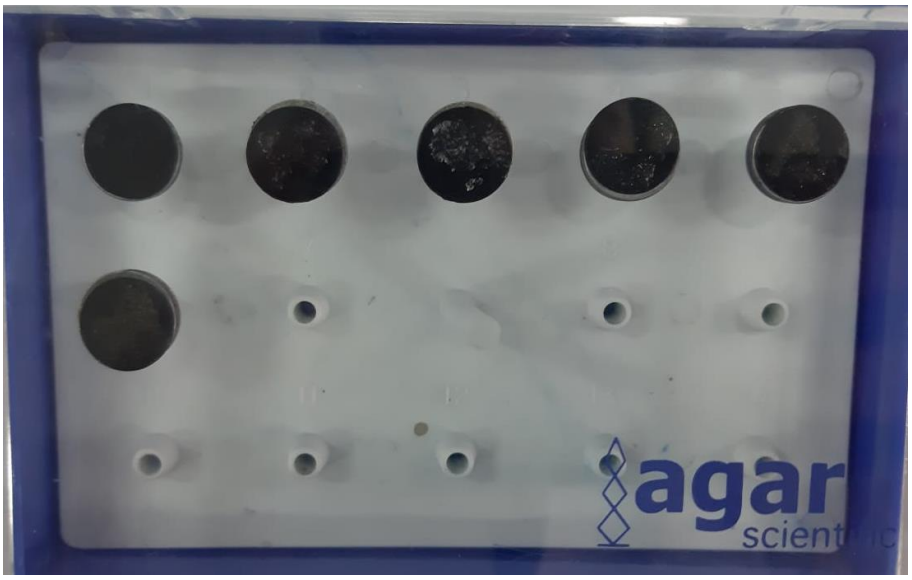


Dalga sayısı (cm^{-1})

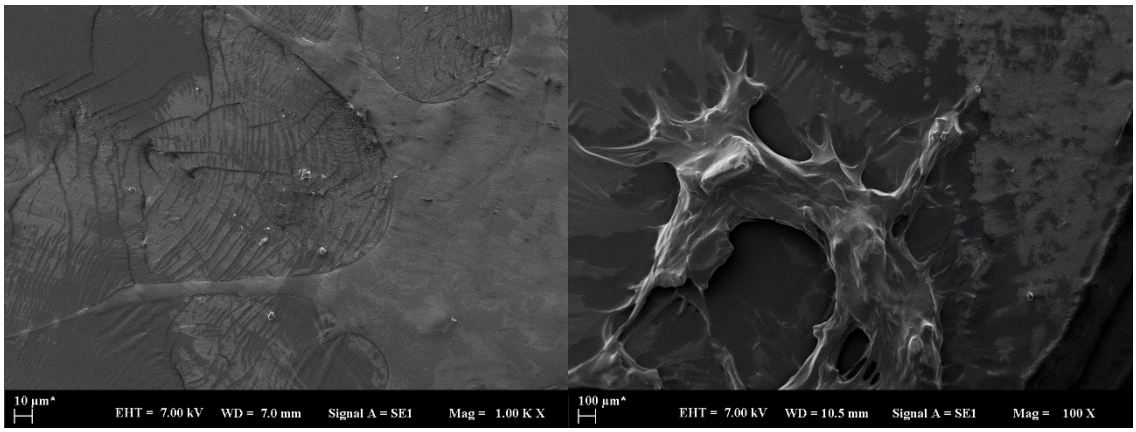
Şekil 4.7 HA, MEL, T ve MZ'nin toz formlarının FTIR spektrumu

4.1.2 Jel Yapı ve Solid Hidrojel Partiküllerin Şekil ve Yüzey Morfolojilerinin İncelenmesi

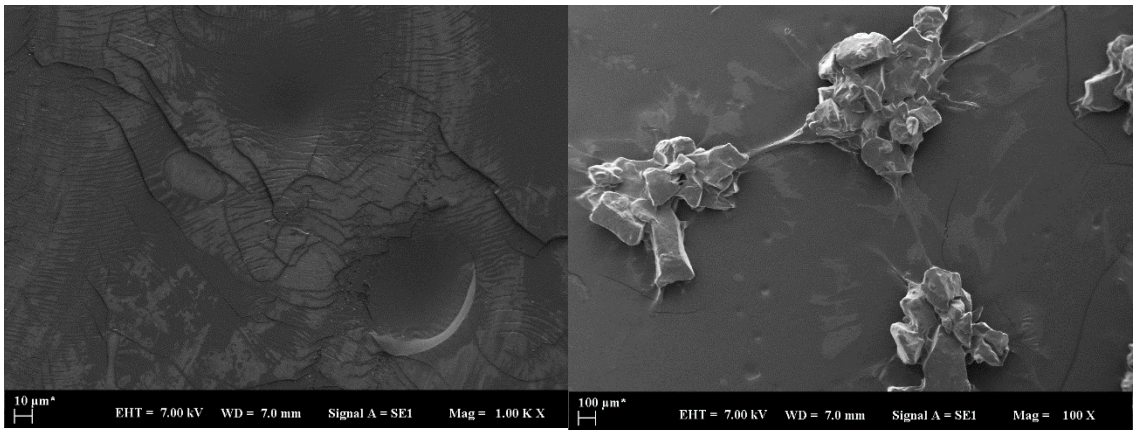
Mikropartiküllerin şekilleri ve yüzey özellikleri taramalı elektron mikroskobuyla değerlendirildi. MP1, MP2 ve MP3 kodlu jel ve hidrojel partikülleri içeren boş çift fazlı yapılar ve F1, F2 ve F3 kodlu HA, MEL, T ve MZ yüklü çift fazlı formülasyonlar çift taraflı bant ile SEM cihaz aparatına tutturuldu, kurutuldu ve altı örnek ölçüm için hazırlandı.



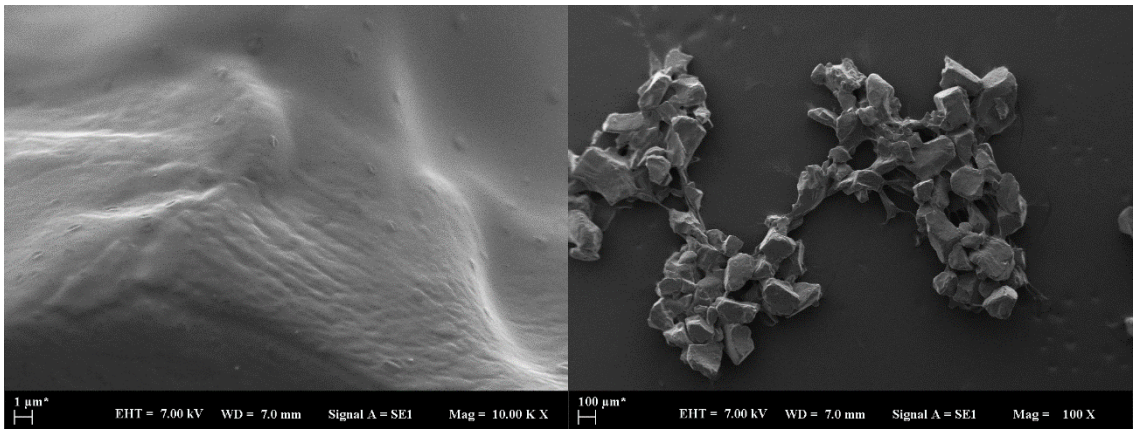
Şekil 4.8 SEM aparatlarına yerleştirilen örnekler



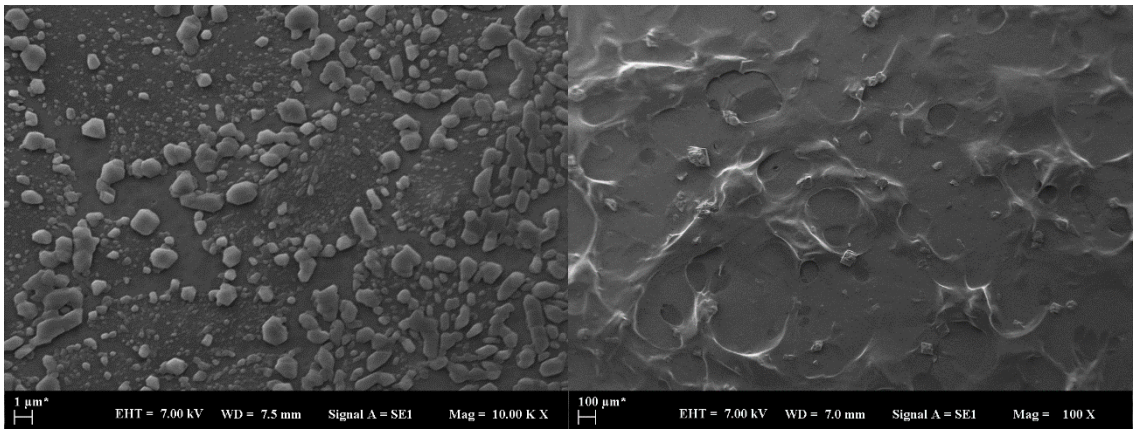
Şekil 4.9 MP1 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının SEM görüntüsü



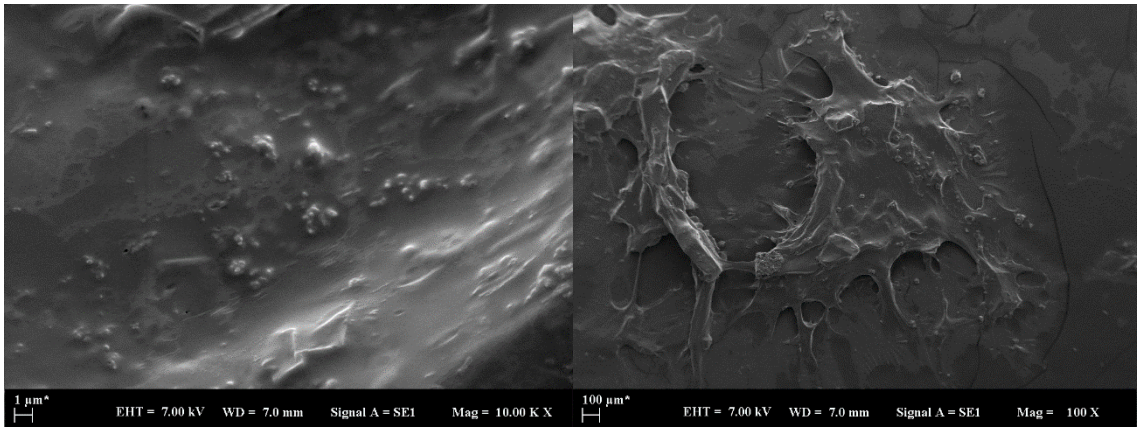
Şekil 4.10 MP2 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının SEM görüntüsü



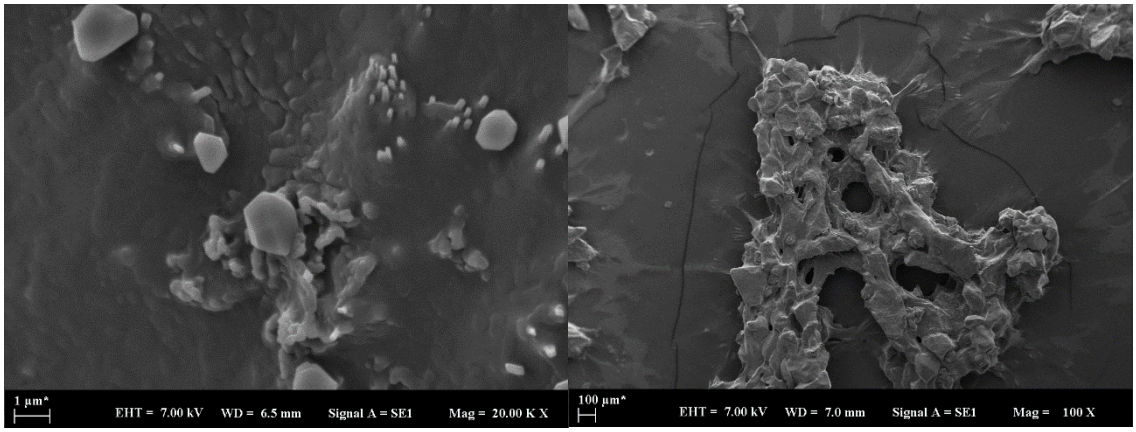
Şekil 4.11 MP3 kodlu mikropartiküller ile hazırlanan boş çift fazlı yapının SEM görüntüsü



Şekil 4.12 MP1 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F1formülasyonunun SEM görüntüsü



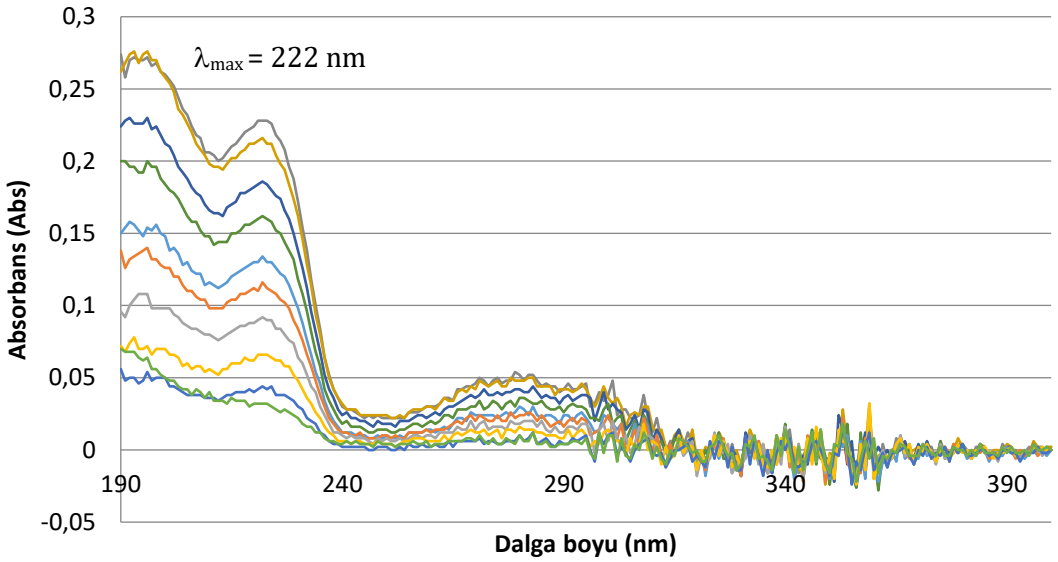
Şekil 4.13 MP2 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F2 formülasyonunun SEM görüntüsü



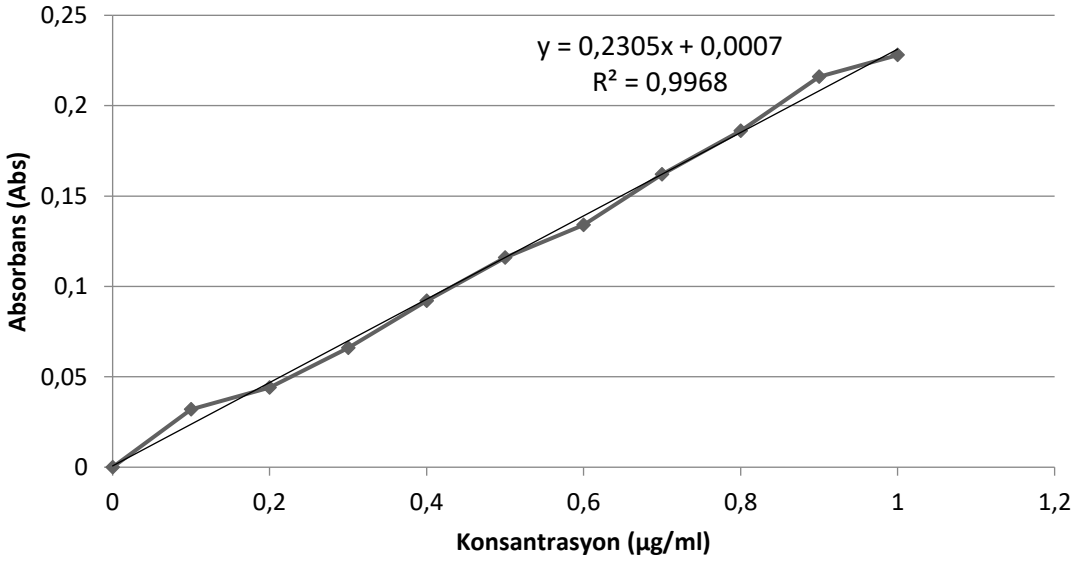
Şekil 4.14 MP3 kodlu mikropartiküller ve HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F3 formülasyonunun SEM görüntüsü

4.1.3 *In vitro* Salım Çalışmaları

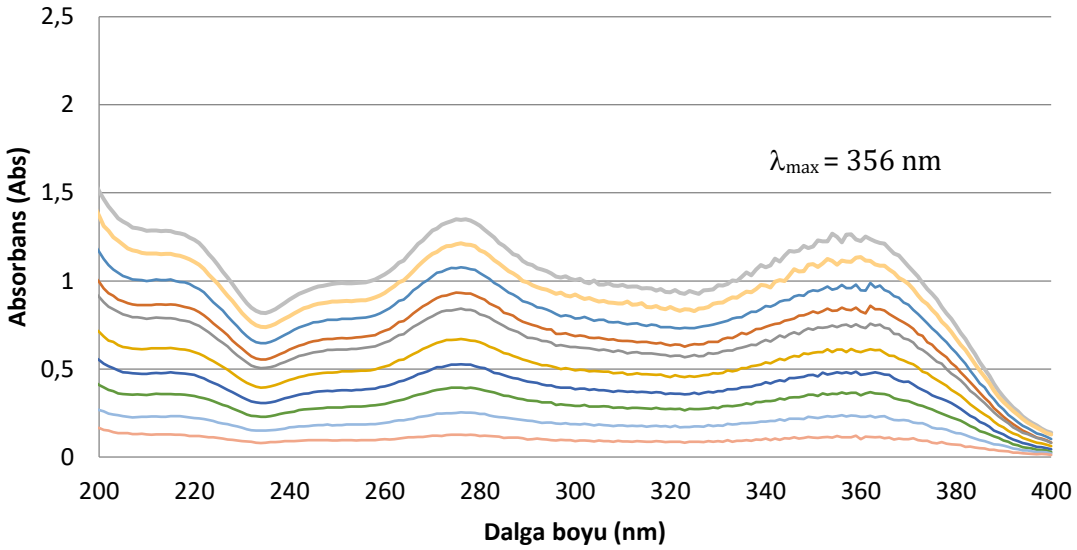
- F1, F2 ve F3 çift fazlı formülasyonların *in vitro* salım testleri için 9,5 mg HA, MEL, T ve MZ miktarına karşılık gelen 1 ml'lik örnekler üç diyaliz membranına yerleştirildi. Membranların her iki tarafı hava geçirmeyecek şekilde bağlanarak 100 ml ultra saf sudan oluşan çözünme ortamı içine bırakıldı. Çözünme ortamı ışık görmeyecek şekilde muhafaza edildi ve sıcaklık 37^{o}C'de sabit tutuldu. 5, 10, 20, 30 dakika, 1, 2, 3, 4 saat, 1, 2, 3 ve 4 gün zaman aralıklarıyla çözünme ortamlarından 1,5 ml numune alındı ve çözünme ortamının korunması için aynı hacimde yeni ortam ilave edildi. Tüm numunelerin UV-Vis spektrofotometre ile 400-200 nm dalga boyu aralığındaki spektrumları kaydedildi.
- Çözünme ortamından alınan numunelerin içerdiği madde konsantrasyonunun belirlenmesi için diyaliz membranlara yerleştirilen 1 ml'lik çift fazlı formülasyonların içeriğindeki madde miktarlarına karşılık gelen konsantrasyon aralığında HA, MEL, T ve MZ'nin saf standart çözeltileri hazırlandı. Elde edilen verilerle MEL, T ve MZ'nin kalibrasyon spektrumu ve kalibrasyon grafiği oluşturuldu.



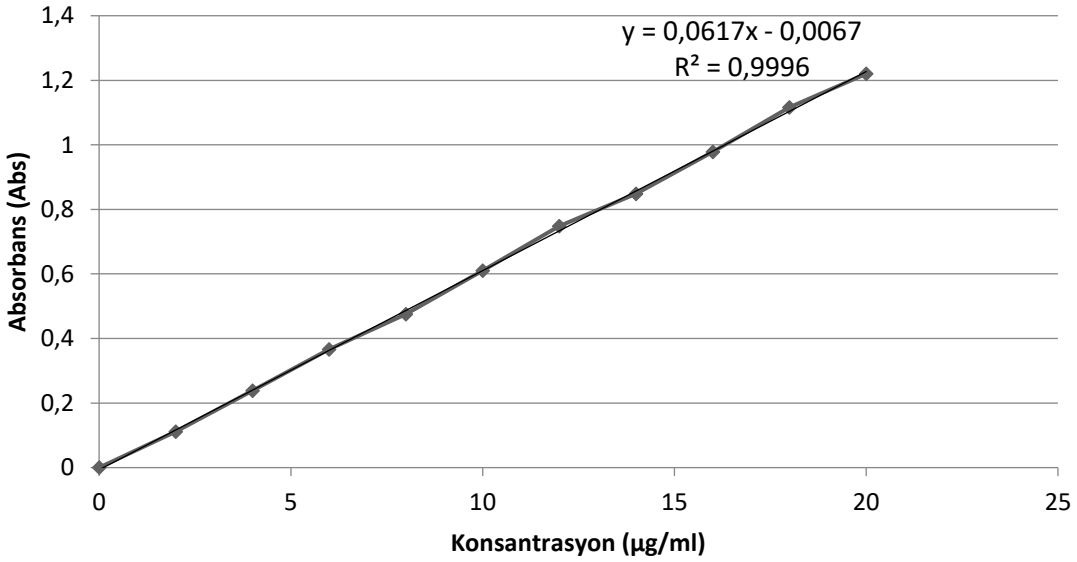
Şekil 4.15 MEL standart çözeltilerinin 400-200 nm dalga boyu aralığındaki kalibrasyon spektrumu



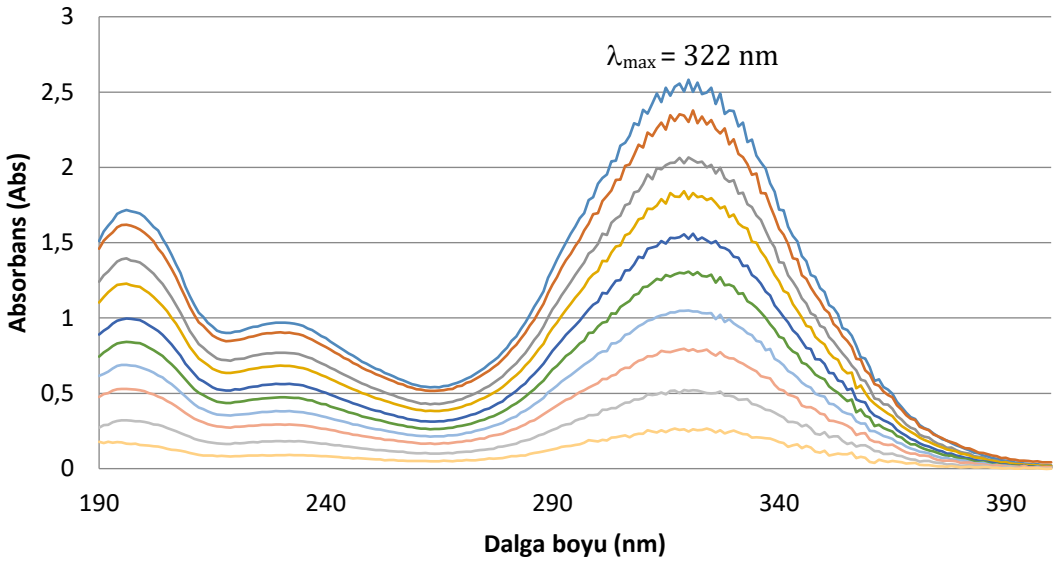
Şekil 4.16 MEL standart çözeltilerinin 222 nm dalga boyundaki kalibrasyon grafiği ve kalibrasyon denklemi



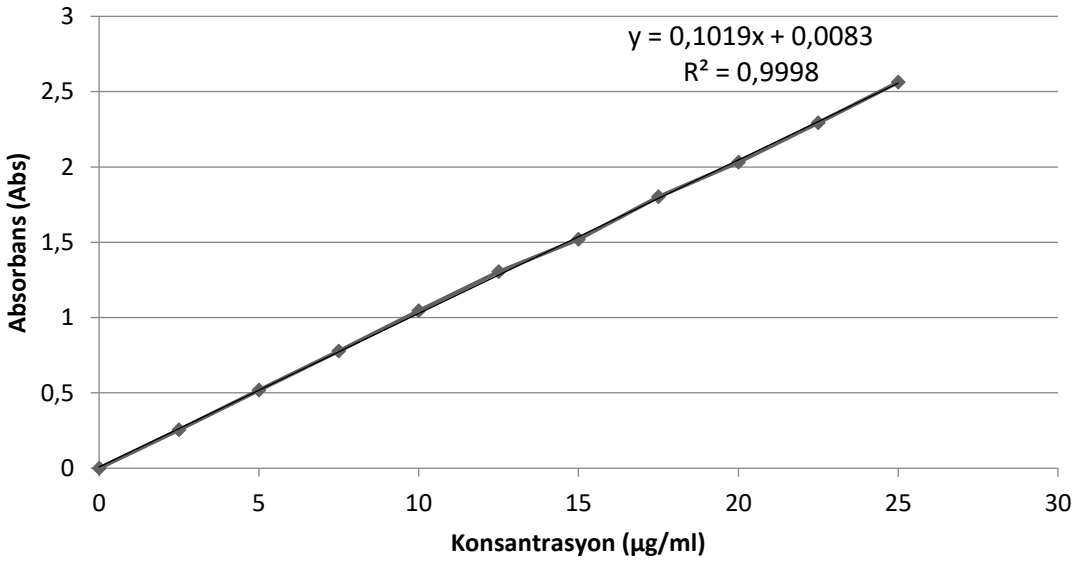
Şekil 4.17 T standart çözeltilerinin 400-200 nm dalga boyu aralığındaki kalibrasyon spektrumu



Şekil 4.18 T standart çözeltilerinin 356 nm dalga boyundaki kalibrasyon grafiği ve kalibrasyon denklemi



Şekil 4.19 MZ standart çözeltilerinin 400-200 nm dalga boyu aralığındaki kalibrasyon spektrumu



Şekil 4.20 MZ standart çözeltilerinin 322 nm dalga boyundaki kalibrasyon grafiği ve kalibrasyon denklemi

- T ve MZ'nin F1, F2 ve F3 formülasyonlarından *in vitro* salımı 4 gün boyunca takip edildi. Standart çözeltilerden elde edilen kalibrasyon denklemi ve formülasyonların salım takibiyle elde edilen absorbans değerlerine göre T ve MZ'nin deneysel konsantrasyonları hesaplandı.

Tablo 4.1 F1 formülasyonunun *in vitro* salım takibiyle elde edilen konsantrasyon değerleri

F1- Deneysel Konsantrasyon Değerleri		
	Tetrasiklin (µg/ml)	**Metronidazol** (µg/ml)
Zaman (h)	356 nm	322 nm
	y = 0,0617x – 0,0067	*y = 0,1019x + 0,0083*
0,08	1,89	3,04
0,16	3,12	5,04
0,33	4,48	7,02
0,5	4,94	7,93
1	7,27	10,91
2	9,67	13,97
3	11,71	15,82
4	12,59	16,33
5	14,05	17,42
24	21,86	22,31
48	21,40	22,53
72	20,46	22,53
96	19,56	22,12

Tablo 4.2 F2 formülasyonunun *in vitro* salım takibiyle elde edilen konsantrasyon değerleri

F2- Deneysel Konsantrasyon Değerleri		
Zaman (h)	**Tetrasiklin** (µg/ml) 356 nm *y = 0,0617x – 0,0067*	**Metronidazol** (µg/ml) 322 nm *y = 0,1019x + 0,0083*
0,08	2,25	3,53
0,16	3,64	5,61
0,33	5,39	8,10
0,5	6,53	9,53
1	9,57	13,5
2	13,79	18,29
3	15,76	20,29
4	17,26	21,25
5	18,29	21,99
24	22,38	22,82
48	24,78	26,36
72	24,09	26,28
96	23,19	26,24

Tablo 4.3 F3 formülasyonunun *in vitro* salım takibiyle elde edilen konsantrasyon değerleri

F3- Deneysel Konsantrasyon Değerleri		
Zaman (h)	**Tetrasiklin** (µg/ml) 356 nm *y = 0,0617x – 0,0067*	**Metronidazol** (µg/ml) 322 nm *y = 0,1019x + 0,0083*
0,08	3,06	4,84
0,16	4,52	7,00
0,33	6,27	9,52
0,5	7,40	10,99
1	10,35	14,42
2	13,79	17,72
3	15,76	19,00
4	16,77	19,43
5	18,13	20,57
24	24,74	26,10
48	21,99	22,86
72	20,89	22,65
96	20,01	22,53

- Deneysel konsantrasyon değeri hesaplamalarını takiben zamana karşı yüzde salım oranları hesaplandı.

Tablo 4.4 F1 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde salım oranları

Zaman (h)	**Tetrasiklin** (%)	**Metronidazol** (%)
0,08	8,6	13,5
0,16	14,2	22,3
0,33	20,5	31,1
0,5	22,6	35,1
1	33,2	48,4
2	44,2	62
3	53,6	70,2
4	57,6	72,5
5	64,3	77,3
24	100	99
48		100

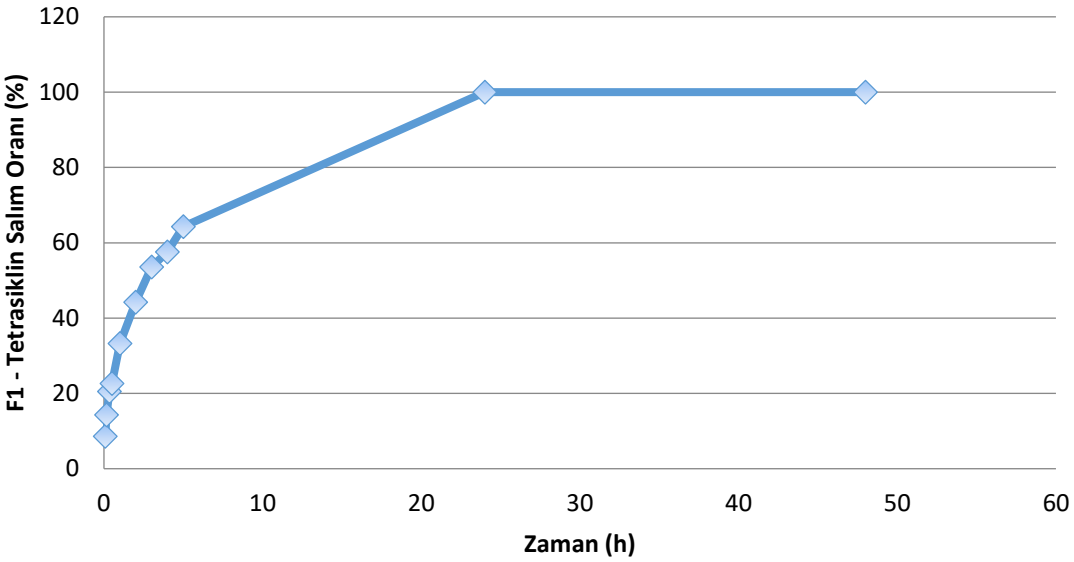
Tablo 4.5 F2 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde salım oranları

Zaman (h)	**Tetrasiklin** (%)	**Metronidazol** (%)
0,08	9	13,4
0,16	14,7	21,2
0,33	21,7	30,7
0,5	26,3	36,1
1	38,6	51,2
2	55,6	69,4
3	63,6	77
4	69,6	80,6
5	73,8	83,4
24	90,3	86,6
48	100	100

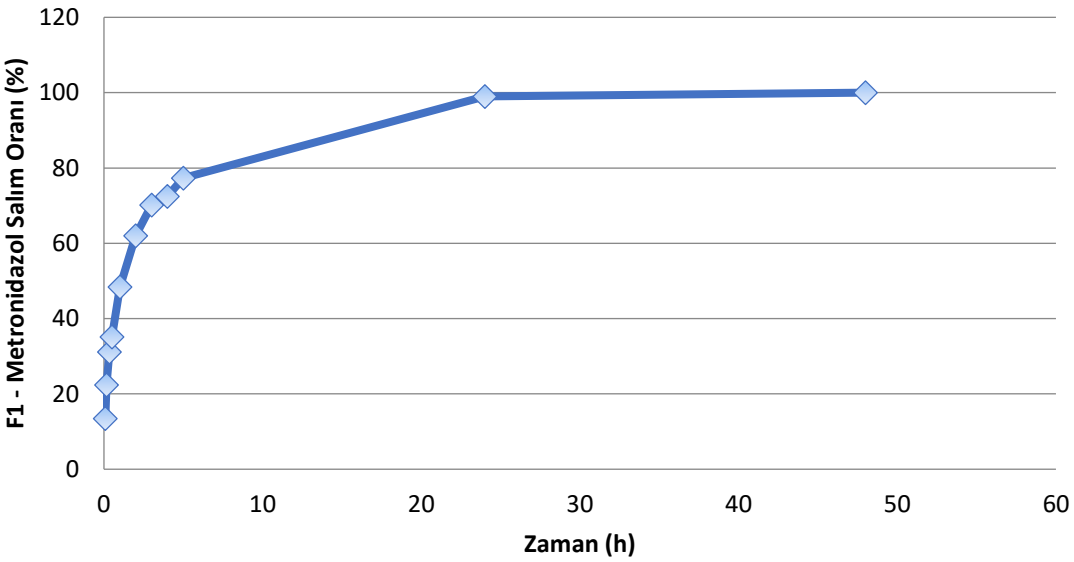
Tablo 4.6 F3 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde salım oranları

Zaman (h)	**Tetrasiklin** (%)	**Metronidazol** (%)
0,08	12,4	18,5
0,16	18,3	26,8
0,33	25,3	36,5
0,5	29,9	42,1
1	41,8	55,2
2	55,7	67,9
3	63,7	72,8
4	67,8	74,4
5	73,3	78,8
24	100	100

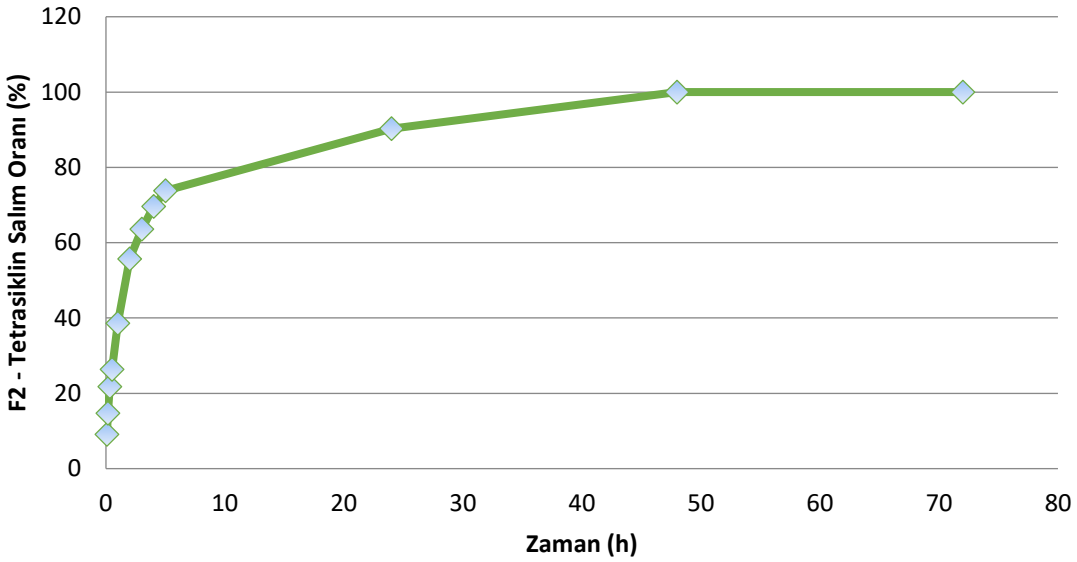
- Zamana karşı yüzde salım oranları grafiğe geçirildi.



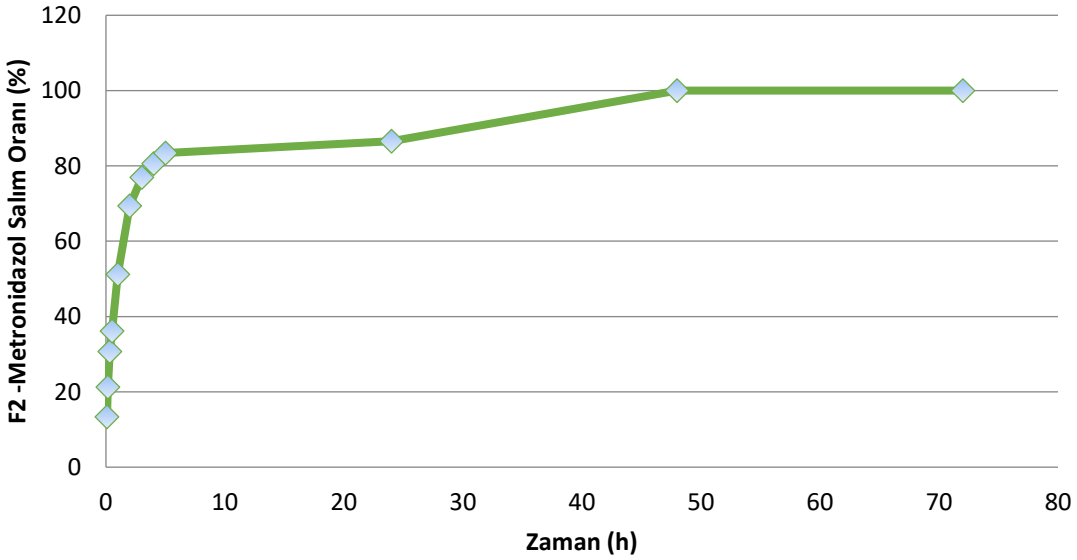
Şekil 4.21 F1 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde T salım oranı



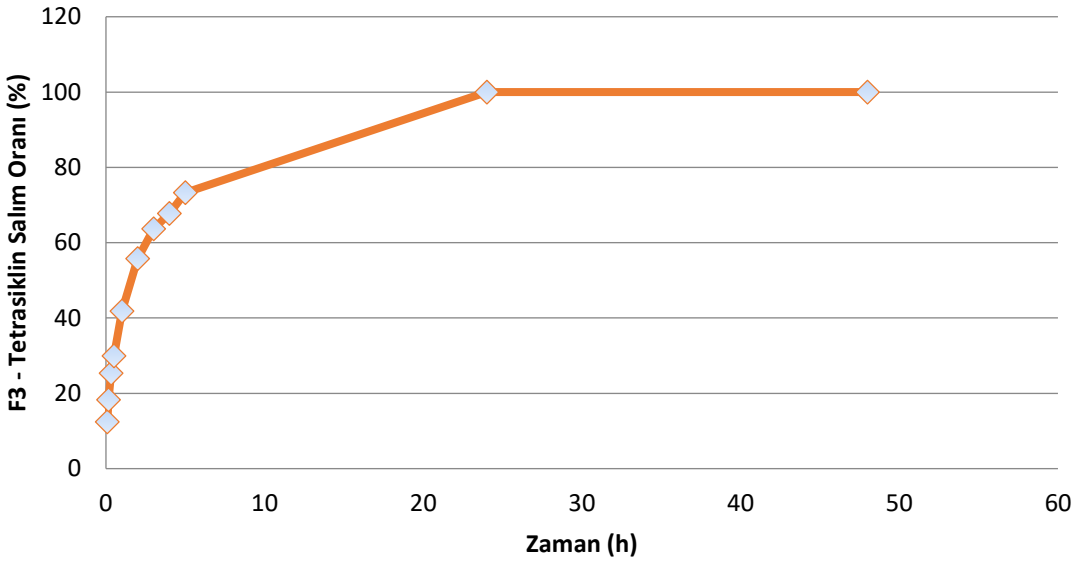
Şekil 4.22 F1 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde MZ salım oranı



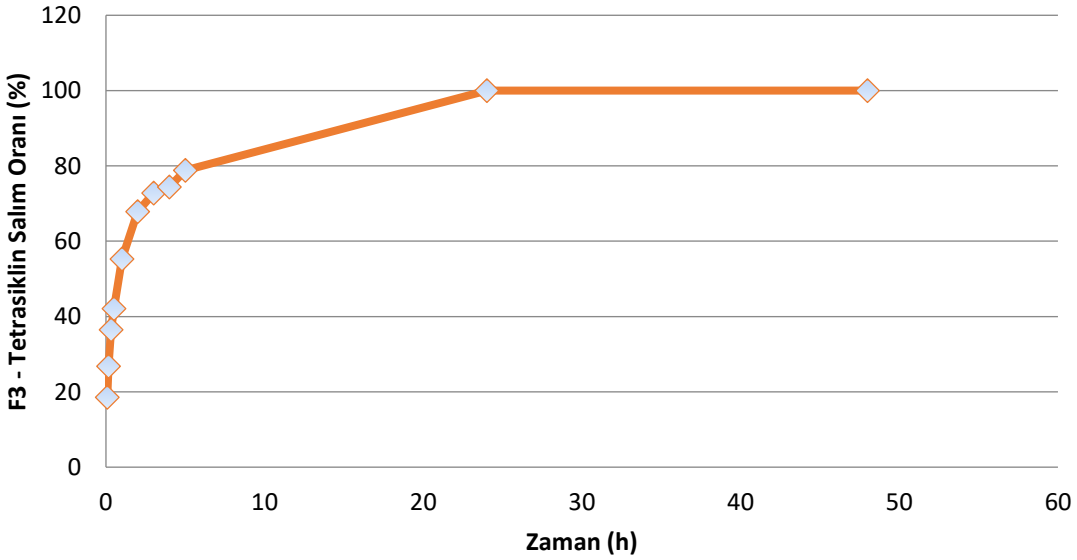
Şekil 4.23 F2 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde T salım oranı



Şekil 4.24 F2 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde MZ salım oranı



Şekil 4.25 F3 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde T salım oranı



Şekil 4.26 F3 formülasyonuna ait zamana karşı yüzde MZ salım oranı

4.1.4 Viskozite Analizleri

HA, MEL, T ve MZ yüklü F1, F2 ve F3 formülasyonlarının viskozitesi 50 ml numune hacmi kullanılarak ölçüldü. Ölçüm esnasında numunelerin sıcaklığı su banyosunda 25^{o}C'de sabit tutuldu. Ölçümler %10-100 tork güven aralığının sağlanması için numune viskozitelerine bağlı olarak 7 numaralı ölçüm ucu (spindle) kullanılarak 100 rpm'de yapıldı. Viskozitenin hesaplanması için beş değerin ortalaması alındı ve değerler mPa.s olarak kaydedildi.

Tablo 4.7 F1, F2 ve F3 formülasyonlarına ait viskozite değerleri

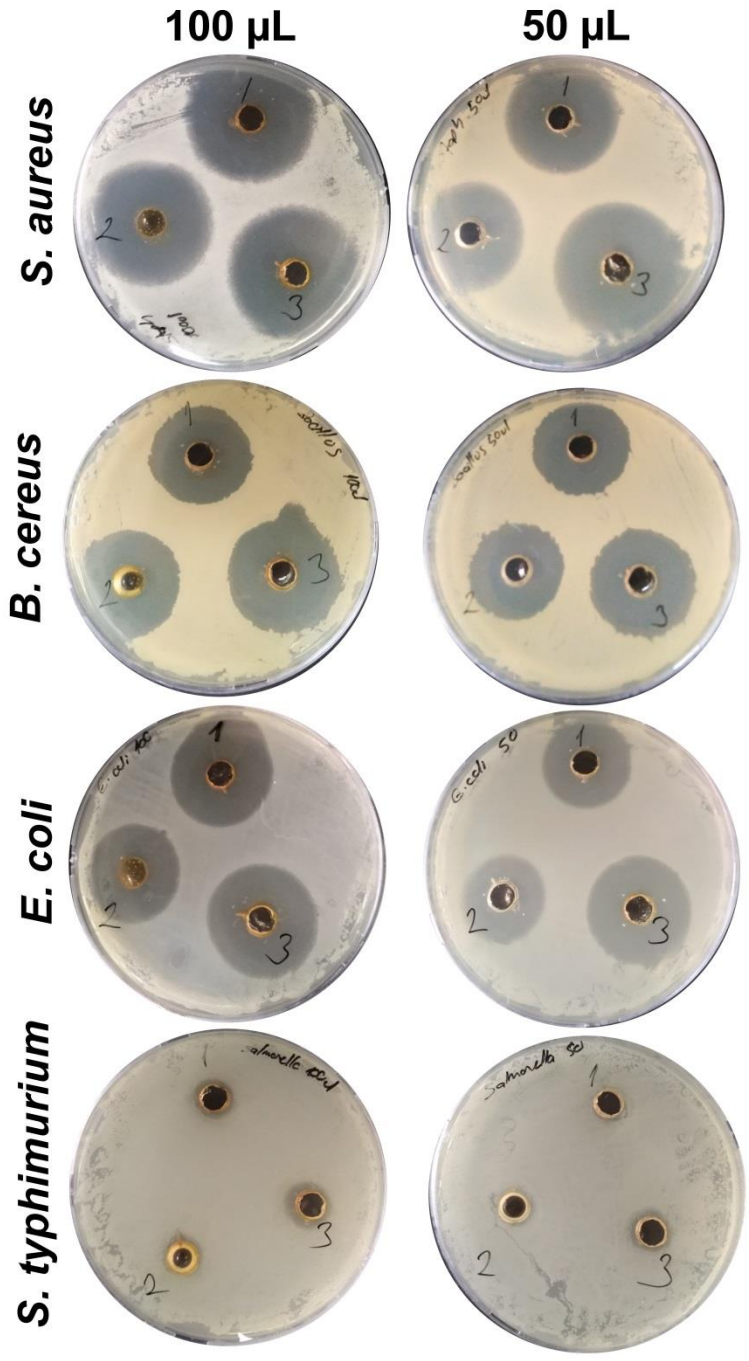
Formülasyon	Viskozite (mPa.s)
F1	15984
F2	14112
F3	3224

4.1.5 *In vitro* Antibakteriyel Analizler

HA, MEL, T ve MZ yüklü NaCMC çift fazlı F1, F2 ve F3 formülasyonlarının *in vitro* antibakteriyel testleri gram-pozitif *Bacillus cereus* (ATCC 11778) ve *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC 25923) ve gram-negatif *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) bakterileri ile yapıldı. Bakteriler % 20 gliserol içeren Nutrient Broth içerisinde −18°C'de muhafaza edildi.

Antibakteriyel aktivite, agar difüzyon test yöntemi ile gerçekleştirildi. Her bir bakteri izolatı Mueller Hinton Broth besiyeri bulunan tüplere aktarılarak 37^{o}C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında taze kültürler olarak kullanıldı. Bakteri başlangıç konsantrasyonu 0,5 Macfarland türbidite standardına (1,5 x 10^{8}) koloni oluşturan birimler KOB/ml'ye ayarlandı ve katyon ayarlı Mueller Hinton Agar plakalarına yayıldı. Bu işlemi takiben petriler üzerinde yaklaşık 7 mm çapında oyuklar açılarak ilgili malzemeler 50 ve 100 µl olmak üzere iki farklı konsantrasyonda açılan oyuklara ilave edilerek yarım saat kurumaya bırakıldı. Daha sonra inkübatöre yerleştirilen petriler 37^{o}C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonucunda oyuklar etrafında meydana gelen inhibisyon zon çapları milimetre olarak hesaplandı ve kaydedildi. Tüm deneyler üç tekrarlı biçimde gerçekleştirildi.



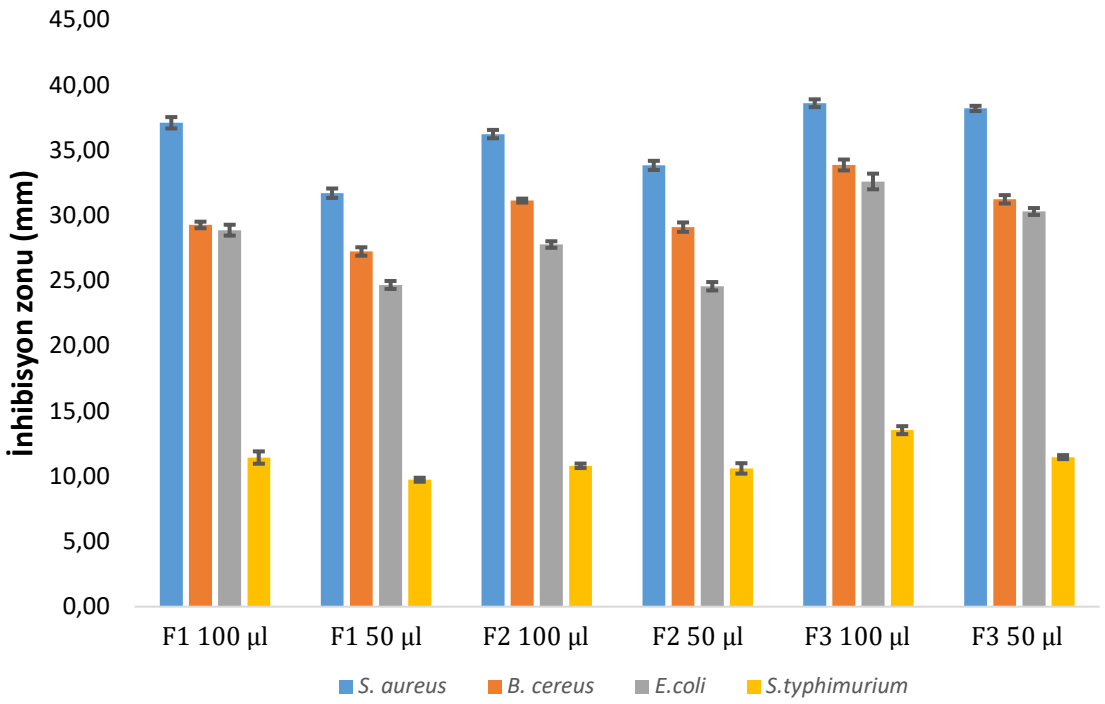
Şekil 4.27 F1, F2 ve F3 formülasyonlarının antibakteriyel analizleri

Tablo 4.8 F1, F2 ve F3 formülasyonlarının antibakteriyel aktivite sonuçları (mm)

	Gram pozitif		**Gram negatif**	
	S. aureus	***B. cereus***	***E. coli***	***S. typhimurium***
F1 100 µl	37,10	29,27	28,87	11,43
F1 50 µl	31,70	27,23	24,67	9,73
F2 100 µl	36,23	31,13	27,77	10,80
F2 50 µl	33,83	29,10	24,57	10,60
F3 100 µl	38,60	33,87	32,60	13,53
F3 50 µl	38,20	31,23	30,30	11,47

Tablo 4.9 F1, F2 ve F3 formülasyonlarının antibakteriyel aktivite sonuçlarının standart sapma değerleri (mm)

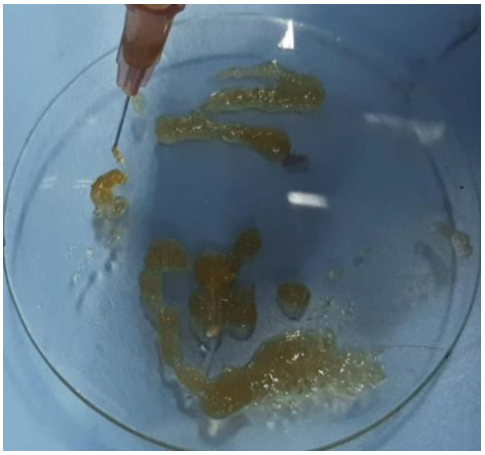
	Gram pozitif		**Gram negatif**	
	S. aureus	***B. cereus***	***E. coli***	***S. typhimurium***
F1 100 µl	0,44	0,25	0,42	0,47
F1 50 µl	0,36	0,32	0,31	0,15
F2 100 µl	0,32	0,15	0,25	0,17
F2 50 µl	0,35	0,36	0,32	0,40
F3 100 µl	0,30	0,42	0,60	0,31
F3 50 µl	0,20	0,32	0,26	0,15



Şekil 4.28 Formülasyonların bakterilere karşı göstermiş oldukları inhibisyon zonlarının grafikle gösterimi

4.1.6 Formülasyonlarının Enjekte Edilebilirlik Özelliklerinin Ölçülmesi

Formülasyonların pratikte uygulama kolaylığının araştırılması amacıyla 1ml'lik numuneler 0,4x13 mm (26-gauge) kalıbındaki iğneden geçirilerek enjeksiyon kolaylığı test edildi.



Şekil 4.29 Enjekte edilebilir jel görseli

4.2 Bulgular ve Öneriler

4.2.1 Hyaluronik Asit, Melatonin, Tetrasiklin ve Metronidazolün Sodyum Karboksimetil Selüloz Polimeri ile Etkileşiminin Değerlendirilmesi

Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'e bakıldığında 3.2.2'de anlatıldığı gibi MP1, MP2 ve MP3 kodlu NaCMC partikülleri ile hazırlanan jel ve solid formdaki boş çift fazlı yapıların; Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'ya bakıldığında ise 3.2.3'te anlatıldığı gibi HA, MEL, T ve MZ ile hazırlanan çift fazlı F1, F2 ve F3 formülasyonlarının FTIR spektrumları görülmektedir. FTIR spektrumlarında 3365,78, 3363,86 ve 3360,00 cm^{-1}'de görülen bantlar O-H gerilme titreşimlerine, 2800-3000 cm^{-1}'de görülen bantlar C-H germe titreşimlerine karşılık gelmektedir. 1643,35, 1639,49 ve 1637,56 cm^{-1}'deki karakteristik pikler asimetrik ve simetrik karboksilat titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. 1066,64, 1064,71 ve 1062,78 cm^{-1}'deki pikler ise C-O-C germe titreşimini temsil etmektedir. Jel ve solid hidrojel parçacıklarının oluşturduğu bu çift fazlı formülasyonların tüm FTIR analizlerinde suyun etkisi açıkça görülmektedir. NaCMC'nin sahip olduğu zayıf hidrojen bağları oldukça fazla su absorplamaktadır. Fonksiyonel grup bölgesi olan 1500-4000 cm^{-1} bölgesi içinde meydana gelen güçlü O-H bandı bunu göstermektedir.

HA, MEL, T ve MZ ile oluşturulan F1, F2 ve F3 formülasyonlarının FTIR spektrumları NaCMC içermeyen toz formların FTIR spektrumu ile karşılaştırıldığında (Şekil 4.7) parmak izi bölgesi olan 500-1500 cm^{-1} arasındaki bölgede formülasyonların içerdiği madde konsantrasyonuna göre meydana gelmesi gereken piklerin zayıf olduğu veya kapandığı görülmektedir. Bu durumun formülasyondaki su ve NaCMC'den kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.2 Jel Yapı ve Solid Hidrojel Partiküllerin Şekil ve Yüzey Morfolojilerinin Değerlendirilmesi

Jel yapı ve solid hidrojel partiküllerin şekil ve yüzey morfolojileri SEM analiziyle incelenmiştir. MP1, MP2 ve MP3 kodlu mikropartiküllerin ultra saf su ile birleştirilmesiyle elde edilen çift fazlı yapılar ve F1, F2 ve F3 kodlu HA, MEL, T ve MZ yüklü çift fazlı formülasyonlar, çift taraflı bant ile SEM cihazı aparatlarına sabitlenerek etüvde kurutulmuştur (Şekil 4.8). Ardından kaplama cihazında altın

ile kaplama yapılmıştır. Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'e bakıldığında 3.2.2'de anlatıldığı gibi MP1, MP2 ve MP3 kodlu mikropartiküllerin ultra saf su ile birleştirildiği yapıların jel ve solid formları, Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'e bakıldığında ise 3.2.3'te anlatıldığı gibi bu mikropartiküllerin HA, MEL, T ve MZ ile birleştirildiği F1, F2 ve F3 kodlu formülasyonların jel ve solid formları görülmektedir. MP1, MP2 ve MP3 mikropartiküllerinin hazırlanmasında NaCMC polimer oranı %6 olarak sabit tutulmuştur. Bu çalışmalarda formülasyon içindeki hidrojel partiküllerin morfolojisini belirleyen parametre çapraz bağlayıcı ajan olan sitrik asitin oranıdır. Örnekler etüvde kurutulduğu için formülasyonların jel formları yüzeye ince bir film gibi kaplanmıştır. Etüvde gerçekleşen kurutma işlemi filmlerde çatlaklar meydana getirmiştir. Şekil 4.9'da %1,2 sitrik asit oranıyla hazırlanan MP1 kodlu örneğin 100 µm yakınlığındaki görüntüye bakıldığında solid formdaki yapının içindeki suyu kaybettiği için büzüldüğü görülmektedir. Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de NaCMC'nin biyo-yapışkan özelliğinden dolayı partiküllerin agrege oldukları görülmektedir. Artan sitrik asit konsantrasyonuyla mikropartikül boyutları küçülmekte ve mikropartiküller daha belirgin hale gelmektedir. İlaç yüklü örneklerin 100 µm yakınlığındaki görüntülere bakıldığında ilaç moleküllerinin yoğun olarak agrege halde bulunan mikropartiküller içine ve üzerine adsorplandığı görülmektedir.

4.2.3 *In vitro* Salım Çalışmalarının Değerlendirilmesi

İlaç salım sistemlerinin *in vitro* salım analizleri, geliştirilen sistemlerin karakterizasyonu açısından oldukça önemli bir özelliktir. *In vivo* koşulların simüle edilmesiyle gerçekleştirilen *in vitro* salım çalışmaları ile salım sistemlerinin *in vivo* koşullardaki performansı tahmin edilmektedir. Geliştirilen çift fazlı formülasyonlar periodontal ceplerde salım yapma amacıyla tasarlandığı için çözücü ortamı olarak ultra saf su seçilmiştir. Hızlı ve kolay veri elde edilebilir bir yöntem olduğu için ilaç salım takibinde UV-Vis spektrofotometre cihazı tercih edilmiştir. *In vitro* salım takibi için F1, F2 ve F3 formülasyonlarının 1 ml'lik numuneleri üç diyaliz membranına aktarılmış ve örneklerin verdiği absorbans değerleri 5, 10, 20, 30 dakika, 1, 2, 3, 4 saat, 1, 2, 3 ve 4 gün zaman aralıklarında çözünme ortamlarından 1,5 ml numune alınarak takip edilmiştir. Çözücü ortamını korumak için ortama

aynı hacimde ultra saf su ilave edilmiştir. Örneklerin verdiği absorbans değerlerinden konsantrasyon değerlerine ulaşmak amacıyla 1 ml'lik numunelerin içerdiği HA, MEL, T ve MZ'nin konsantrasyon oranlarına paralel oranlarda saf standart çözeltiler hazırlanarak HA, MEL, T ve MZ'nin spektrum grafikleri çıkarılmıştır. Spektrum grafikleri yardımıyla MEL, T ve MZ'nin maksimum absorbans verdiği dalga boyu belirlenmiştir. HA'ya ait standart çözeltiler düzenli absorbans vermedikleri için spektrum grafiği çizilmemiştir. HA ve MEL'in formülasyonlar içindeki konsantrasyonları T ve MZ'ye göre çok düşük olduğu için F1, F2 ve F3 formülasyonlarından salımları takip edilememiştir. *In vitro* salım takibinde T konsantrasyonu teorik olarak 19,8 µg/ml, MZ konsantrasyonu 24,7 µg/ml olmalıdır. Deneysel verilere bakıldığında T'nin *in vitro* takibinde maksimum konsantrasyon; F1 formülasyonunda 21,86 µg/ml, F2 formülasyonunda 24,78 µg/ml, F3 formülasyonunda ise 24,74 µg/ml olarak hesaplanmıştır. MZ'nin *in vitro* takibinde maksimum konsantrasyon; F1 formülasyonunda 22,53 µg/ml, F2 formülasyonunda 26,36 µg/ml ve F3 formülasyonunda ise 26,10 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3). Formülasyonda bir arada bulunan T ve MZ antibiyotiklerinin verdikleri absorbans bantları geniş olduğu için birbirleriyle örtüşmekte ve konsantrasyon değerlerinde sapmalara neden olmaktadır. Bu nedenle; hesaplanan maksimum konsantrasyon değerlerinin %100 salım değerlerine eşit olduğu kabul edilerek, yüzde salım oranları hesaplanmıştır (Tablo 4.4, Tablo 4.5 ve Tablo 4.6). Bu verilere göre zamana karşı yüzde salım oranları grafiğe geçirilmiştir. T'nin 5. saatte F1 formülasyonundan salımı %64,2; F2 formülasyonundan salımı %73,8; F3 formülasyonundan salımı ise %73,2 oranında olmuştur. T'nin tamamı F1 ve F3 formülasyonundan 24 saatte, F2 formülasyonundan ise 48 saatte salınmıştır. MZ'nin 5. saatte F1 formülasyonundan salımı %77,3; F2 formülasyonundan salımı %83,4; F3 formülasyonundan salımı ise %78,8 oranında olmuştur. MZ'nin tamamı F1 ve F2 formülasyonundan 48 saatte, F3 formülasyonundan ise 24 saatte salınmıştır. Elde edilen verilere göre F2 formülasyonun F1 ve F3 formülasyonlarına göre daha kontrollü salım gerçekleştirdiği görülmüştür.

4.2.4 Viskozite Analizlerinin Değerlendirilmesi

Periodontal ceplerde kullanım amacıyla hazırlan jel yapıların viskozitesi dikkat edilmesi gereken en önemli kriterlerden biridir. Periodontal cepler, anatomik yapıları sebebiyle sınırlı miktarda bir ürün kabul etmektedir. Bu nedenle; uygulanacak jel yapıdaki ürünlerin viskozitesi uygulama sırasında bir enjektörden enjekte edilebilecek kadar düşük, periodontal bölgede iyi tutunacak ve ilaç salımını kontrol edebilecek kadar da yüksek bir değere sahip olmalıdır. Tablo 4.7'ye bakıldığında F1 formülasyonu; 15984 mPa.s, F2 formülasyonu; 14112 mPa.s ve F3 formülasyonu; 3224 mPa.s viskozite değerine sahiptir. Bu durum formülasyonları oluşturan NaCMC partiküllerinin üç farklı oranda sitrik asit (%1,2, %1,8 ve %2,4) ile çapraz bağlanmasından kaynaklanmaktadır. Asit varlığında NaCMC molekülünün karboksil grubunun içerisinde bulunan sodyum iyonu hidrojen ile yer değiştirmekte ve asit uzantısı olan –COOH oluşumu gözlenmektedir. Bu durumda CMC molekülünün zincir genişlemesi baskılanmakta, CMC molekülleri hidrojen bağları oluşturmak üzere toplanmaya başlamakta ve sonuçta jel yapısı açığa çıkmaktadır. Formülasyonlarda kullanılan sitrik asit konsantrasyonu arttıkça formülasyonların viskozite değerlerinde önemli bir düşüş meydana gelmektedir. Artan sitrik asit konsantrasyonu polimerdeki çapraz bağlanma oranını arttırmakta ve buna bağlı olarak su varlığında polimerin daha az şişmesi sonucu viskozite değeri düşmektedir. Yüksek vizkozite değeri ve daha kontrollü salım profili gösteren F2 formülasyonunun; hazırlanan üç formülasyon içinde periodontal uygulamalarda kullanım için en ideal formülasyon olduğu düşünülmektedir.

4.2.5 *In vitro* Antibakteriyel Analizlerin Değerlendirilmesi

HA, MEL, T ve MZ'den oluşan formülasyonların *in vitro* antibakteriyel analizleri gram-pozitif *Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ve gram-negatif *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium* bakterileri ile yapılmıştır. Agar difüzyon test yöntemi ile gerçekleştirilen analizler sonucunda; 100 ve 50 µl konsantrasyon denemelerinin ikisinde de bakteriler üzerinde en yüksek antibakteriyel etkiye sahip olan formülasyonun F3 formülasyonu olduğu görülmüştür (Tablo 4.8). %2,4 sitrik asit konsantrasyonunda hazırlanan MP3 mikropartikülleri ile HA, MEL, T ve MZ'nin birleştirilerek hazırlandığı F3

formülasyonunun antibakteriyel aktivitesini etkileyen parametrelerden birinin; T ve MZ antibiyotiklerinin ikisinin zamana karşı salımlarının F1 ve F2 formülasyonlarına göre daha hızlı gerçekleşmesi olduğu düşünülmektedir. F3 formülasyonunun antibakteriyel aktivitesini etkileyen bir diğer parametrenin ise; formülasyonun F1 ve F2 formülasyonlarına göre daha düşük bir viskozite değerine (3224 mPa.s) sahip olması olduğu düşünülmektedir. Sahip olduğu düşük viskozite değeri, formülasyonun besiyerlerindeki difüzyonunun daha hızlı olmasına ve antibakteriyel etkisini daha fazla göstermesine neden olmuştur. F1 ve F2 formülasyonlarının gösterdikleri antibakteriyel aktivitelerin birbirlerine yakın olduğu görülmektedir. Tüm formülasyonlar için 50 ve 100 µl konsantrasyon denemeleri incelendiğinde; bütün formülasyonların *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı çok yüksek aktivite gösterdiği ve *Salmonella typhimurium* bakterisine karşı ise sınırlı aktivite gösterdikleri görülmektedir. Diğer taraftan periodontal patojenler için MİK90 değerlerine bakıldığında; formülasyonların periodontopatojenleri inhibe etmede yeterli konsantrasyonu sağladığı düşünülmektedir (Tablo 2.1).

4.2.6 Formülasyonlarının Enjekte Edilebilirlik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Periodontal ceplerde kullanım amacıyla hazırlanan çift fazlı lokal salım sistemi formülasyonlarının enjeksiyon kolaylığı önemli bir parametredir. Hazırlanan formülasyonlar 0,4x13 mm (26-gauge) kalıbındaki iğneden aktarılarak enjekte edilebilirliği denenmiş ve formülasyonların kolayca enjekte edilebilir olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 4.29).

Tez çalışmasında; periodontal hastalıkların tedavisi amacıyla iyileştirici ajan olarak HA ve MEL, terapötik ajan olarak T ve MZ içeren sodyum karboksimetil selüloz tabanlı lokal bir salım sistemi geliştirilmiştir. Geliştirilen salım sistemi, fiziksel olarak jel formdadır ve solid hidrojel partikülleri içermektedir. Formülasyonların antibiyotik içeriği periodontopatojenler üzerinde etkili oldukları MİK90 değerleri incelenerek optimize edilmiştir. Bu çift fazlı formülasyonlar; HA, MEL, T ve MZ'yi 24-48 saatte salmaktadır. F1, F2 ve F3 formülasyonlarının *in vitro* salım analizleri değerlendirildiğinde F2 formülasyonunun 48 saate varan kontrollü salım profili ile

geliştirilen üç formülasyon içinde ideal formülasyona sahip olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda sahip olduğu 14112 mPa.s viskozite değeri ile periodontal ceplerde kullanıma uygun bir formülasyondur. *In vitro* antibakteriyel analizler incelendiğinde ise, formülasyonların seçilen bakterileri inhibe etmede yeterli antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları görülmektedir.

Sonuç olarak; geliştirilen lokal salım sisteminin fiziksel ve kimyasal özellikleri FTIR spektroskopisi, SEM analizleri, UV-VIS spektrofotometre ve viskozimetreyle; mikrobiyolojik etkinliği ise antibakteriyel analizlerle değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, tasarlanan lokal salım sisteminde kullanılan bileşenler kendilerine özgü özelliklerini formülasyon içinde de korumaktadır. Tasarımın periodontal hastalıkların lokal tedavisini sağlamakta etkili olacağı öngörülmektedir.

Öneriler;

- Bu çalışmada sodyum karboksimetil selüloz polimeri kullanılarak biyouyumlu bir lokal salım sistemi geliştirilmiştir. İlaç salım süresinin uzatılması için sodyum karboksimetil selüloz polimerine ek olarak farklı doğal polimer kombinasyonlarıyla yeni bir salım sistemi geliştirilebilir.
- Formülasyonda iyileştirici ajan olarak yer alan hyaluronik asit ve melatoninin etkinliğinin değerlendirilmesi için rejenerasyon deneyleri planlanabilir.
- UV-Vis spektrofotometre ile takibi yapılamayan hyaluronik asit ve melatoninin formülasyon içindeki takibinin floresans spektrofotometre ile yapıldığı çalışmalar yürütülebilir.
- Bu çalışmada yüzde oranı olarak hesaplanan ilaç salım değerlerinin *in vitro* ilaç salım kinetiklerine uygunluğu değerlendirilmelidir.
- Geliştirilen lokal salım sisteminin *in vivo* salım çalışmaları planlanmalıdır.
- *In vivo* salım çalışmalarından elde edilen verilere göre formülasyon içindeki antibiyotik konsantrasyonları tekrar optimize edilmelidir.

Kaynakça

[1] A. Ramesh, A. P. Prakash, and B. Thomas, “Local drug delivery in periodontal diseases. A review,” Nitte University Journal of Health Science, vol. 6, no. 1, pp. 74–79, 2016.

[2] J. N. Dusane, V. Mogal, P. Borse, P. Thakare, and S. Kshirsagar, “Recent trends in treatment of periodontitis,” Pharmaceutical and Biological Evaluations, vol. 3, no. 1, pp. 19–31, 2016.

[3] M. A. Nazir, “Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention,” International Journal of Health Sciences, vol. 1, no. 2, pp. 72–80, 2017.

[4] C. Popova, V. Dosseva-Panova, and V. Panov, “Microbiology of Periodontal Diseases. A review,” Biotechnology & Biotechnology Equipment, vol. 27, no. 3, pp. 3754–3759, 2013.

[5] K. Kriebel, C. Heike, B. Müller-Hilke, M. Nakata, and B. Kreikemeyer, "Oral biofilms from symbiotic to pathogenic interactions and associated disease-connection of periodontitis and rheumatic arthritis by peptidylarginine deiminase,” Frontiers in Microbiology, vol. 9, 2019.

[6] R. Maurya, M. P. Singh, and K. M. Kymonil, “Formulation and Evaluation of Moxifloxacin Microsprehes Implant for Intra-Periodontal Pockets,” International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, vol. 10, no. 8, pp. 3891–3897, 2019.

[7] M. Chavan, S. Nikam, and A. Hhanore, “Microsponge drug delivery for periodontitis: A review,” World Journal of Pharmaceutical Research, vol. 7, no. 17, pp. 970–679, 2018.

[8] S. Pragati, S. Ashok, and S. Kuldeep, “Recent advances in periodontal drug delivery systems,” International Journal of Drug Delivery, vol. 1, no. 1, pp. 1–14.

[9] M. M. Mathew, J. Joseph, and V. VC, “Periodontitis-Disease and treatment-A review,” International Journal pf Pharmaceutical and Chemical Science, vol. 3, no. 3, pp. 791–800, 2014.

[10] T. Secerli Dürer, “Periodontal Hastalıklar,” Journal of Complementary Medicine,” Regulation and Neural Theraphy, vol. 8, no. 1, pp. 34–37, 2014.

[11] M. S. Tonetti, H. Greenwell, and K. S. Kornman, “Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classfication and case definition,” Journal of Clinical Periodontology, vol. 45, pp. 149–161, 2018.

[12] J. G. Caton, G. Armitage, T. Berglundh, I. L. C. Chapple, S. Jepsen, K. S. Kornman, B. L. Mealey, P. N. Papapnou, M. Sanz, and M. S. Tonetti, “A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions –

Introduction and key changes from the 1999 classification," Journal of Clinical Periodontology, vol. 45, pp. 1–8, 2018.

[13] D. F. Kinane, P. G. Stathopoulou, and P. N. Papapnou, "Periodontal Diseases," Nature Reviews Disease Primers, vol. 3,no. 17038, 2017.

[14] S. P. Vyas, V. Sihorkar, and V. Mishra, "Controlled and targeted drug delivery strategies towards intraperiodontak pocket diseases," Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics, vol. 25, no. 1, pp. 21–42, 2000.

[15] D. L. Pihlstrom, B. S. Michalowics,and N. W. Johnson, "Periodontal diseases," The Lancet, vol. 366, pp. 1809–1820, 2005.

[16] F. İpek, and K. Gül, "Kronik periodontitisin klasik mekanik tedavisine ek olarak sistemik metronidazol uygulamanın klinik ve mikrobiyolojik etkilerinin incelenmesi," Dicle Tıp Dergisi, vol. 34, no. 3, pp. 203–210, 2007.

[17] P. Gümüş, and N. Buduneli, "Antibiyotikler periodontal tedavide ne zaman ve nasıl kullanılmalı?," Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, vol. 3, no. 2, pp. 122–125, 2017.

[18] J. M. Goodson, "Antimicrobial strategies for treatment of periodontal diseases," Periodotology 2000, vol. 5, pp. 142–168, 1994.

[19] A. C. M Veloo, K. Seme, E. Raangs, P. Rurenga, Z. Singadji, G. Wekema-Mulder and A. J. Van Winkelhoff, "Antibiotic susceptibility profiles of oral pathogens," International Journal of Antimicrobial Agents, vol. 40, no. 5, pp. 450–454, 2012.

[20] A. Apon, and P. Kamble, "Systemic vs local drug delivery systems in the treatment of periodontal diseases - A review," pp. 1–15, 2004.

[21] E. Ö. Çetin, "Periodontal hastalıkların tedavisinde kullanılan lokal kontrollü salım sistemlerinin incelenmesi," Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, 2008.

[22] G. Singh, S. Kaur, and S. T. Singh, "Local drug delivery in periodontics: A review," Journal of Periodontal Medicine Clinical Practice, vol. 1, no. 3, pp. 272–284, 2014.

[23] D. Joshi, T. Garg, A. K. Goyal, and G. Rath, "Advanced drug delivery approaches against periodontitis," Drug Delivery, vol. 23, no. 2, pp. 363–377, 2014.

[24] S. Verma, M. Kaul, A. Rawat, and S. Saini, "An overview on buccal drug delivery system," International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, vol. 2, no. 6, pp. 1303–1321, 2011.

[25] N. Erdöl Aydın, "Hidroksiapatit - jelatin ve hidroksiapatit - kitosan biyokompozitlerin yapay vücut sıvısı ortamında üretimi sırasında 5-FU ilacının yüklenmesi ve ilaç salım çalışmaları," Journal of Science and Technology, vol. 11, no. 3, pp. 587–605, 2018.

[26] A. G. Akkan, "Farmakokinetik/Farmakodinamik Temel Tanımlar," ANKEM Dergisi, vol. 28, pp. 82–85, 2014.

[27] N. Gupta, "Development and characterization of dental films containing tetracycline HCL for periodontitis," Yüksek Lisans Tezi, University of Georgia, 2004.

[28] H. R. Rajeshwari, D. Dhamecha, S. Jagwani, M. Rao, K. Jadhav, S. Shaikh, L. Puzhankara, and S. Jalalpure, "Local drug delivery systems in the management of periodontitis: A scientific review," Journal of Controled Release, vol. 307, no. 17, pp. 393–409, 2019.

[29] S. N. Rashidah, H. Ismail, R. Rajabalaya, S. R. David, and J. S. Dhaliwal, "Current status of local drug delivery systems in the treatment of periodontal diseases," Journal of Dental and Maxillofacial Research, vol. 2, no. 3, pp. 1–5, 2019.

[30] M. Casale, A. Moffa, P. Vella, L. Sabatino, F. Capuano, B. Salvinelli, M. A. Lopez, F. Carinci, and F. Salvinelli, "Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review," International Journal of Immunopathology and Pharmacology, vol. 29, no. 4, pp. 572–582, 2016.

[31] C. E. Schante, G. Zuber, C. Herlin, and T. F. Vandamme, "Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications," Carbohydrate Polymers, vol. 85, no. 3, pp. 469–489, 2011.

[32] G. Gontiya, and R. Galgali, "Effect of hyaluronan on periodontitis: A clinical and histological study," Journal of Indian Society of Periodontology, vol. 16, no. 2, pp. 184–192, 2019.

[33] P. Dahiya, and R. Kamal, "Hyaluronic acid: A boon in periodontal theraphy," North American Journal of Medical Sciences, vol. 5, no. 5, pp. 309–315, 2013.

[34] O. Çakır, H. O. Kazancıoğlu, and G. Ak, "Diş hekimliğinde Hyaluronik asidin yeri", İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, vol. 45, no. 1, pp. 37–41, 2011.

[35] S. Sukumar, and I. Drizhal, "Hyaluronic acid and Periodontitis," ACTA Medica, vol. 50, no. 4, pp. 225–228, 2007.

[36] M. Sankari, and S. S. Meenakshi, "Melatonin in periodontal diseases:A review," Biomedical & Pharmacology Journal, vol. 12, no. 1, pp. 3–6, 2019.

[37] G. Gomez-Moreno, J. Guardia, M. J. Ferrera, A. Cutando, and R. J. Reiter, "Melatonin in diseases of the oral cavity," Oral Diseases, vol. 16, pp. 242–247, 2009.

[38] S. M. Cristache, E. E. Totu, G. Tanase, A. C. Nechifor, D. Petre, and M. Burlibasa, "Innovative complex formulation as topical treatment for oral health improvment in periodontal diseases," Revista De Chime, vol. 70, no. 7, pp. 2485–2490, 2018.

[39] S. Najeeb, Z. Khurshid, S. Zohaib, and M. D. Zafar, "Therapeutic potential of melatonin in oral medicine and periodontology," The Kaohsiung Journal of Medical Sciences, vol. 32, pp. 391–396, 2016.

Tezden Üretilmiş Yayınlar

İletişim Bilgisi: aysenurertunc@gmail.com

Konferans Bildirileri

1. A. Ertunc and I. Isildak, “A New Carboxymethyl Cellulose-Based Local Delivery System for Local Topical Treatment of Periodontitis,” 1st International Conference on Preventive Medicine, Poster Presentation, pp. 102–103, 2019, Antalya.