

EFFECT OF THE ACTIVATION TIME OF PLATELET RICH PLASMA AND COLLAGEN ON THE LEVELS OF FIBROBLAST GROWTH FACTOR IN GINGIVAL CREVICULAR FLUID

Adisty Restu Poetri*, Kwartarini Murdiastuti**, Sudibyo**

* Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung

** Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada

Correspondence: adistyrestupoetri@unissula.ac.id

Keywords:

Platelet rich plasma;
Collagen; Fibroblast
growth factor; Gingival
Crevicular Fluid; Gingival
recession

ABSTRACT

Background: Gingival recession is a condition that occurs when the gingival margin is more apically than the cemento-enamel junction and causes the tooth root to open, so a root closure procedure is required. Platelet rich plasma (PRP) contains growth factors, including Fibroblast growth factor which plays a role in the process of angiogenesis and cell proliferation. The activation time is known to affect platelet count and FGF expression. The purpose of this study was to determine the effect of the activation time of platelet rich plasma and collagen on the expression of fibroblast growth factor in the gingival crevicular fluid

Method: The research sample was gingival crevicular fluid which was taken using paper point #30 for 30 seconds as many as 18 samples. Samples were taken before surgery, day 5 and day 7 after surgery. The samples were divided into 2 groups based on the activation time, 1 hour and 24 hours PRP-collagen. Changes in FGF levels were examined using ELISA. Repeated Measure ANOVA test was conducted to compare the differences in each time observation and post hoc was performed to compare the differences between groups for each time observation.

Result: There was no significant difference in FGF levels in the gingival crevicular fluid at each time and between groups.

Conclusion: There was no effect of the activation time of platelet rich plasma and collagen on the levels of fibroblast growth factor in gingival crevicular fluid

PENDAHULUAN

Resesi gingiva adalah kondisi yang muncul ketika margin gingiva berada lebih ke apikal dari *cemento-enamel junction* (CEJ) sehingga menyebabkan akar gigi terbuka^{1,2}. Resesi gingiva menimbulkan masalah fungsional dan estetik karena insiden terjadinya karies akar, kehilangan perlekatan periodontal dan gigi hipersensitif menjadi lebih tinggi. Bagi pasien resesi gingiva perlu diobati karena menimbulkan masalah estetik. Estetik telah menjadi bagian tak terpisahkan dari terapi gigi dan mulut, sehingga prosedur penutupan

akar pada permukaan akar gigi mendapat perhatian³.

Berbagai teknik penutupan akar dikelompokkan menjadi *pedicle flap* dan *free soft tissue grafts*, tetapi dari teknik penutupan akar tersebut belum diperoleh jaringan ikat yang cukup dan terjadi pembentukan *long junctional epithelia*⁴. Perlekatan jaringan ikat sesuai histologisnya pada gigi yang mengalami resesi saat ini menjadi tujuan utama sehingga hasil akhir perawatan penutupan akar diharapkan bukan

hanya perbaikan jaringan tetapi terjadi regenerasi jaringan⁵.

Petrunaro (2001) memaparkan penggunaan *Platelet Rich Plasma* (PRP) dapat meningkatkan terjadinya regenerasi jaringan pada prosedur perawatan akar. Penggunaan PRP untuk membantu penyembuhan jaringan sudah sering digunakan dalam tindakan bedah, antara lain bedah kepala dan leher, otolaringologi, bedah kardiovaskular dan bedah maksilofasial serta pada berbagai tindakan bedah gigi dan mulut⁶. Sediaan PRP memiliki banyak *growth factors* yang diperlukan dalam penyembuhan luka, baik jaringan keras ataupun jaringan lunak^{6,7}. Penggunaan PRP dapat meningkatkan regenerasi periodontal karena kemampuan PRP untuk menghambat migrasi sel epitel sehingga membatasi terbentuknya long junctional epithelium⁸.

Albanesse dkk. (2013) mengungkapkan PRP dapat meningkatkan efek positif ketika dikombinasikan dengan bahan cangkok tulang untuk perawatan periodontal dengan kerusakan infraboni. Masih belum ditemukan keuntungan yang signifikan mengenai penggunaan PRP untuk perawatan resesi gingiva. *Platelet rich plasma* memiliki sifat mudah larut dalam air sehingga perlu adanya membran sebagai pembawa. Adanya permasalahan tersebut menyebabkan munculnya penelitian secara *in vitro* mengenai penggunaan kolagen yang dikombinasikan dengan PRP^{9,10}.

Hasil penelitian secara *in vitro* menunjukkan penambahan kolagen pada PRP merupakan alternatif yang aman dan efektif, selain berfungsi merangsang pelepasan *growth factors* dari granula platelet, kolagen meningkatkan konsistensi PRP menjadi gelasi sehingga lebih mudah diaplikasikan dan mampu mengurangi retraksi bekuan PRP. Penemuan ini menjadi penting dalam kaitan penggunaan kolagen sebagai scaffold^{9,10}.

Kegunaan penggunaan kolagen dalam perawatan resesi gingiva yaitu mengontrol perdarahan, stabilisasi jendalan darah, melindungi area yang luka, menyediakan matriks untuk tempat pertumbuhan jaringan dan terabsorpsi penuh dalam kurun waktu 10–14 hari serta digunakan sebagai bahan pembawa PRP³. Kemampuan potensial PRP dalam suatu terapi bergantung pada kadar *growth factors* yang dilepaskan oleh platelet dan terdapat korelasi antara jumlah platelet dengan kadar *growth factors*¹¹.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Naik dkk. menunjukkan adanya peningkatan jumlah platelet 4 kali lebih banyak pada kolagen yang direndam dalam PRP selama 1 jam sebelum operasi dibandingkan dengan jumlah platelet pada baseline. Penelitian yang dilakukan oleh Harrison dkk. menunjukkan adanya peningkatan *growth factors* pada PRP yang diaktivasi kolagen dengan inkubasi 24 jam. *Platelet Rich Plasma* serelah diaktivasi dengan kolagen selama 24 jam, terjadi pelepasan *growth factors* hingga 5 kali lipat^{9,10}.

Beberapa *growth factors* berperan saat proses proliferasi, yaitu *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF). Dari *growth factors* yang berperan pada fase proliferasi, FGF merupakan salah satu *growth factors* yang baru berperan saat fase proliferasi dimulai¹². Pada fase proliferasi, FGF berperan dalam memicu proliferasi fibroblas dan meningkatkan angiogenesis^{12,13}.

Fibroblast growth factor dikenal sebagai sitokin multifungsi yang berpartisipasi dalam proses penyembuhan luka, proliferasi sel dan apoptosis¹⁴. Hasil penelitian mengenai FGF menunjukkan banyak manfaat pada pengobatan regenerasi, penelitian menunjukkan FGF memfasilitasi reaksi yang dibutuhkan untuk revaskularisasi, migrasi,

proliferasi sel endotel dan regenerasi pembuluh darah kapiler¹³. Penelitian yang dilakukan Tanimoto dkk. (2013) menunjukkan aktivitas proliferasi yang lebih tinggi pada fibroblas yang diberi tambahan FGF dan puncak proliferasi juga terjadi lebih awal, dari hari ke-5 menjadi hari ke-7 dengan adanya penambahan FGF¹⁴.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu aktivasi *platelet rich plasma* dengan kolagen terhadap kadar FGF cairan sulkus gingiva.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental semu, yaitu penelitian yang dilakukan dengan memberikan perlakuan pada subjek penelitian kemudian dilakukan pengamatan secara laboratoris di bagian Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Subjek penelitian adalah pasien yang datang ke klinik periodonsia RSGM Prof. Soedomo FKG UGM Yogyakarta, dengan kriteria resesi gingiva kelas I dan II Miller dan bersedia menyetujui dan menandatangani *informed consent*. Pasien yang merokok atau peminum alkohol, memiliki penyakit sistemik dan tidak bersedia mengikuti penelitian hingga selesai tidak diikuti sertakan dalam penelitian.

Penelitian dilakukan dengan pengambilan cairan sulkus gingiva menggunakan *paper point*. Sampel dalam penelitian terdiri dari 20 sampel yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu:

a. Kelompok I: Kelompok I, dilakukan bedah flap dengan aplikasi PRP yang telah diaktivasi kolagen selama 1 jam.

b. Kelompok II: Kelompok II, dilakukan bedah flap dengan aplikasi PRP yang telah diaktivasi kolagen selama 24 jam

Sampel diambil pada hari ke-0, hari ke-5 dan hari ke-7. *Ethical Clearance*, keterangan kelayakan

etik didapatkan dengan mengajukan usulan penelitian kepada komisi etik kedokteran gigi. Selanjutnya dilakukan persiapan penelitian, yaitu mempersiapkan formulir penelitian, ijin penelitian di RSGM Prof. Soedomo FKG UGM dan Biologi Molekuler FK UGM, serta mempersiapkan *informed consent*.

Pengambilan sampel dari CSG untuk data baseline, dilakukan sebelum tindakan bedah periodontal. Plak supragingiva dihilangkan dengan *cotton pellet* dan gigi yang akan diambil CSG dikeringkan dengan udara sebelum dilakukan pengambilan sampel. *Paper point* (no 30) dimasukkan ke dalam sulkus sebanyak 1 mm atau hingga dirasa ada tahanan selama 30 detik. *Paper point* kemudian dimasukkan ke dalam tabung ependorf yang berisi 300 μ L saline¹⁵. Sampel disimpan pada suhu -80°C sampai dilakukan pemeriksaan kadar FGF menggunakan ELISA.

Persiapan PRP: Darah diambil dari vena antekubital ke dalam vacutainer yang berisi 3,8% antikoagulan sodium sitrat sebanyak 10 ml. Sentrifugasi dilakukan sebanyak dua kali untuk memisahkan dan memperoleh platelet. Putaran pertama, darah disentrifugasi pada 2400 rpm selama 10 menit untuk memisahkan sel darah merah dengan bagian darah yang lain (sel darah putih, platelet, dan plasma) dengan lapisan tipis putih diantaranya yang dikenal sebagai *buffy coat*, yang mengandung konsentrasi platelet tertinggi. Plasma dan *buffy coat* diambil dengan pipet dan dimasukkan ke dalam tabung terpisah lalu disentrifugasi dengan 3600 rpm selama 15 menit dan pada putaran kedua dihasilkan dua fragmen yang terpisah. Lapisan darah adalah PRP yang dilapisi cairan supernatan *platelet poor plasma* (PPP), PPP diambil dengan pipet lalu dimasukkan ke tabung terpisah dan PRP digunakan dalam penelitian. Penyimpanan PRP pada suhu -20°C^{16,17}.

Prosedur terapi bedah flap dengan diberi PRP dan kolagen dilakukan pada kelompok aktivasi 1 jam dan aktivasi 24 jam. Anestesi yang digunakan adalah anestesi lokal, infiltrasi pada daerah operasi setelah daerah operasi di desinfeksi. Insisi *full thickness* flap vertikal di mesial dan distal serta sulkular gigi yang resesi. Flap dielevasi dan dilakukan *debridement* dengan SRP (Scaling Root Planing) dan kuretase. PRP yang telah diaktivasi dengan kolagen diaplikasikan pada daerah resesi. Kemudian flap dikembalikan, dijahit dengan *matress* vertikal dan interrupted menggunakan benang *absorbable*. Pasien diberi antibiotik amoxicilin 500 mg selama 7 hari, pasien juga diberi analgetik dan antiinflamasi.³ Setelah perawatan, dilakukan pengambilan CSG (Cairan Sulkus Gingiva) untuk sampel hari ke-5 dan ke-7 setelah tindakan bedah. Sampel disimpan pada suhu -80°C sampai dilakukan pemeriksaan kadar FGF menggunakan ELISA.

Perhitungan kadar FGF dilakukan dengan Elisa Kit FGF (RnD Quantikine dfb50) dan hasilnya

dibaca menggunakan microplate reader. Prosedur pengerjaan Elisa sesuai dengan manual yang disertakan dalam Elisa Kit. Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan metode statistika uji *repeated measure ANOVA* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$. Uji *post hoc* digunakan untuk analisis data antar kelompok, data tiap pengamatan waktu dan perbedaan antar kelompok terhadap tiap pengamatan waktu. Pengelolaan data menggunakan program statistik SPSS.artikel.

HASIL PENELITIAN

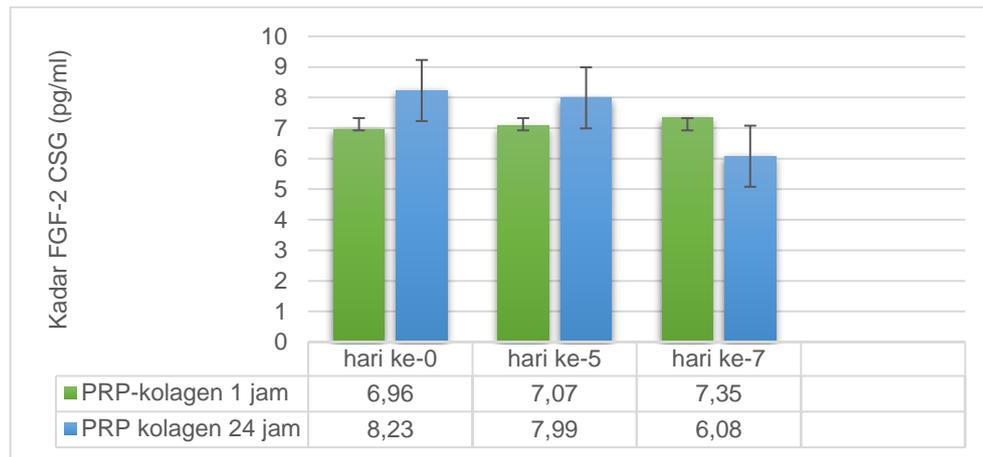
Angka yang terbaca adalah nilai absorbansi yang mewakili densitas optik warna masing-masing sampel. Sampel akan berubah warna menjadi kuning setelah diberi reagen dan diinkubasi selama 30 menit. Perubahan inilah yang dibaca menggunakan *microplate reader*. Data hasil penelitian selanjutnya diolah dengan menggunakan uji statistik.

Tabel 1. Rerata dan standar deviasi kadar FGF cairan sulkus gingiva (pg/ml)

Kelompok	N	Hari ke-0	Hari ke-5	Hari ke-7
PRP-Kolagen 1 jam	9	6,96 ± 1,49	7,07 ± 2,05	7,35 ± 2,35
PRP-Kolagen 24 jam	9	8,23 ± 1,28	7,99 ± 1,51	6,08 ± 2,82

Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui rerata kadar FGF pada kelompok dengan lama aktivasi 1 jam terus mengalami kenaikan hingga hari ke-7, sebaliknya pada kelompok dengan lama aktivasi 24 jam kadar FGF terus menurun hingga hari ke-7.

Gambar 1 menunjukkan rerata kadar FGF cairan sulkus gingiva mulai hari ke-0 kelompok aktivasi 1 jam 6,96 pg/ml, 7,07 pg/ml dan 7,35 pg/ml. Rerata kadar FGF cairan sulkus gingiva mulai hari ke-0 kelompok aktivasi 24 jam adalah 8,23 pg/ml, 7,99 pg/ml dan 6,08 pg/ml



Gambar 1. Grafik rerata kadar FGF cairan sulkus gingiva kelompok PRP-kolagen aktivasi 1 jam dan 24 jam (pg/ml)

Uji *repeated measure* ANOVA dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan kadar FGF cairan sulkus gingiva antara kelompok perlakuan yang diberi aplikasi PRP setelah aktivasi

menggunakan kolagen selama 1 jam dan 24 jam pada setiap waktu pengamatan (hari ke-0, hari ke-5 dan hari ke-7) serta pada kelompok perlakuan

Tabel 2. Hasil *uji repeated measure* ANOVA kadar FGF cairan sulkus gingiva setelah aplikasi PRP-kolagen

Kelompok	Signifikansi	Keterangan
Waktu	0,544	$p > 0,05$
Waktu*Perlakuan	0,307	$p > 0,05$

Tabel 2 menunjukkan berdasar variasi waktu pengamatan tidak terdapat perbedaan kadar FGF cairan sulkus gingiva yang bermakna dengan nilai signifikansi 0,544 ($p > 0,05$). Tabel 2 juga menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna kadar FGF cairan sulkus gingiva pada interaksi waktu dengan kelompok perlakuan dengan nilai signifikansi 0,307 ($p > 0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna kadar FGF pada cairan sulkus gingiva baik setelah aplikasi PRP-kolagen yang diaktivasi 1 jam ataupun PRP-kolagen yang diaktivasi 24 jam pada setiap waktu pengamatan (hari ke-0, hari ke-5 dan hari ke-7):.

DISKUSI

Tabel 1 menunjukkan hasil penelitian mengenai pengaruh waktu aktivasi PRP dengan kolagen terhadap kadar FGF cairan sulkus gingiva pada terapi resesi gingiva menunjukkan ada perbedaan angka kadar FGF antara kedua kelompok. Gambar 1 menunjukkan pada kelompok PRP yang diaktivasi kolagen selama 1 jam mengalami peningkatan kadar FGF meskipun secara statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan, sebaliknya grafik kadar FGF pada kelompok PRP yang diaktivasi kolagen selama 24

jam cenderung menurun dan secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan dari setiap waktu pengamatan.

Tabel 2 menunjukkan hasil statistik pada penelitian bahwa hipotesis awal ditolak, yaitu PRP dengan kolagen selama 24 jam tidak meningkatkan kadar FGF CSG dibanding aktivasi selama 1 jam pada terapi resesi gingiva. Hipotesis ditolak karena hasil analisis data secara statistik pada tiap waktu pengamatan dan antar kelompok menunjukkan nilai signifikansi $p > 0,05$.

Tabel 1 menunjukkan angka kadar FGF CSG hari ke-5 pada kelompok dengan aktivasi 24 jam lebih tinggi dibanding kelompok dengan aktivasi 1 jam, hal tersebut menunjukkan jumlah platelet yang menempel pada kolagen dengan lama aktivasi 24 jam lebih banyak. Konsentrasi platelet yang tinggi menghasilkan pelepasan GF yang lebih tinggi dan kemampuan potensial PRP dalam suatu terapi bergantung pada kadar *growth factors* yang dilepaskan oleh platelet dan terdapat korelasi antara jumlah platelet dengan kadar *growth factors*. Semakin tinggi jumlah platelet maka konsentrasi FGF yang dilepaskan akan semakin tinggi dan sebaliknya semakin rendah jumlah platelet maka konsentrasi FGF yang dilepaskan akan semakin sedikit^{10,11}.

Angka kadar FGF CSG pada tabel 2 menunjukkan bahwa hari ke-7 kelompok aktivasi 24 jam lebih rendah dibanding kelompok aktivasi 1 jam, adanya perbedaan rerata tersebut menunjukkan bahwa pelepasan FGF pada kelompok dengan lama aktivasi 1 jam terjadi lebih bertahap dan berlangsung dalam waktu yang lebih lama, sedangkan pada kelompok dengan lama aktivasi 24 jam terjadi pelepasan yang tinggi di awal dan selanjutnya menurun.

Gambar 1 menunjukkan adanya perbedaan pelepasan FGF dalam cairan sulkus gingiva. Tabel 1 menunjukkan angka kadar FGF pada kelompok aktivasi 24 jam turun, hal tersebut dapat disebabkan fibroblas yang berproliferasi pada hari ke-7 lebih sedikit dibanding dengan hari ke-5 sehingga jumlah kadar FGF yang dilepaskan lebih rendah. Proliferasi yang lebih tinggi pada hari ke-5 dapat terjadi karena adanya pelepasan FGF yang tinggi pada awal aplikasi, sehingga terjadi proses penyembuhan luka yang lebih cepat. Angka kadar FGF yang terus turun pada kelompok aktivasi 24 jam juga dapat disebabkan adanya sebagian besar *growth factors* yang sudah dilepaskan pada saat

awal proses angiogenesis. Ozdemir dkk. (2015) mengungkapkan pada awal proses angiogenesis, sel-sel endotel akan melepaskan FGF yang kemudian menstimulasi terjadinya neovaskularisasi. Nath dan Ravendran (2014) menyatakan bahwa FGF berperan dalam meningkatkan angiogenesis.

Perbedaan perubahan angka kadar FGF yang ditunjukkan pada tabel 1 juga dapat disebabkan karena *growth factors* yang dilepaskan pada kelompok 1 jam lebih rendah, sehingga proses proliferasi fibroblas berlangsung lebih lama. Hal tersebut ditunjukkan dengan angka kadar FGF yang masih terus naik hingga hari ke-7. Proliferasi fibroblas normalnya akan mencapai puncak proliferasi pada hari ke-7. Angka kadar FGF yang terus naik juga dapat disebabkan masih banyak sel-sel endotel yang melepaskan FGF pada proses angiogenesis¹⁴.

Perubahan kadar FGF pada kedua kelompok menunjukkan adanya proses penyembuhan pada daerah yang dilakukan tindakan bedah, yaitu tahap proliferasi yang masih terjadi dalam 7 hari. Peningkatan faktor pertumbuhan yang menstimulasi pertumbuhan dan pembelahan sel terjadi saat proses penyembuhan luka¹⁷. *Fibroblast growth factor* merupakan salah satu faktor pertumbuhan yang dilepaskan oleh PRP dan pada tahap penyembuhan luka berperan saat fase proliferasi dan remodeling^{7,18}. *Fibroblast growth factor* pada tahap penyembuhan luka berperan saat fase proliferasi dan remodeling, pada saat proliferasi FGF berfungsi menstimulasi proliferasi fibroblas dan sintesis ekstraselular matriks, serta meningkatkan kemotaksis, proliferasi dan diferensiasi sel endotel^{12,18}.

Perubahan kadar FGF cairan sulkus gingiva pada kedua kelompok tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, hal tersebut dapat disebabkan karena tingkat kerusakan jaringan yang

ditimbulkan setelah tindakan bedah tidak jauh berbeda. Tingkat kerusakan jaringan yang tidak berbeda pada tiap kelompok menyebabkan perubahan yang tidak signifikan pada kadar FGF CSG¹⁷. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan juga dapat disebabkan karena growth factors yang dilepaskan mempunyai konsentrasi yang tidak berbeda pada kedua kelompok, sehingga tidak menimbulkan perubahan angka kadar FGF yang signifikan.

Penelitian mengenai aktivasi PRP menggunakan kolagen masih belum banyak dilakukan baik secara in vitro maupun in vivo, oleh karena itu penting dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengenai pelepasan growth factors oleh platelet setelah aktivasi. Gambar 2 menunjukkan grafik naik pada kelompok 1 jam dan grafik turun pada kelompok 24 jam, tetapi belum diketahui kapan kadar FGF mengalami titik puncak, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh lama aktivasi PRP dengan kolagen terhadap *growth factors* yang berperan pada fase proliferasi sehingga dapat diketahui lama aktivasi yang optimum untuk terapi regenerasi jaringan periodontal khususnya terapi resesi gingiva.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh waktu aktivasi *platelet rich plasma* dengan kolagen terhadap kadar FGF cairan sulkus gingiva dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh waktu aktivasi platelet rich plasma dengan kolagen terhadap kadar FGF cairan sulkus gingiva.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lafzi, A., Nader, A., Amir, E., Assessment of the Etiologic Factors of Gingival Recession in a Group of Patients in Northwest Iran. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 2009, 3 (3): 90.
2. Avinash, K., Selvan, T., Coronally Advanced Flap In The Treatment Of Recession Coverage, *Int J Dent Case Reports*, 2014, 4(1): 1-10.
3. Naik, AR., Ramesh, AV., Dwarkanath, CD., Use of Autologous Platelet Rich Plasma to Treat Gingival Recession in esthetic Periodontal Surgery, *J Indian Soc Periodontol*, 2013, 17(3): 345-53.
4. Wolf, HF., Rateitschak, KH., Hassell, TM., *Color Atlas of Dental Medicine Periodontology*, 3rd revised and expanded edition, 2005, Thieme, New York.
5. Petrunaro, PS., Using Platelet Rich Plasma to Accelerate Soft Tissue Maturation in Esthetic Periodontal Surgery, *Compendium*, 2001, 22(9): 1-8.
6. Albanese, A., Licata, ME., Polizzi, B., Campisi, G., Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration, *Albanese et al. Immunity & Ageing*, 2013, 10: 23.
7. Park, Hong-Bun, Yang, Jeong-Hee, Chung, Kwang-Hoe, Characterization of the Cytokine Profile of Platelet Rich Plasma (PRP) and PRP-induced Cell Proliferation and Migrations: Upregulation of Matrix Metalloproteinase-1 and -9 in HaCaT Cells, *The Korean Journal of Hematology*, 2011, 46 (4): 265-72.
8. Rodrigues, SV., Acharya, AB., Thakur, SL., Platelet-Rich Plasma A Review, *The New York State Dental Journal*, 2012, 2012: 26-30.
9. Fufa, D., Shealy, B., Jacobson, M., Kevy, S., Murray, MM., Activation of Platelet-Rich Plasma Using Soluble Type I Collagen, *J Oral Maxillofac Surg*, 2008, 66(4): 684-90.
10. Harrison, S., Vavken, P., Kevy, S., Jacobson, M., Zurakowski, D., Murray, MM., Platelet Activation by Collagen Provides Sustained Release of Anabolic Cytokines, *Am J Sports Med*, 2011, 39(4): 729-34.
11. Cho, HS., Song, IH., Park, SY., Sung, MC., Ahn, MW., Song, KE., Individual Variation in Growth Factor Concentrations in Platelet Rich Plasma and Its Influence on Human Mesenchymal Stem Cells, *Korean J Lab Med*, 2011, 31: 212-18.
12. Sood, S., Gupta, S., Mahendra, A., Gene Therapy With Growth Factors for Periodontal Tissue Engineering – A Review, *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2012, 17(2): e301-310.

13. Nath, SG., Raveendran, R., An Insight Into The Possibilities of Fibroblast Growth Factor in Periodontal Regeneration, *Journal of Indian Society of Periodontology*, 2014, 18(3): 289-92.
14. Tanimoto, K., Ohkuma, S., Tanne, Y., Kunimatsu, R., Hirose, N., Mitsuyoshi, T., Yoshimi, Y., Su, S., Tanne, K., , Effects of bFGF on the Modulation of Apoptosis in Gingival Fibroblasts with Different Host Ages, *International Journal Dentistry*, 2013, 2013: 1-7.
15. Kaval, B., Renaud, DE., Scott, DA., Buduneli, N., The Role of Smoking and Gingival Crevicular Fluid Markers on Coronally Advanced Flap Outcomes, *J Periodontol*, 2014, 85(3): 395-405.
16. Ozdemir., B., Ozmeric, N., Elgun, S. dan Baris, E., Smoking and gingivitis: focus on inducible nitric oxide synthase, nitric oxide and basic fibroblast growth factor, *J Periodont Res*, 2015.
17. Vermolen, FJ., Van Baaren, E. dan Adam, JA., A Simplified Model for Growth Factor Induced Healing of Wounds, *Mathematical and Computer Modelling*, 2006, 44: 887-98.
18. Kaigler, D., Cirelli, JA., Giannobile, WV., Growth factor delivery for oral and periodontal tissue engineering. *Expert Opin Drug Deliv*, 2006, 3: 647-62.