

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KÖK HÜCRE BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

İN-SİTU ENJEKTE EDİLEBİLİR
METAKRİLATLANMIŞ JELATİN (Gel-MA)-
NANOHİDROKSİAPATİT (nHAp) VE MEZENKİMAL
KÖK HÜCRE (MSCs) SİSTEMLERİNİN KEMİK VE
YUMUŞAK DOKU REKONSTRÜKSİYONUNUN İN-
VİVO DIŞ ÇEKİM SOKETİ RAT MODELİNDE
İNCELENMESİ

Hazırlayan
Ömer ÜLKER

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Tuğrul Tolga DEMİRTAŞ

Yüksek Lisans Tezi

Eylül 2022
KAYSERİ

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KÖK HÜCRE BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

İN-SİTU ENJEKTE EDİLEBİLİR
METAKRİLATLANMIŞ JELATİN (Gel-MA)-
NANOHİDROKSİAPATİT (nHAp) VE MEZENKİMAL
KÖK HÜCRE (MSCs) SİSTEMLERİNİN KEMİK VE
YUMUŞAK DOKU REKONSTRÜKSİYONUNUN İN-
VİVO DİŞ ÇEKİM SOKETİ RAT MODELİNDE
İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Ömer ÜLKER

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Tuğrul Tolga DEMİRTAŞ

Bu Tez Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2021-10971 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Eylül 2022
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı : Ömer ÜLKER

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“İn-Situ Enjekte Edilebilir Metakrilatlanmış Jelatin (Gel-MA)- Nanohidroksiapatit (nHAp) ve Mezenkimal Kök Hücre (MSCs) Sistemlerinin Kemik ve Yumuşak Doku Rekonstrüksiyonunun İn-Vivo Diş Çekim Soketi Rat Modelinde İncelenmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Ömer ÜLKER

İmza

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Tuğrul Tolga DEMİRTAŞ

İmza

Kök Hücre Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL

İmza

KABUL ve ONAY SAYFASI

Dr. Öğr. Üyesi Tuğrul Tolga DEMİRTAŞ danışmanlığında **Ömer ÜLKER** tarafından hazırlanan “**İn-Situ Enjekte Edilebilir Metakrilatlanmış Jelatin (Gel-MA)- Nanohidroksiapatit (nHAp) ve Mezenkimal Kök Hücre (MSCs) Sistemlerinin Kemik ve Yumuşak Doku Rekonstrüksiyonunun İn-Vivo Diş Çekim Soketi Rat Modelinde İncelenmesi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

19.09.2022

JÜRİ

İmza

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Tuğrul Tolga DEMİRTAŞ
(Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel
Eczacılık Bilimleri Bölümü, Eczacılık Temel
Bilimleri Anabilim Dalı)

Üye : Prof. Dr. Sevil DİNÇER İŞOĞLU
(Abdullah Gül Üniversitesi, Yaşam ve Doğa
Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü)

Üye : Doç. Dr. Ahmet Emin DEMİRBAŞ
(Erciyes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız,
Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı)

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun.....tarih ve.....
sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu tez projesinin planlanması, yürütülmesi ve yazılması hususlarında göstermiş olduğu destek ve yardımlarından dolayı tez danışmanım Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi hocam Dr. Öğr. Üyesi Tuğrul Tolga Demirtaş'a teşekkürlerimi sunarım. Akademik çalışmalarımda desteğini her zaman yanımda hissettiğim, mesleki bilgi ve tecrübelerinden çok şey öğrendiğim Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı hocam Doç. Dr. Ahmet Emin Demirbaş'a saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca TYL-2021-10971 proje kodu ile tez projemi destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine, dokuların raman spektroskopisi ile incelenmesinde çok önemli katkıları bulunan Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Fatma Latifoğlu'na, histolojik analizlerin yapılmasında çok önemli yardımları bulunan Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Işın Alkan'a teşekkür ederim. Çalışmalarım süresince birçok fedakârlıklar gösterip bugünlere gelmemde büyük emek ve mücadele gösteren sevgili annem ve babama, yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için aileme, sevgili eşim ve canım oğlum Mehmet'e en derin duygularla, sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Ömer ÜLKER

Kayseri, Eylül 2022

**İN-SİTU ENJEKTE EDİLEBİLİR METAKRİLATLANMIŞ
JELATİN (Gel-MA)- NANOHİDROKSİAPATİT (nHAp) VE
MEZENKİMAL KÖK HÜCRE (MSCs) SİSTEMLERİNİN KEMİK
VE YUMUŞAK DOKU REKONSTRÜKSİYONUNUN İN-VİVO
DIŞ ÇEKİM SOKETİ RAT MODELİNDE İNCELENMESİ**

Ömer ÜLKER

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Kök Hücre Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Eylül 2022

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Tuğrul Tolga DEMİRTAŞ

ÖZET

Bu çalışmada ratların sol üst çene birinci ve ikinci azı dişleri çekilerek sokete yerleştirilen metakrilatlanmış jelatin (Gel-MA), nano-hidroksiapatit(nHAp) ve mezenkimal kök hücreler (MSCs) ile alveol kemiklerinde diş çekimi sonrası görülen hızlı rezorpsiyonun engellenmesi ve yeni kemik doku rejenerasyonun sağlanması amaçlandı. Dişlerin çekilmesi alveolar kemikte fizyolojik rezorpsiyon sürecinin başlamasına neden olur. Alveolar kemiğin ve yumuşak dokunun hacimsel olarak azalması sonucunda maksillofasial bölgede fonksiyon kaybı, hastaların yaşam kalitesinin düşmesi ve estetik problemler ortaya çıkmaktadır. Çalışmada 36 adet Sprague Dawley rat rastgele olmak üzere 3 deney grubuna ayrıldı. Deney grupları; grup 1 (kontrol, n=12), grup 2 (Gel-MA/ nHAp, n=12) ve grup 3 (Gel-MA/ nHAp/ MSCs, n=12) olarak belirlendi. Grup 2 ve Grup 3' teki ratların diş çekim soketlerine sırasıyla Gel-MA/nHAp ve Gel-MA/nHAp/MSCs biyomalzemeleri yerleştirildi. UV ışığı (395-480nm, 30 sn) soketlere uygulanarak daha stabil hidrojel yapısı oluşturuldu. Soketlere dikiş atılarak yara yüzeyleri primer kapatıldı. Hayvanların yarısı 1. ay, diğer yarısı ise 2. ayın sonunda kurban edilerek maksilla tümüyle çıkarıldı. Makroskopik, mikro-bilgisayarlı tomografi (micro-BT) ve histopatolojik incelemeler yapıldı. 1. ve 2. ay mikro-BT analiz sonuçlarına göre, grup 3'ün kemik

hacim yüzdesi (BVP) en yüksekti ve diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. Grup 3'ün 1. ay ortalama BVP'si 81.02 ± 3.05 , 2. ay ortalama BVP değeri ise 85.86 ± 1.74 olarak bulundu ($p < 0.001$). 1. aydaki dokuların mikro-BT/BVP analiz sonucuna göre, grup 1 ile grup 3 ve grup 2 ile grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.001$, $p < 0.01$). 2. ay sonuçları da aynı gruplar arasında istatistiksel olarak benzer farklılıklar göstermiştir ($p < 0.001$, $p < 0.05$). Histolojik değerlendirmeler için doku örnekleri hematoxilen eozin, masson trikrom ve alizerin red ile boyandı. Yapılan istatistiksel ve histopatolojik analizler, Gel-MA/nHAp/MSCs 2. ay grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gösterdi ($p < 0.05$, One-way ANOVA). Sonuç olarak çalışmada kullanılan bu biyomalzemelerin çene kemiklerinde 3 boyutlu yeni kemik dokusu oluşumunda ve kemik rekonstrüksiyonunda oldukça etkili olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Alveolar kemik rezorpsiyonu; Metakrilatlanmış jelatin; Mezenkimal kök hücre; Nano-Hidroksiapatit; Rekonstrüksiyon.

**IN-SITU INJECTABLE METHACRYLATED GELATIN
(Gel-MA)-NANOHYDROXYAPATITE (nHAp) AND
MESENCHYMAL STEM CELL (MSCs) SYSTEMS TO
INVESTIGATE BONE AND SOFT TISSUE RECONSTRUCTION
FOR TOOTH EXTRACTION SOCKET IN VIVO RAT MODEL**

Ömer ÜLKER

Erciyes University, Graduate School of Healthy Sciences

Stem Cell Science Department

M.Sc. Thesis, September 2022

Supervisor: Assistant Professor Tuğrul Tolga DEMİRTAŞ

ABSTRACT

In this study, the left maxillary first and second molars of the rats were extracted and methacrylate gelatin (Gel-MA), nano-hydroxyapatite (nHAp) and mesenchymal stem cells (MSCs) were placed in the socket. Thus, it was aimed to prevent the rapid resorption of alveolar bones after tooth extraction and to provide new bone tissue regeneration. Removal of teeth causes the initiation of the physiological resorption process in the alveolar bone. As a result of the volumetric decrease of the alveolar bone and soft tissue, loss of function in the maxillofacial region, decrease in the quality of life of the patients and aesthetic problems occur. In the study, 36 Sprague Dawley rats were randomly divided into 3 experimental groups. Experimental groups; group 1 (control, n=12), group 2 (Gel-MA/ nHAp, n=12) and group 3 (Gel-MA/ nHAp/ MSCs, n=12). Gel-MA/nHAp and Gel-MA/nHAp/MSCs biomaterials were placed in the extraction sockets of the rats in Group 2 and Group 3, respectively. A more stable hydrogel structure was created by applying UV light (395-480nm, 30 sec) to the sockets. The wound surfaces were closed primarily by suturing the sockets. Half of the animals were sacrificed at the end of the first month and the other half at the end of the second month, and the maxilla was completely removed. Macroscopic, micro-computed tomography (micro-CT) and

histopathological examinations were performed. According to the 1st and 2nd month micro-CT analysis results, the bone volume percentage (BVP) of group 3 was the highest and there was a statistically significant difference compared to the other groups. The mean BVP at the 1st month of group 3 was $81.02 \pm 3.05\%$, and the mean BVP value at the 2nd month was $85.86 \pm 1.74\%$ ($p < 0.001$). According to the results of micro-CT/BVP analysis of tissues in the 1st month, a statistically significant difference was found between group 1 and group 3 and between group 2 and group 3 ($p < 0.001$, $p < 0.01$). The 2nd month results also showed statistically similar differences between the same groups ($p < 0.001$, $p < 0.05$). Tissue samples were stained with hematoxylin eosin, Masson trichrome and alizerin red for histological evaluations. Statistical and histopathological analyzes showed that there was a statistically significant difference between Gel-MA/nHAp/MSCs 2nd month group and all groups ($p < 0.05$, One-way ANOVA). As a result, it was determined that these biomaterials used in the study were very effective in 3-dimensional new bone tissue formation and bone reconstruction in the jaw bones.

Keywords: Alveolar bone resorption; Methacrylate gelatin; Mesenchymal stem cell; Nano-Hydroxyapatite; Reconstruction.

İÇİNDEKİLER

Sayfa no

İÇ KAPAK.....	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL ve ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Doku Mühendisliği.....	5
2.2. Dental İmplant.....	10
2.3. Diş Çekim Soketleri	12
2.4. Diş Çekim Soketlerinde Kullanılan Biyomalzemeler	16
2.4.1. Doğal Kemik Greftleri.....	20
2.4.1.1. Otogreftler	20
2.4.1.2. Allogreftler	21
2.4.1.3. Ksenogreftler.....	21
2.4.1.4. Fitojenik Biyomalzemeler	22
2.4.2. Sentetik Kemik Greft Malzemeleri.....	22
2.4.2.1. Hidroksiapatit.....	23
2.4.2.2. Trikalsiyum Fosfat Seramikleri (β -TKF).....	24
2.4.2.3. Polimerler	24
2.4.2.3.1. Kitosan.....	25

2.4.2.3.2. Metakrilatlanmış Jelatin (Gel-MA)	26
2.5. Diş Hekimliğinde Kemik Yerine Geçen Biyomalzemelerin Geleceği.....	29
2.6. Diş Çekim Soketinde Kullanılan Hücre Kaynakları	30
2.6.1. Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler (Kİ-MKH).....	31
2.6.2. Yağ Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler (YD-MKH)	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Gereçler	33
3.2. Yöntemler	35
3.2.1. Mikrodalga Destekli Metakrilatlanmış Jelatinin (Gel-MA) Sentezi.....	35
3.2.2. Mikrodalga Destekli Biyomimetik Yöntem ile nano-Hidroksiapatit Üretimi	35
3.2.3. Sıçan Kemik İliğinden Mezenkimal Kök Hücrelerin İzolasyonu.....	36
3.2.4. Ratlarda İn-Vivo Oluşturulan Diş Çekim Soketi Modeline Hidrojel Kök Hücre Sistemlerinin Enjekte Edilmesi.....	37
3.2.5. Mikro-BT Analizi	40
3.2.6. Histolojik Analiz.....	41
3.2.7. Raman Spektroskopisi ile Yeni Doku Oluşumlarının Moleküler Analizi.....	42
3.2.8. İstatistiksel Analiz.....	43
4. BULGULAR	44
4.1. Mikrodalga Destekli Gel-MA Sentezi ve Karakterizasyonu.....	44
4.2. Akış Sitometri Analizi	45
4.3. İn Vivo Kemik Rejenerasyonunun Makroskopik ve Mikroskopik Değerlendirilmesi	47
4.4. Mikro-BT Analiz Sonuçları.....	49
4.5. Histopatolojik Sonuçlar	55
4.6. Sıçan Diş Soket Bölgelerinde Kemik Oluşumunun Raman Spektroskopisi ile Analizi	60

5. TARTIşMA	63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
7. KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİş	



KISALTMALAR

3B	: Üç Boyutlu
AKK	: Alveolar Kret Koruması
APKH	: Apikal papilla kök hücreleri
BF	: Büyüme Faktörü
BV/TV	: Kemik Hacim Fraksiyonu
BVP	: Kemik Hacim Yüzdesi
CaCO ₃	: Kalsiyum Karbonat
DBFs- β	: Dönüştürücü büyüme faktörleri- β
DFH	: Diş folikül hücreleri
DMKH	: Diş eti mezenkimal kök hücreleri
DPK	: Dentin Pulpa Kompleksi
ECM	: Hücre Dışı Matris
EKH	: Embriyonik Kök Hücre
EPH	: Endotelyal Progenitör Hücreler
FACS	: Floresan ile aktive edilen hücre ayırıcı
FBF	: Fibroblast büyüme faktörü
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FITC	: Floresan İzotiyosiyanat
FSC	: İleri Saçılım Kanal
G-CSF	: Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör
Gel-MA	: Metakrilatlanmış jelatin
GK-MKH	: Göbek Kordonu Mezenkimal Kök Hücre
HA	: Hidroksiapatit
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezliği virüsü
IgG	: İmmünglobulin G Antikoru
İPKH	: İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücreler
İSDKH	: İnsan süt dişlerinden elde edilen kök hücreler
Kİ-MKH	: Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre
M1	: 1. Büyük Azı Dişi

M2	: 2. Büyük Azı Dişı
MACS	: Manyetik Hücre Ayırıcı
MD	: Metakrilatlanma Derecesi
MF-FLA	: Kitosan Bazlı Mikrobiyal Fiber Membran Flagil
Micro-BT	: Mikro Bilgisayarlı Tomografi
MKH	: Mezenkimal Kök Hücre
Molar Diş	: Büyük Azı Diş
MSCs	: Mezenkimal Kök Hücre
Mw	: Mikrodalga Enerjisi
NaOH	: Sodyum Hidroksit
nHAp	: Nano-Hidroksiapatit
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
OFHK	: Otolog Fibroblast Hücre Kültürü
PBKH	: Periodontal bağ doku kök hücreleri
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin
PMMA	: Polimetilmetakrilat
RE	: Rejeneratif Endodonti
rhPDGF	: İnsan Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
SD	: Sprague Dawley
SSC	: Yana Saçılım Kanalı
TKBF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
TKF	: Trikalsiyum Fosfat
TZP	: Trombosit Zengin Plazma
UV	: Ultraviyole
YD-MKH	: Yağ Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler
YDSH	: Yağ dokusundan üretilen stromal hücreler
YKR	: Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 2.1. Soket Anatomisine Bağlı Olarak AKK için Öneriler	15
Tablo 2.2. AKK İçin Mevcut Biyomalzemeler	19
Tablo 3.1. Cihazların Listesi	33
Tablo 3.2. Kullanılan Sarf ve Kimyasal Malzemeler	34
Tablo 4.1. Akış Sitometri Analizinin Değerlendirilmesi.	47
Tablo 4.2. Grupların Kemik Hacim Yüzdesi (BVP) (%) $\pm$ SS Değerleri.	49
Tablo 4.3. Diş Çekim Soketlerinde Bulunan Kemik ve Bağ Dokusu Oranları.....	56
Tablo 4.4. 960 cm^{-1} Piklerin Ortalama Enerji Hesapları.....	61
Tablo 4.5. 1070 cm^{-1} Piklerin Ortalama Enerji Hesapları.	62
Şekil 2.1. Doku Mühendisliğinin Uygulamaları	6
Şekil 2.2. Doku Mühendisliğinin Temelleri.....	6
Şekil 2.3. Kemik Duvarı Kalınlığı 1 mm veya daha az olan ince kemik duvarı fenotiplerinde, 8 haftalık iyileşmeden sonra 7,5 mm veya önceki kemik yüksekliğinin ortalama %62'si kadar dikey kemik kaybına yol açan ilerleyici bir kemik rezorpsiyonu paterni ortaya çıkmaktadır	12
Şekil 2.4. Diş Çekim Sonrası Alveolar Soketi Temsil Eden Geniş Bir Bukkal Kemik Defekti	14
Şekil 2.5. Doğal İyileşmeden Sonra (Üst Sıra) Beklenen Alveolar Kemik Değişiklikleri ile Diş Çekimi Sonrası Soket Greftleme (Alt Sıra) Yoluyla Alveolar Sırtın Korunmasını Karşılaştıran Şekil Çizimleri	16
Şekil 3.1. Sol Maksiller 1. ve 2. Molar Dişler Çekildi.....	38
Şekil 3.2. Kontrol Grubundaki Çekim Boşlukları (soketleri) boş bırakıldı. Grup II ve Grup III' teki hayvanların çekim soketlerine sırasıyla Gel-MA+ nHAp ve Gel-MA+nHAp+MSCs' ler yerleştirildi. UV ışık kaynağına (VALO cordless dental curing light unit, 395–	

	480nm, 30 sn) maruz bırakılmasıyla hidrojel oluşumu gerçekleştirildi.	39
Şekil 3.3.	Micro-BT Analizinde Kullanılan 3B Şeklin Boyutları, Maksillada Diş Çekim Soketlerine Yerleştirilmiş 3B Görüntüler.....	40
Şekil 3.4.	Diş Çekim Soketi Alanlarının Image J Programında Hacimsel Analizi.....	42
Şekil 4.1.	a) Jelatin ve b) %4 (v/v) MA 1000W MW Enerjisi Uygulanarak Sentezlenen Gel-MA'nın 1H-NMR Spektrumları. İşaretli bölge Gel-MA grupları için lizin ve hidroksilizin grupları ile birleşen metakrilat grubunun akrilik protonlarıdır c) UV ışık kaynağı ile çapraz bağlandıktan sonra Gel-MA hidroجلي.....	44
Şekil 4.2.	Sıçan Kökenli MKH' lere Ait Akış Sitometri Analiz Sonuçları	46
Şekil 4.3.	Maksilladan Alınan Doku Örneklerinin 30. ve 60. gündeki Kemik ve Yumuşak Doku İyileşmelerinin Makroskopik Düzeyde İncelenmesi.	48
Şekil 4.4.	Kontrol Grubu 1. ve 2. ay, Maksillanın Aksiyal/ Sagittal 3B Görüntüleri.....	50
Şekil 4.5.	Gel-MA/nHAp Grubu 1. ve 2. ay, Maksillanın Aksiyal/ Sagittal 3B Görüntüleri	51
Şekil 4.6.	Gel-MA/nHAp/MSCs Grubu 1. ve 2. ay Aksiyal/ Sagittal Maksillanın 3B Görüntüleri	52
Şekil 4.7.	Kontrol Grubu 1. ve 2. ay Maksillanın Koronal/ Sagittal Mikro-BT Görüntüleri.....	53
Şekil 4.8.	Gel-MA/nHAp grubu 1. ve 2. ay Maksillanın Koronal/ Sagittal Mikro-BT Görüntüleri	53
Şekil 4.9.	Gel-MA/nHAp/MSCs grubu 1. ve 2. ay Maksillanın Koronal/ Sagittal Mikro-BT Görüntüleri	54
Şekil 4.10.	İstatistiksel Olarak Anlamlı Farklar $n = 3$, *** $p < 0,001$ kontrol grubu KONTROL olduğunda; +p < 0.05 , ++ $p < 0.01$, kontrol grubu Gel-MA olduğunda.....	54
Şekil 4.11.	Örnekleme Stratejisi.	55

Şekil 4.12.	Kemik ve bağ doku oranı grafiği ($\pm$ SEM). Yapılan istatistiksel analizlerde Gel-MA+MSCs 2. ay grubunun tüm gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür.....	56
Şekil 4.13.	Tüm gruplara ait dokuların histolojik görüntüleri (Hematoksilen-Eozin Boyaması).....	57
Şekil 4.14.	Tüm gruplara ait dokuların histolojik görüntüleri (Alizerin Red Boyaması).....	58
Şekil 4.15.	Tüm gruplara ait dokuların histolojik görüntüleri	59
Şekil 4.16.	Diş çekim soketi kesitlerini içeren optik mikroskop görüntüleri ve Raman Spektroskopisi analizi yapılan bölgeler.....	60
Şekil 4.17.	Diş çekim soketlerinden elde edilen 1. ve 2. ay'da alınmış Raman Spektrumlarının ortalama değerlerine ait grafikler.....	61

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alveolar kret koruması (AKK), diş çekimini takiben alveolar kret (kemik) rezorbsiyonunu durdurmak veya en aza indirmek, protetik restorasyonu ve implant yerleştirmeyi kolaylaştırmak için kullanılan bir prosedürdür (Atieh ve ark., 2015). Ekstraksiyondan sonra meydana gelen fizyolojik tepkilerin ve AKK' nin etkilerinin anlaşılması, klinik prosedürleri doğru uygulamak için önemlidir. AKK, dental implant tedavisinin erteleneceği durumlarda ekstraksiyon sonrasında istenmeyen yatay ve dikey kemik sırtın azalmasını engelleyen öngörülebilir bir yoldur. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu sağlamak için diş çekim soketlerinde dolgu malzemeleri ve büyüme faktörleri etkili bir şekilde kullanılmıştır. Fakat şu anda vaka seçimi, en iyi klinik teknik ve hangi materyal kullanılacağı konusunda fikir birliği yoktur (Atieh ve ark., 2015; Mardas ve ark., 2015). Diş çekim soketlerinin rezorbsiyonunu engellemek için etkili bir tedavi yöntemi geliştirmek için daha fazla araştırma yapmak gerekmektedir.

AKK ilk olarak 1982'de 'kemik koruma' olarak tanımlanmıştır (Ashman ve Bruins, 1982). Soket koruması, sırt koruması, soket greftleme ve soket ogmentasyonu ile eş anlama gelmektedir. AKK, genellikle diş çekildikten hemen sonra çekim soketini kapatmak için, konakçı kaynaklı veya transplante edilmiş çeşitli greft materyallerinin kullanılması ile gerçekleştirilir (Jung ve ark., 2013). AKK' nin potansiyel avantajları arasında, mevcut yumuşak ve sert doku yapısının korunması, fonksiyonel ve estetik sonuçların optimize edilmesi için stabil bir alveolar kemik hacminin sağlanması ve sonraki dönemde uygulanacak tedavi prosedürlerini (dental implant vb.) kolaylaştırması sayılabilir (Hammerle ve ark., 2012).

AKK'nin amacı, yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) (emilebilir veya emilemez bariyerler vasıtasıyla) yöntemiyle, kemik greftleri (otogreftler, allogreftler,

ksenogreftler veya alloplastik materyaller), yumuşak doku greftleri ve biyolojik aktif materyaller (büyüme faktörleri) veya kombinasyonlarını kullanarak yatay ve dikey yönde alveolar sırt formunu korumaktır (Horvath ve ark., 2013). İmplant yerleştirme zamanından bağımsız olarak başarılı implant sonuçlarının elde edilmesi için bölgedeki kemik hacminin nasıl yönetileceğini planlamak kritik öneme sahiptir. Salama ve Salama (1993), soket anatomisine bağlı olarak kullanılması gereken AKK yöntemi için önerilerde bulunmuştur. Çalışmalarında, AKK' nin altında yatan mevcut kanıtları ve yöntemleri özetlemeyi ve klinik tedaviye karar vermeye yardımcı olmak için bir rehber sunulmaktadır.

Kemik defektlerini onarmak ve tedavi etmek bazen hastalar ve cerrahlar için zor olabilmektedir (Mauffrey ve ark., 2015). Otolog kemik grefti kullanılarak defekt alanına nakledilen doğal kemik dokusu hızla bölgeye uyum sağlayabilir. Bu yöntem kemik defektlerinin tedavisinde altın standart olarak kabul edilmektedir (Sakkas ve ark.,2017; Rogers ve Greene, 2012, Wang ve Yeung, 2017). Bununla birlikte, donör sahadan yeteri kadar otojen kemik dokusunun alınamaması ve morbidite riski kullanımını kısıtlamaktadır (Sudhakar ve ark.,2017). Bu nedenle, kemik kusurlarının onarımı için otojen kemik greftine alternatif olarak inorganiklerden organiklere kadar çeşitli kemik greft materyalleri yaygın olarak uygulanmıştır (Fernandez de Grado ve ark., 2018; Huang ve ark., 2020; Matassi ve ark., 2013; Saini ve ark., 2015). Bu biyomateryallerin sınırsız elde edilebilmesi, kolay sterilizasyon ve saklama imkânı, mekanik mukavemet ve biyouyumluluk gibi çok önemli avantajları bulunmaktadır (Fernandez de Grado ve ark., 2018; Matassi ve ark.,2013; Saini ve ark., 2015). Bununla birlikte, bu greft maddelerinin osteoindüktif özelliklerinin olmaması kemik kaynaşmasını geciktirir ve mekanik gücün doğal kemik dokusuyla uyumsuzluğu kemiğin yeniden şekillenmesini engelleyerek dental implantın kaybına neden olabilir. Ayrıca, kemik greft maddeleri kök hücre taşımamaları nedeniyle doğal kemik rejenerasyon kabiliyetleri azdır. Bu eksikliklerin üstesinden gelmek ve düzensiz şekilli kusurlara uyum sağlamak için, kemik dokusu mühendisliği için enjekte edilebilir biyomateryaller, düzensiz kusuru minimal invaziv bir prosedürle doldurmak için büyük ilgi görmektedir (Cui ve ark., 2019; El-Sherbiny ve Yacoub, 2013; Wasupalli ve Verma, 2020). Fakat, bu enjekte edilebilir birçok biyomateryalin üretim stratejisi karmaşık ve zaman alıcıdır (Cui ve ark., 2019; Wasupalli ve Verma,

2020). Bu nedenle, etkili kemik rejenerasyonu sağlamak için, doğal kemiğe kimyasal ve yapısal benzerliği olan, osteojenik hücreleri indükleyen ve osteoindüktif bileşenlere verimli bir şekilde uyum sağlayan, hızlı ve uygun tekniğe sahip enjekte edilebilir biyomateryallerin olması tercih edilir.

Son zamanlarda, aktif biyolojik yapı iskeleleri olarak kullanılan hidrojeller (El-Sherbiny ve Yacoub, 2013) ve prepolimerler doğal kemik hücre dışı matrisinin (ECM) fizikokimyasal özelliklerini yüksek oranda taklit edebildiğinden kemik doku mühendisliğinde büyük ilgi görmüştür (Kim ve ark., 2017; Xavier ve ark., 2015; Xie ve ark., 2015; Vo ve ark., 2016; Vo ve ark., 2015). Ayrıca, hidrojeller, hücre kapsülleme, çoğalma, farklılaşma ve biyoaktif içerik birleştirme ve salımı için üç boyutlu (3B) bir kültür platformu sağlayabilir (De Witte ve ark., 2018; Kondiah ve ark., 2016; Mihaila ve ark., 2016). Ayrıca, çapraz bağlama özellikleri ile ayarlanabilir mekanik özellikleri, belirli doku mikro ortamının çeşitli sertlik taleplerini karşılaması da avantaj sağlamaktadır. Örneğin, jelatin bazlı hidrojel, biyomedikal uygulamalar için yaygın olarak kullanılmaktadır (Nichol ve ark., 2010). Jelatin içindeki amino yan grupların metakrilat gruplarına konjuge edilmesinden sonra, metakrilatlanmış jelatin (Gel-MA) ışıkla polimerize edilebilir hale gelir ve ultraviyole (UV) radyasyonu ile hidrojel formuna çapraz bağlanabilir. Böylece Gel-MA, kemik ve kırıldak rejenerasyonu, miyokardiyal onarım ve revaskülarizasyon dahil olmak üzere çeşitli doku mühendisliği uygulamaları için uygun sertliğe sahip biyomalzeme olarak kendini kanıtlamıştır (Yue ve ark., 2015). Ek olarak, biyomimetik kemik greft malzemeleri için kompozit hidrojel sistemleri, nano-hidroksiapatit (nHAp) ve CaCO₃ gibi seramik nanoparçacıkların Gel-MA'ya girmesiyle üretilebilir (Bao ve ark., 2020; De Witte ve ark., 2018; Nichol ve ark., 2010; Yue ve ark., 2015). Doğal kemiklerin ve dişlerin önemli bir inorganik bileşeni olan nHAp, kemik-mimetik greft maddelerinin ve kemik doku mühendisliği polimerinin üretimi sırasında katkı maddesi olarak popüler bir şekilde kullanılmıştır. nHAp eklendikten sonra, hidrojel kompozitler mekanik özelliklerde, doğal kemik ECM'sine yapısal ve bileşimsel benzerliklerde önemli gelişme gösterir ve hücrel canlılığı koruyarak hücrel proliferasyonu ve biyoyumluluğu artırır (Ran ve ark., 2017; Ren ve ark., 2018; Sadat-Shojai ve ark., 2015). Ancak, nHAp'ın osteojenik

kapasitesi sınırlı olduğundan, saf GelMA-nHAp hidrojelinin osteoindüktif kapasitesi araştırılması gerekmektedir (Shi ve ark., 2021).

Bu çalışma ile kök hücre uygulamalarının, klinik diş hekimliğinde ortaya çıkan sorunlara çözüm olması için deneysel model üzerinde araştırma imkânı bulundu. Ratların tek taraflı üst çene birinci ve ikinci molar (azı) dişleri çekilerek sokete yerleştirilen metakrilatlanmış jelatin (Gel-MA), nHAp (nano-hidroksiapatit) ve mezenkimal kök hücreler (ratlardan izole edildi) ile bölgede 3 boyutlu kemik iyileşmesinin temin edilmesi, alveol kemiklerinde çekim sonrası görülen hızlı rezorpsiyonun engellenmesi, yeni kemik dokusu oluşumu ve rejenerasyonun sağlanması amaçlandı. Literatürde Gel-MA hidrojelinin diş çekim soketlerinde uygulanması ve sonuçlarının tartışıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

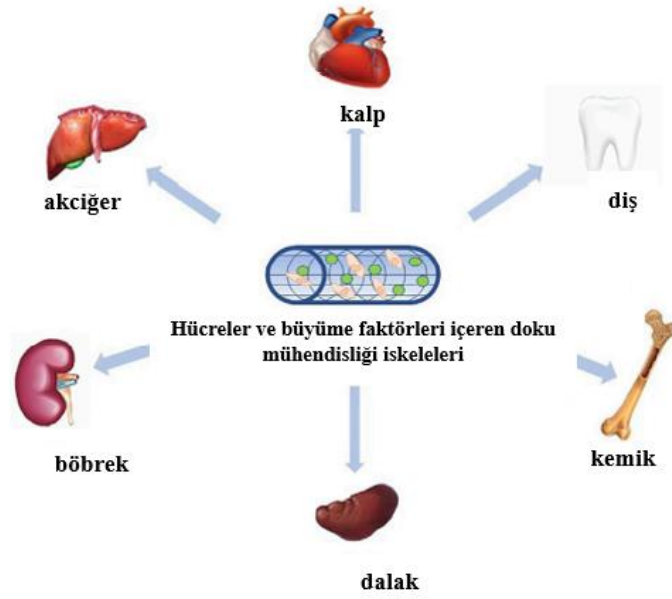
Bu çalışma, ileride yapılması planlanan diğer klinik araştırmalar için yol gösterici olacaktır. Deneysel araştırmalar ile hedeflenen sonuçlar elde edilince, **hastaların dişsiz geçirdikleri süre azalacak ve yaşam kaliteleri yükselecektir.** Daha karmaşık ve zor cerrahi işlemler yerine basit, uygulaması kolay ve ucuz bir tedavi yöntemi için önemli mesafe kat edilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

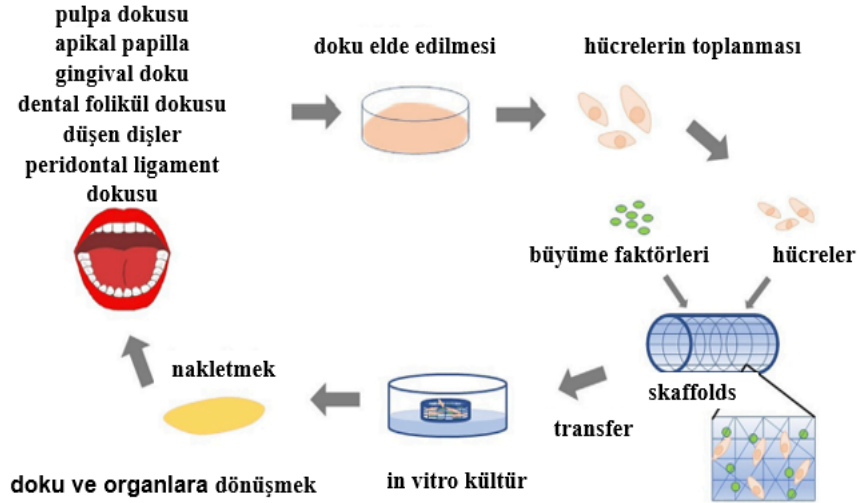
2.1. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği, mühendislik ve yaşam bilimlerini birleştiren gelişmekte olan bir disiplindir. Bu disiplinde *in vivo* veya *in vitro* fonksiyonel biyolojik yapılar oluşturabilir. Böylece doku ve organ rekonstrüksiyonu veya transplantasyonu sırasında donör organ hasarı en aza inmektedir. Doku mühendisliği uygulamaları ile kalp, karaciğer, böbrek ve diğer yapay organları kullanarak yapılan organ nakilleri başarıya ulaşmıştır. Doku mühendisliği ile yeni kemik dokunun oluşturulması insan dokularında ortaya çıkabilen kemik defektlerinin iyileşmesi için de yeni bir yaklaşım sağlar. Son yıllarda, doku mühendisliği teknolojisi diş hekimliği araştırmaları için giderek önemli bir teknik haline gelmiştir. Ağız ve çevre doku araştırmalarında uygulanması da önemli başarılar sağlamıştır.

1993 yılında Langer ve Vacanti doku mühendisliğini “doku fonksiyonunu restore eden, koruyan veya iyileştiren biyolojik yapıların geliştirilmesine yönelik mühendislik ve yaşam bilimlerinin ilkelerini uygulayan disiplinler arası bir alan” olarak tanımlamışlardır (Langer ve Vacanti, 1993). Günümüzde doku mühendisliği teknolojisi hızla gelişmektedir. Hasarlı veya eksik doku ve organların yeniden yapılandırılması için popüler bir araştırma yöntemi haline gelmiştir (Fang ve ark., 2021; Farhat ve ark., 2021; Shang ve ark., 2021) (Şekil 2.1). Bu nedenle doku mühendisliği teknolojisinin stomatoloji alanında kapsamlı bir yenilik yaratacağı düşünülmektedir. Doku mühendisliğinin temel prensibi, fonksiyonel olarak hücreleri toplamak ve bunları belirli bir uzaysal yapıya sahip doğal veya sentetik bir iskele üzerine yerleştirmek ve büyüme faktörlerinin etkisiyle hücre çoğalmasını indüklemek, böylece dokuları veya organları yenilemektir (Dzobo ve ark., 2018; Dey ve ark., 2020; Han ve ark., 2014) (Şekil 2.2.).



Şekil 2.1. Doku Mühendisliğinin Uygulamaları. Şu anda, doku mühendisliği, kalp, karaciğer, böbrek, dalak, kemik ve dişler dahil olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Cao ve ark., 2021).



Şekil 2.2. Doku Mühendisliğinin Temelleri. Ağız boşluğundan alınan çeşitli hücreler, büyüme faktörleri ile emilebilen yapı iskelelerine ekilir ve gerekli doku veya organlar uygun in vitro kültürden sonra in vivo implante edilebilir (Cao ve ark., 2021).

Doku iskeleleri, hücre büyümesi ve fonksiyonları için uygun bir alan sağlar. Doku mühendisliği araştırmalarında kullanılan doku iskeleleri seramik, protein ve polimer

yapısındaki doğal ve sentetik malzemelerden üretilmektedir (Rai ve ark., 2015). Tek tip doku iskelesi malzemesi kullanımı bazı sınırlara neden olduğu için, iki veya daha fazla farklı malzemeden oluşan kompozit iskeleler giderek dikkat çekmeye başlamıştır (Mogoşanu ve Grumezescu, 2014). Son yıllarda, üçüncü nesil yapı iskeleleri ise, anjiyogenezi ve osteogenezi indüklemeye yeteneğine sahiptir (Thein-Han ve Xu, 2011). Sonuçta doku mühendisliğinin temeli; doku iskelesi, kök hücreler ve büyüme faktörlerinden oluşan mükemmel bir üç boyutlu uzaysal kompleksin kurulması esasına dayanmaktadır.

2.1.1. Diş Doku Mühendisliği

Dişler, yumuşak bağ dokusu özelliğindeki pulpa, etrafındaki mine, sement ve dentin gibi mineralize sert doku tabakalarından oluşur. Dişler, çiğneme ve konuşmaya katkısı ile birlikte estetik ihtiyaçları da karşılamaktadır. Diş gelişimi, hücre farklılaşmasına yol açan bir dizi epitelyal-mezenkimal etkileşim ve karşılıklı indüksiyonlarla gerçekleştirilir (Yuan ve Chai, 2019). Diş çürüğü, diş agenezisi veya travma gibi birçok nedene bağlı olarak ortaya çıkan diş kaybı, fizyolojik fonksiyonları ciddi şekilde etkileyen ve çeşitli hastalıkların morbiditesini de artıran ağız hastalığıdır (Cheng ve ark., 2018; Ma ve ark., 2018). Ayrıca, kalıcı dişler kaybedildikten sonra yerlerine tekrar yeni dişler gelmemektedir. Kliniklerde eksik dişleri onarmak için hareketli veya sabit protezler yapılmaktadır. Fakat bu geleneksel restoratif yöntemler konforsuz ve etkili bir çiğneme fonksiyonu sağlamazlar (Hejazi ve ark., 2021). Bu nedenle, biyolojik doku mühendisliği bu dezavantajları çözmek için ortaya çıkmıştır. Diş dokusu onarımı ve tam diş replasmanı için diş rejenerasyon tedavisi, diş hekimliğinde uzun vadeli bir hedef olmuştur.

Araştırmacılar, diş dokularının rejenerasyonu için araştırmalarına devam etmektedir. Rejeneratif endodonti (RE), nekrotik dokuyu onarmak ve dentin-pulpa kompleksini (DPK) yeniden oluşturmak için çoğunlukla hücre kullanma ve transplantasyon çalışmaları yapmaktadır (Morotomi ve ark., 2019). Bu amaçla vücuttaki kök hücrelerin toplanıp kusurlu bölgede aktarılması ile endojen doku rejenerasyonuna gerçekleştirilmesi hedeflenmektedir (Wang ve ark., 2018). Ancak uygulama mekanizmasını açıklığa kavuşturmak için hala daha çok araştırma yapılması gerekmektedir. Hücre transplantasyonunda pulpa dokusu rejenerasyonunu sağlamak

ana hedefi oluşturmaktadır. Bir köpek pulpektomi modelinde pulpa kök hücrelerini granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ile birleştiren bir çalışma, damar sistemi ve innervasyon içeren pulpa dokusunun tüm kök kanalını doldurduğunu ve böylece pulpa dokusunda başarılı bir rejenerasyon elde edildiğini bulmuştur (Iohara ve ark., 2013). Mineralize bir diş kronu elde etmek için jelatin metakrilat (Gel-MA) hidrojel iskeleleri içinde kapsüllenmiş diş hücreleri ile biyomimetik bir diş tomurcuğu modeli geliştirmeye çalışan araştırmacılar bulunmaktadır (Smith ve ark., 2017).

Bu sonuçlar, diş doku mühendisliği rejenerasyonunda önemli gelişmeler olduğunu göstermektedir. Böylece diş kaybından kaynaklanan ağız sorunlarının etkili bir şekilde çözebileceğini göstermektedir. Gelecekte, gelişen teknolojiler diş rejenerasyonu için önemli fikirler sağlayacaktır.

Konjenital deformite, travma, tümörler, inflamasyon veya periodontal hastalıklar oral ve maksillofasiyal kemik defektlerine neden olmaktadır. Bu defektler başlıca alveolar, maksiller ve mandibular alanlarda olabilmektedir (Bangun ve ark., 2021; Lin ve Kudva, 2021). Kemik transplantasyonu ve membran uygulamalarıyla yapılan yönlendirilmiş kemik rejenerasyon tedavileri, osteogenezin uyarılması defektlerin iyileşmesi için ana yöntemlerdir. Klinik pratiğinde otolog kemik kullanımı, kemik nakli için “altın standart” olarak kabul edilir, ancak bu tekniğin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Örneğin, otolog kemik istenilen boyutlarda şekillendirilmesi zor olabilmektedir. Bu durum prognostik fonksiyonların iyileşmesini ve sonuçlarını etkileyecektir. Ayrıca otolog kemik elde etmek için donör saha kaynağı sınırlıdır ve kemik transplantasyonundan sonra bazı komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Son zamanlarda ağız ve çene kemik defektlerinin kemik doku mühendisliği teknolojileri kullanılarak iyileştirilmesi ile ilgili birçok çalışma yapılmaktadır.

Khodakaram ve ark.’ları tavşan mandibula defektlerinin iyileşmesi sırasında fibrin yapıştırıcı doku iskeleleri ve otolog kemik greftlerinin etkilerini karşılaştırmışlar ve benzer osteojenik etkilere sahip olduklarını bulmuşlardır. Bu nedenle fibrin yapıştırıcı iyi bir kemik greft malzemesi olabilir ve maksillofasiyal kemik defektlerini yeniden yapılandırmak için kullanılabilir (Khodakaram-Tafti ve ark., 2018). Shahnaseri ve ark.’ları (2020) insan alveolar yarık modeli oluşturmak için köpeklerde maksiller kemiği kullanmışlardır. Defektin bir tarafı, köpeklerin deri altı

yağ dokusundan alınan mezenkimal kök hücreler içeren hidroksiapatit/ β -trikalsiyum fosfat doku iskeleleri ile diğer tarafı ise tibiadan toplanan otolog kemik greftleri ile doldurulmuştur. Sonuçta, her iki greftin de iyi kemik oluşturma etkilerine sahip olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar doku mühendisliğinin, kemik defektlerini yeniden yapılandırmak için alternatif bir yöntem olarak kullanılabildiğini göstermektedir. Redondo ve ark.'ları (2018) maksiller kistik kemik defektlerini tedavi etmek için otolog serumdan hazırlanan BioMax doku iskelelerine alveolar kemikten elde edilmiş mezenkimal kök hücreleri kullanmışlardır. Sonuçta, osteojenik farklılaştırılmış MKH'ler içeren BioMax çapraz bağlı serum yapı iskelelerinin, maksiller defektlerin onarımı sırasında iyi bir etki oluşturduğunu gösterdiler. Zhang ve ark.'ları (2020) 3B biyobaskı ve yüksek sıcaklıkta sinterleme kullanılarak doku mühendisliği uygulaması ile yeni kemik dokusunun oluşturmuşlardır. Deneysel köpek modelinde in-situ kemik defektlerini onarabilen nanogözenekli hidroksiapatit yapı iskeleleri üretmişlerdir.

Kritik boyuttaki kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu oldukça zordur. Çünkü kemiğin canlı kalması ve büyümesi için kendisini çevreleyen kan damarlarından oksijen ve besin ihtiyacının karşılanması gerekmektedir. Bu nedenle, oral ve maksillofasial kemik defektlerinin onarımı sırasında doku mühendisliği yapılmış kemiğin vaskülarizasyonu çok önemlidir. Schlund ve ark.'ları (2019) otolog kemik iliği ve taze donmuş humeral allogreftler kullanarak travma sonrası geniş mandibular defektleri başarılı bir şekilde yeniden yapılandırmış ve radyal önkol flebi ile vaskülarizasyonu sağlamışlardır.

Doku mühendisliği ile oluşturulmuş yeni dokuların vaskülarizasyonunu sağlamak için dört ana yöntem vardır. Bunlar; 1) Yeni kan damarlarının oluşumunu teşvik etmek için büyüme faktörlerini kullanmak (Omorpos ve ark., 2021), 2) Kök hücre içeren yapı iskelesinde vasküler endotelial hücrelerin kültüre edilmesi ve anjiyogenezi teşvik etmek için in vivo implante edilmesi (Hancock ve ark., 2021), 3) Kan damarı oluşumunu desteklemek için mikrocerrahi teknolojisini kemik dokusu mühendisliği ile birleştirmek (Vidal ve ark., 2020); 4) Kan damarı oluşumunu teşvik etmek için genetik mühendisliği teknolojisini kullanmak (Est-Witte ve ark., 2020). Uygun kemik doku mühendisliği tekniğini seçmek ve iyi bir kan doku besleme sistemi oluşturmak, kritik boyuttaki kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandıracaktır.

Yeni kemik dokunun oluşturulması için osteojenik hücreler, doku iskeleleri ve büyüme faktörleri kullanılarak daha fazla doku mühendisliği çalışmaları yapılacaktır. Böylece, ağız ve çenelerdeki kemik defektlerinin kolayca tedavi edilmesi mümkün olacaktır.

2.2. Dental İmplant

Dental implantasyon, çenelerdeki eksik dişlerin yeniden rehabilitasyonu için kullanılan başarılı ve en güncel tedavi seçeneğidir. İmplant restorasyonu, doğal diş kökünün yerini alan yapay diş kökünü implante etmek için dişsiz bölgenin alveolar kemiğine yerleştirilir ve daha sonra üst kısmına yapay diş kronu takılarak eksik diş onarılır. Yeterli boyutta alveol kemiğinin olması dental implantın başarısı ve uzun süre ağız içerisinde fonksiyon görmesi için ön koşuldur. Bu başarılı yöntem, çenelerin alveol kemiklerinde yeteri kadar kemik ve yumuşak doku olmadığı durumlarda yapılamamaktadır. Özellikle diş çekimlerinden sonra görülen **kemik rezorpsiyonları bunun en büyük nedenidir. Diş çekimi sonrası alveolar kemikte büyük rezorpsiyonlar** sonucu mevcut kemiğin yükseklik ve genişliğinde yaklaşık %40-60 oranında kayıplar olmaktadır (Farmer ve Darby, 2014).

Dental implantlar, protezlerin bazı dezavantajlarını gidermesine ve diş kaybından kaynaklanan kusurları etkin bir şekilde onarmasına rağmen, diş implantı teknolojisinin gelişimini hala iki koşul engellemektedir; **1)** İmplantların yerleştirileceği alanlardaki yetersiz kemik hacmi (Pardal-Peláez ve ark., 2021) ve **2)** İmplantların çevresindeki yetersiz yumuşak dokunun bulunmasıdır (Noh ve ark., 2021). Dental implant doku mühendisliği teknolojisi iyi bir osseointegrasyon (Hao ve ark., 2021) ve yumuşak doku ogmentasyonu sağlamak için implantın dişsiz alandaki alveolar kemiğe implante edilmesinden önce alveolar kemik ve yumuşak doku ortamını değiştirir.

Doku mühendisliği, diş implantlarının uygulanması aşamasında kemik rejenerasyonu ile karşılaşılan engellerin ortadan kaldırılmasına katkıda bulunur. Yun ve ark.' ları (2014) doku iskelesi olarak gözenekli hidroksiapatit (HA) ile dental implant çevresindeki kemik defekt alanına trombosit zengin plazma (TZP) ve insan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreleri (KİMKH'ler) uygulamıştır. KİMKH'lerin ve TZP'nin kemik rejenerasyon kabiliyetini artırdığını histolojik olarak ta

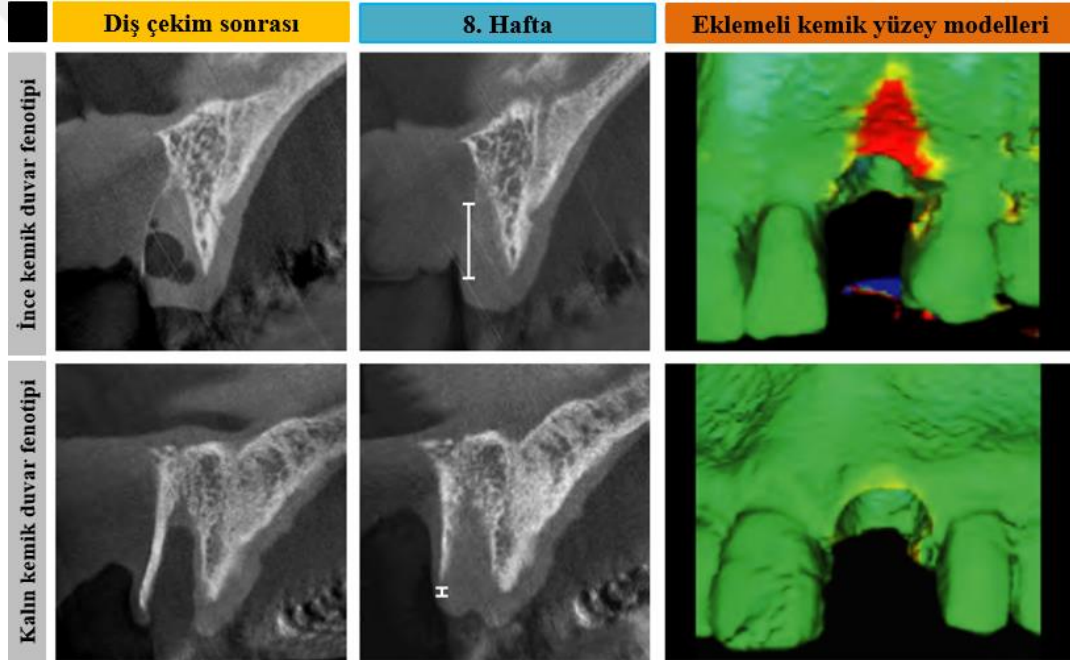
göstermişlerdir. Veriler, HA + KİMKH + TZP grubunun 6 ila 12 hafta arasında daha yüksek bir kemik yoğunluğuna sahip olduğunu göstermiştir. Hemen implantasyondan sonra implant çevresindeki kemik defektlerinde göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerin (GKMKH) etkisini araştırmak için Hao ve ark.'ları (2014) bir taraftaki kemik defektine trombositten zengin fibrin (TZF) ve GKMKH'ler ile doldurulurken, kontrol grubu ise TZF ile doldurulmuş ve çekim soketine titanyum implant yerleştirilmiştir. Sonuçlar, GKMKH'lerin implantların etrafındaki kemik defekti alanında yeni kemik oluşumunu destekleyebileceğini göstermiş; dolayısıyla GKMKH'ler, implantasyondan sonra kemik defektlerinin rejenerasyonunda çok önemli hücreler olarak kullanılabileceği ortaya çıkmıştır.

Yetersiz yumuşak doku sorunu ile ilgili olarak Simion ve ark.'ları (2012) rekombinant insan trombosit kaynaklı büyüme faktörü BB'yi (rhPDGF-BB) taşımak için bir iskele olarak emilebilir bir kollajen matriksi kullanmışlardır. rhPDGF-BB ile desteklenmiş bir kollajen matriksi uygulandığında implantların etrafındaki yumuşak doku hacminin orta derecede arttığını göstermiştir. Liu ve ark.'ları (2014) yapışık dişetinin arttırılmasına yardımcı olan aselüler dermal matriks greftleri ve yumuşak dokunun iyileşmesini kolaylaştıran rezin splintleri kullanmışlardır. Hastalar operasyondan sonra implantları çevreleyen yoğun bağ dokusunun yeniden oluşturulmasının etkilerinden memnun kaldıklarını belirtmişlerdir. Maksiller dişeti çekilmeleri olan hastalar, koronal ilerletilmiş flep ile doku altına yerleştirilmiş bir kollajen doku iskelesi üzerinde otolog fibroblast hücre kültürü (OFHK) ile tedavi edilmiş ve yumuşak dokular önemli ölçüde iyileştirilmiştir. Bu sonuçlar diş kaybından kaynaklanan yetersiz yumuşak doku sorununu çözmek için OFHK'nin yeni bir doku mühendisliği konsepti ve güvenilir bir tedavi olduğunu düşündürmektedir (Milinkovic ve ark., 2015).

Özetle, doku mühendisliği teknolojisinin yardımıyla, diş implantlarından sonra kemik rejenerasyonu için artan sayıda hücre ve yapı iskelesi kullanılmıştır. İmplantlarda yetersiz lokal kemik hacmi sorununu çözmek için yeni fikirler sağlamıştır. Doku mühendisliği ile implant çevresindeki dokuya daha az zarar verilmesi ve iyi estetik etkiler oluşturması sayesinde, oral implantolojinin gelişimi gelecekte daha da güçlü olacaktır.

2.3. Diş Çekim Soketleri

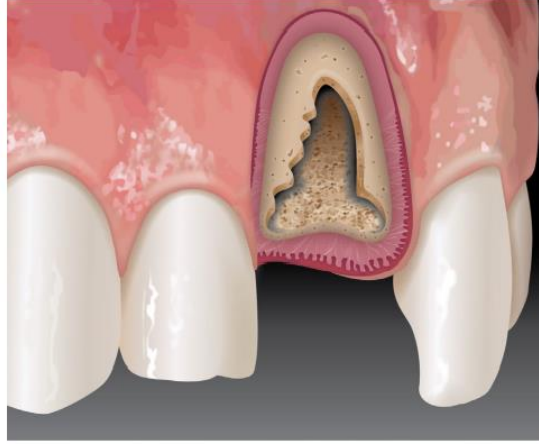
Diş çekimi, hem cerrahi müdahaleyi takip eden lokal inflamatuvar yanıtın hem de periodontal dokuların hemostazında ve yapısal bütünlüğünde değişikliğe neden olan periodonsiyumun çiğneme uyarımının yoksun bırakılmasının aracılık ettiği bir dizi biyolojik olayı tetikler. Preklinik ve klinik çalışmalarda gösterildiği gibi, diş çekildikten sonraki ilk haftalarda alveolar kemiğin yoğun bir şekilde rezorpsiyonu ve mukozanın kısmi invajinasyonu ile karakterize edilen fizyolojik bir kullanılmama atrofisi süreci olmaktadır (Şekil 2.3.) (Araujo ve Lindhe, 2005; Chappuis ve ark., 2013; Discepoli ve ark., 2013; Trombelli ve ark., 2008).



Şekil 2.3. Kemik Duvarı Kalınlığı 1 mm veya daha az olan ince kemik duvarı fenotiplerinde, 8 haftalık iyileşmeden sonra 7,5 mm veya önceki kemik yüksekliğinin ortalama %62'si kadar dikey kemik kaybına yol açan ilerleyici bir kemik rezorpsiyonu paterni ortaya çıkmaktadır. 1 mm'den fazla kalın kemik duvar kalınlığı gösteren fenotiplerinde ise, yalnızca 1,1 mm veya ortalama %9' luk bir dikey kemik kaybı olmaktadır. Sağlıklı komşu dişlere sahip tek çekim bölgelerinde boyutsal değişiklik paterni esas olarak soket duvarının merkezinde meydana gelirken, 8 haftalık iyileşmede flepsiz diş çekiminden sonra proksimal alanlar neredeyse değişmeden kalmıştır (Chappuis ve ark., 2013).

Dolayısıyla diş çekimi sonrası, çene kemiklerinde rezorpsiyona bağlı boyutsal değişikliklerin meydana gelmesi kaçınılmaz bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır

(Chappuis ve ark., 2000). Alveolar kemikte 3B (Bukkal/ lingual, vertikal ve horizontal yönde) bir kayıp meydana gelmektedir. Özellikle de kemiğin bukkal duvarında ciddi rezorbsiyonlar oluşmaktadır (Van Der Weiden ve ark., 2009; Tan ve ark., 2012) (Şekil 2.4.). Kemikte meydana gelen boyutsal değişiklikler sonucunda çekilen dişin fonksiyon ve estetiğinin geri kazandırılması oldukça güç olabilmektedir. Alveolar kretteki boyutsal stabilitenin korunması amacıyla diş çekildikten hemen sonra soketin greftlenmesinin avantajlı olacağı hipotezini doğrulamak için çeşitli klinik ve hayvan deneyleri yapılmıştır. Diş çekimi sonrası soket korumasının alveolar kemik rezorpsiyonunu azaltabileceğine dair çok sayıda kanıt vardır (Horvath ve ark., 2013; Iocca ve ark., 2017; Macbeth ve ark., 2017). Alveolar kemiğin ve yumuşak dokunun hacimsel olarak azalması sonucunda maksillofasiyal bölgede fonksiyon kaybı, estetik problemler ve yaşam kalitesinin azalması söz konusudur (Jamjoom ve Cohen, 2015; Sanz ve Vignoletti, 2015). Şiddetli alveolar kemik kaybı dental implantın uygulanabilirliğini sınırlandırmakta ve defektli bölgenin yeniden restorasyonunu karmaşık hale getirmektedir (MacBeth ve ark., 2017). Bu problemi ortadan kaldırmak için diş çekimi sonrası oluşan soketin (boşluğun) hacminin korunması; yeniden sağlıklı ve canlı yeni kemik dokusu ile dolması için çeşitli yöntemler denenmiş ve uygulanmıştır. Rezorbsiyona uğrayan alveol kemiğinin yeniden oluşturulması ve yumuşak doku bütünlüğünü korumak için diş çekimi sonrası yeterli süre beklendikten sonra kemik ve yumuşak doku ogmentasyon (büyütme, güçlendirme) tekniklerinin uygulanması gerekmektedir (Troiano ve ark., 2018). İyileşme dönemi geçtikten sonra yapılan ogmentasyon tekniklerinde kullanılan yöntemlerde ikinci bir operasyon gerekliliği, dokularda meydana gelen travma, enfeksiyon riski, alıcı saha morbiditesi, immünojik yanıt ve maliyet artışı gibi birçok problemde beraberinde gelmektedir (Avila-Ortiz ve ark., 2014; Moy ve Aghaloo, 2019). Bu sorunun çözümü için farklı bir yaklaşım olarak alveolar sırtın korunması (çekim soketinin hacimsel olarak bütünlüğünün korunması) teknikleri önerilmektedir. Bu teknikte diş çekim yuvası aynı seansta çeşitli biyoy uyumlu malzemeler ile doldurulmuş ve kemik rejenerasyonuna etkisi araştırılmıştır. Bu uygulamalar kanıtlanmış ve etkili bir tedavi metodu olarak karşımıza çıktığı görülmektedir. Buradaki amaç diş çekim soketinin iyileşme sürecini desteklemek, hücre aktivasyonu teşvik ederek rezorbsiyonu engellemektir (Kalsi ve ark, 2019).



Şekil 2.4. Diş Çekim Sonrası Alveolar Soketi Temsil Eden Geniş Bir Bukkal Kemik Defekti (Avila-Ortiz ve ark., 2019).

Kemiğin yeniden şekillenme sürecinin kapsamı ve büyüklüğü, bireysel yerel ve sistemik faktörlere bağlı olarak değişebilir, ancak tipik olarak bukkal-koronal yönü etkileyen belirli derecede yatay ve dikey alveolar kemiğin azalması ile sonuçlanır (Tan ve ark., 2012; Van Der Weijden ve ark., 2009). Kemik ve/veya yumuşak doku ogmentasyon prosedürleri genellikle implant yerleştirmeden önce veya yerleştirme sırasında yetersiz dişsiz alveolar kemiğin tedavisi için gerekli olmaktadır (Lim ve ark., 2018).

Literatürde klinik ve histomorfometrik sonuçlar açısından ekstraksiyon soketine bir biyomateryal (otojen, allojenik veya ksenojenik) yerleştirmenin etkinliği çok yönlü araştırılmıştır (Canellas ve ark., 2020; Minetti ve ark., 2022). Alveolar kemik rezorbsiyonunun çoğu, diş çekildikten sonraki ilk 3-6 ayda meydana gelir ve bu da %29-63' lük bir kemik genişliğinin kaybıyla sonuçlanır (Tan ve ark., 2012). Genel olarak, yayınlanmış literatürde bildirildiği gibi, diş çekimi sonrası kemik rezorbsiyon miktarı ortalama olarak dikey olarak $1,76 \pm 2,03$ mm ve yatay olarak 3,87 mm'dir (Van Der Weijden ve ark., 2009).

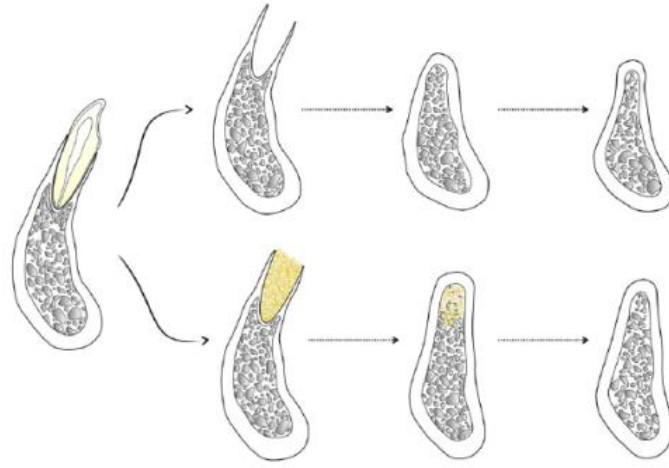
Diş çekimi sonrası soketteki alveolar kemiği korumak için farklı kemik greftleme materyalleri önerilmiştir (Canellas ve ark., 2020). Ancak kemik rezorbsiyonunu tamamen önleyebilecek ideal bir greft materyali yoktur (Avila-Ortiz ve ark., 2014; Morjaria ve ark., 2014). Hangi tür biyomateryallerin en öngörülebilir klinik sonuçları sunduğuna ilişkin kararlar, greft materyali ile doğal iyileşme arasındaki alveolar

kemik kaybında beklenen potansiyel farkı ve her biyomateryalin maliyet etkinliği dikkate alınmalıdır (Canellas ve ark., 2019). Alveolar kemiğin korunmasındaki ana amaç, doğal bir süreç olan alveolar kemiğin kollapsından kaçınmak, implant cerrahisi sırasında daha fazla kemik ogmentasyon prosedürünü ortadan kaldırmak veya azaltmaktır. Fakat alveolar kemiğin korunma prosedürlerinin klinik faydasını destekleyen kanıtlar sınırlıdır (Canellas ve ark., 2021; Horvath ve ark., 2013).

Diş kaybını sonrası rezorptif olayları hafifletmek ve implant ve/veya diş destekli restorasyonların uygulanmasından önce alveolar kret ogmentasyon prosedürlerine olan ihtiyacı en aza indirmek amacıyla, kısmi çekim protokolleri dahil olmak üzere farklı önleyici tedaviler yapılmaktadır (Baumer ve ark., 2017; Hurzeler ve ark., 2010; Salama ve ark., 2007). Bunlar, ortodontik ekstrüzyon (Amato ve ark., 2012; Joo ve ark., 2016; Salama ve Salama, 1993) ve diş çekiminin tamamlanmasından hemen sonra gerçekleştirilen alveolar kret koruması (AKK) prosedürleridir. Son 20 yılda, yalnızca biyomateryal ile soket greftleme (Artzi ve ark., 2000), kemik duvarının oluşturulması (Brugnami ve Caiazzo, 2011), dahil olmak üzere çok çeşitli AKK tedavi modaliteleri tanımlanmıştır. Bir bariyer membran ve biyomateryal (Lekovic ve ark., 1998) veya bunların bir kombinasyonu (Iasella ve ark., 2003) şeklinde sokete yerleştirilerek, AKK prosedürleri gerçekleştirilmektedir (Şekil 2.5., Tablo 2.1). AKK terapileri, çağdaş diş hekimliği uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır ve önceki sistematik incelemelerde gösterildiği gibi etkinliklerini destekleyen sağlam kanıtlar vardır (Avila-Ortiz ve ark., 2014; Avila-Ortiz ve ark., 2019; Iocca ve ark., 2017; MacBeth ve ark., 2017; Vignoletti ve ark., 2012; Vittorini Orgeas, ve ark., 2013).

Tablo 2.1. Soket Anatomisine Bağlı Olarak AKK için Öneriler (Kalsi ve ark., 2019).

Diş çekim Soketi Tipi	Soket Tanımlaması	Ogmentasyon Önerileri
Tip I	Kemik ve yumuşak doku bütünüyle korunmuş	Kemik grefti ve membran, tek başına kemik grefti, tek başına membran veya grefte ihtiyaç yok
Tip II	Labial defekt (bukkal dehisens veya fenestrasyon)	Kemik grefti ve membran
Tip III	Labial ve interproksimal vertikal defekt	Ekstraksiyon öncesi ortodontik ekstrüzyon



Şekil 2.5. Doğal İyileşmeden Sonra (Üst Sıra) Beklenen Alveolar Kemik Değişiklikleri ile Diş Çekimi Sonrası Söket Greftleme (Alt Sıra) Yoluyla Alveolar Sırtın Korunmasını Karşılaştıran Şekil Çizimleri (Avila-Ortiz ve ark., 2014).

2.4. Diş Çekim Söketlerinde Kullanılan Biyomalzemeler

Kemik grefti, tek başına veya diğer malzemelerin kombinasyonu halinde kemik defektine yerleştirilen, kemik iyileşmesini destekleyebilen biyomalzemeler olarak tanımlanmaktadır (Cypher ve Grossman, 1996; Elsalanty ve Genecov, 2009). Kemik greftleri genellikle canlı hücre içermeyen mineralize kemik matrisi yapısındaki doğal veya sentetik malzemelerden oluşabilir (Fernandez de Grado ve ark., 2018) (Tablo 2.2.). Dental implantolojideki ilerlemeler ve kraniyofasiyal kemik defektlerinin onarımına yönelik artan ihtiyaç nedeniyle diş hekimliğinde kemik greftlerinin kullanımı son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. Kemik defektleri; travma, periodontal hastalık, cerrahi eksizyon, kraniyoplasti, enfeksiyon, konjenital malformasyonlar ve ağız kanserinden kaynaklanabilir (Elsalanty ve Genecov, 2009). Diş hekimliğinde yetersiz kemik miktarının en yaygın gözlenen tipi periodontal ligament lifleri yoluyla meydana gelen intraosseöz stimülasyonun yokluğu nedeniyle alveolar kemiğin hızlı rezorbsiyonunun meydana geldiği diş kaybı sonucunda olmaktadır (Kumar ve ark., 2013).

Dental implantların başarılı bir şekilde yerleştirilmesi için alveolar kemiğin yeterli hacim ve yükseklikte olması gerekmektedir (Pommer ve ark., 2012). Halihazırda gerçekleştirilen tüm dental implant prosedürlerinin %50' sinde kemik greftlerinin

kullanımına ihtiyaç olduğu tahmin edilmektedir (Cha ve ark., 2016). Dünya çapında kemik greft malzemelerinin yaygın kullanımına rağmen bazı limitasyonları da vardır. Öncelikle allogreftlerin kullanımını, genetik olarak farklı iki denek arasında greft materyallerinin transferini içerirken; otogreftler, greft materyalinin bir vücut bölgesinden diğerine transferini içermektedir (Elsalanty ve Genecov, 2009). Genel anlamda ideal kemik greft materyali güvenli, uygun maliyetli ve biyouyumlu olmalıdır. Yabancı cisim reaksiyonunu veya inflamatuvar reaksiyonu önlemelidir. Steril olmalı ve iyileşme döneminde kemik oluşum sürecini uyarmalı veya sınırlamamalıdır. Yeni oluşan kemik için boşluk bırakarak organizma tarafından tamamen veya neredeyse yeniden emilebilir olmalıdır (Fernandez de Grado ve ark., 2018). Piyasadaki ürünlerin hiçbiri şu anda düşük hasta morbiditesi, kullanım kolaylığı, düşük immünojenisite, düşük maliyet ve anjiyojenik potansiyel dahil olmak üzere kemik greft materyali için ideal özelliklerin tümüne sahip değildir (Bhatt ve Rozental, 2012; Haugen ve ark., 2019; Wang ve Yeung, 2017). Otogreftlerin dezavantajları arasında ameliyat sonrası ağrı, donör sahada morbiditesi ve iki kez ameliyat prosedürüne ihtiyaç olması sayılabilir. Allogreftlerin dezavantajları ise alıcının bağışıklık sistemi tarafından donör dokusunun reddedilmesi ve HIV/ hepatit gibi hastalıkların bulaşmasıyla ilgili endişeler bulunmaktadır (Ratnayake ve ark., 2020). Son yıllarda, endikasyonlar ve güvenlik için kanıta dayalı çok az araştırmaya rağmen, piyasada kemik dokusu yerine geçen ürünler gibi daha yeni kemik rejenerasyon materyallerinin kullanılması yönünde artan bir eğilim oluşmuştur (Bhatt ve Rozental, 2012). Bu nedenle, kemik grefti materyalleri için talepte devam eden belirgin artışlar ve bu endişe verici konular, kemik greft prosedürlerinde kullanılan yeni materyallerin geliştirilmesine yönelik daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu güçlü bir şekilde göstermektedir (Haugen ve ark., 2019; Ratnayeke ve ark., 2017).

Kemik greftlerinin ana işlevi, nihai kemik replasmanı hedefiyle mekanik destek sağlamak ve osteo-rejenerasyonu stimüle etmektir (Bhatt ve Rozental, 2012). Osseointegrasyon, osteogenez, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyonun dört temel biyolojik özelliği, bu rolü etkili bir şekilde yerine getirmede çok önemlidir (Moore ve ark., 2001; Wang ve Yeung, 2017). Greft malzemesinin arasına giren fibröz doku tabakasının yokluğunda kemiğin yüzeyine kimyasal olarak bağlanma kabiliyetine

osseointegrasyon denir. Osteogenez, greft materyali içinde bulunan osteoblastlar veya progenitör hücreler aracılığıyla yeni kemik oluşumunu ifade eder. Osteokondüksiyon, bir kemik greft materyalinin, üzerinde konakçı hücrelerin büyüyebileceği biyoaktif bir yapı iskelesi oluşturma yeteneğini ifade eder (Cypher ve Grossman, 1996; Kao ve Scott, 2007). Bu yapı; damarların, osteoblastların ve konakçı progenitör hücrelerin birbirine bağlı osteomatrikse göç etmesini sağlar. Her biyomateryalde bulunan partiküllerin osteokondüktif potansiyeli, boyutu, şekli ve mikro gözenekli yapısı biyolojik ve klinik yanıtı etkileyebilir (do Desterro Fde ve ark., 2014). Osteoindüksiyon, lokal proteinlerin ve diğer faktörlerin kök hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını indüklediği greftleme bölgesine konakçı kök hücrelerin alınmasıdır (Misch ve Dietsh, 1993). Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (TKBF), fibroblast büyüme faktörleri (FBF) ve dönüştürücü büyüme faktörleri- β (DBFs- β) dahil olmak üzere çoklu büyüme faktörleri bu süreci etkiler. Bu temel özellikler, doğrudan kemik ara bağlantısına paralel olarak ortaya çıkan yeni kemik oluşumunu aktive eder (Kolk ve ark., 2012; Robert ve Rosenbaum 2012).

Tablo 2.2. AKK İçin Mevcut Biyomalzemeler (Kalsi ve ark., 2019).

Biyomalzeme	Ticari unvan	Kaynak
Kemik grefti biyomalzemeleri		
Tetrasiklin hidratlı dondurularak kurutulmuş kemik allogrefti	-	İnsan
Demineralize dondurularak kurutulmuş kemik allogrefti	-	İnsan
Domuz kaynaklı koritokansellöz kemik karışımı ve kollajen membran	OsteoBiol Gen-O'lar	Hayvan
Proteinden arındırılmış sığır kemiğı malzemesi	Bio-Oss	Hayvan
Proteinden arındırılmış sığır kemiğı materyali ve domuz kollajeni	Bio-Oss Kollajen	Hayvan
Hidroksiapatit ve β-trikalsiyumfosfat malzemesi	Symbios Bifazik kemik grefti materyali	Bitki
Nanokristal hidroksiapatit (biyoaktif cam)	NanoKemik	Sentetik
Bifazik kalsiyum fosfat	Straumann Kemik Seramik	Sentetik
Beta-trikalsiyum fosfat	Emilebilir doku replasmanı (Septodont)	Sentetik
Membran biyomalzemeleri		
aselüler dermal matris	alloderm	İnsan
3D kolajen matrisi	mukograft	Hayvan
Kollajen bariyer membranı	Bio-Gide membran	Hayvan

2.4.1. Doğal Kemik Greftleri

Doğal kaynaklı greftler, herhangi bir değişiklik yapılmadan canlı bir kaynaktan elde edilen malzemeler olarak tanımlanır. Bu greftler; otogreftler, allogreftler (mineralize kemik matrisi vb.), ksenogreftler ve fitojenik materyaller olmak üzere dört kategoriye ayrılmaktadır (Kolk ve ark., 2012; Robert ve Rosenbaum, 2012; Wang ve Yeung, 2017).

2.4.1.1. Otogreftler

Otogreftler, iyi bir kortikal ve süngerimsi kemik kaynaklarıdır. Aynı kişiden alınan mandibular simfiz, mandibular ramus, eksternal oblik kret, iliak kret, proksimal ulna veya distal radius gibi intraoral ve ekstraoral bölgelerden elde edilir (Elsalanty ve Genecov, 2009). Mandibular ramustan alınan otogreft kemiği, diğer intraoral bölgelere kıyasla daha düşük komplikasyona yol açmakla beraber alveolar sinire zarar verme riski taşır. Otogreftler doku uyumluluğu oldukça iyidir ve immünojenite sorunları oluşturmaz. Bu nedenle en yüksek biyolojik güvenlik derecesine sahiptir. Bununla birlikte, otogreftlerle ilişkili, ikincil bir cerrahi işlem gerekliliği, donör saha yaralanması ve skar potansiyeli gibi birkaç olumsuz tarafları da vardır. Ek olarak, otogreftler, daha yüksek cerrahi maliyetler, daha önemli cerrahi riskler (aşırı kanama, enfeksiyon, iltihaplanma ve ağrı) ve bunların uygulamalarını nispeten daha küçük kemik defektleriyle sınırlandırmıştır. Büyük kraniyofasiyal defektlerde otogreftler geçerli bir seçenek olmayabilir (Misch, 2010; Pikos 2000).

Son yıllarda çok sayıda kemik greft malzemesinin geliştirilmesine rağmen, otogreftler, gerekli dört temel biyolojik özelliğin tümüne sahip olan tek greft materyali olduklarından, greftleme materyalleri için altın standart olmaya devam etmektedir (Misch, 2010). Dental tedavi uygulamalarında, lokalize alveolar kemik defektlerinin tedavisi ve maksiller sinüs kemik grefti için rutin olarak diğer kemik greftleri kullanılsa da, blok formlardaki otogreftler hala alveolar kret büyütme prosedürlerinde rutin olarak kullanılmaktadır. Otogreftler, posterior mandibular dişsiz alanların rekonstrüksiyonu gibi daha karmaşık augmentasyon prosedürleri için tercih edilen materyal olmaya devam etmektedir (Deshpande ve ark., 2014; Misch, 2010; Pikos 2000). Bunun nedeni, otojen blok greftler kemik kalitesini ve miktarını

tahmin edilebilir bir şekilde artırabilmesi ve uzun süreli sağkalım için güç dağılımını kolaylaştıran büyük çaplara sahip implantların yerleştirilmesine izin vermesidir (Misch, 2010; Pikos 2000; Zhao ve ark., 2021).

2.4.1.2. Allogreftler

Otogreftin birincil alternatifi, uyumlu bir canlı donörden veya kadavra kemik kaynaklarından elde edilebilen allogreft materyallerinin kullanılmasıdır (Robert ve Rosenbaum, 2012). Allogreft malzemeleri taze, dondurulmuş veya dondurularak kurutulmuş olmak üzere üç ana formda hazırlanabilir. Taze ve donmuş allogreft materyalleri üstün osteoindüktif özelliklere sahiptir, ancak konakçı immünojenik yanıt riskinin yüksek olması, sınırlı raf ömrü ve artan hastalık bulaşma riski nedeniyle günümüzde nadiren kullanılmaktadır.

Son yıllarda, allogreft materyallerinin kullanımı daha sık tercih edilmektedir (Bostrom ve Seigerman, 2005). Bununla birlikte, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ve Hepatit B ve C gibi bulaşıcı hastalık bulaşma riskiyle ilgili sınırlamalar devam etmektedir. Bu endişeler genellikle sterilizasyon, mekanik debridman, ultrasonik yıkama ve gama ışınlaması gibi doku işleme yoluyla azaltılabilmektedir (Kao ve Scott, 2007). Allogreftler, kemik ogmentasyon prosedürlerinde yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) için ksenogreftlerle kombinasyon halinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.

2.4.1.3. Ksenogreftler

Otogreftler ve allogreftler, kemik grefti uygulamasındaki mükemmel başarı oranlarına rağmen farklı sınırlamaları da bulunmaktadır. Bu nedenle, uygun bir kemik ogmentasyon mikroçevresi oluşturarak gelişmiş osteojenik, osteokondüktif ve osteoindüktif potansiyelleri teşvik etmek için doğal kemik greft materyalleri geliştirilmiştir (Kozusko ve ark., 2018). Ksenogreftler, konakçıdan genetik olarak ilişkisiz bir türden üretilen greft materyalleridir (Kao ve Scott, 2007). Dental alandaki en yaygın kullanılan ksenogreft materyali sığır kemiğinden elde edilmektedir. Sığır kemiğinin inorganik bileşenlerini içeren gözenekli bir hidroksiapatit (HA) materyali üretmek için NaOH ile kimyasal işleme tabi tutulur. Ortaya çıkan gözenekli yapı, insan kemiğine oldukça benzerdir. İyi bir mekanik

destek sağlayabilir ve osteokondüksiyon yoluyla kemik iyileşmesini uyarabilir. Gözenekli yapı, geniş bir yüzey alanı oluşturur ve kemik büyümesini artıran anjiyogenez yoluyla yeni kan damarlarının büyümesini de destekler. Sığır kemiğinden elde edilen greftler, üstün stabiliteleri ve düşük immünojenisiteleri nedeniyle maksiller sinüs cerrahileri ve implant prosedürlerinde yaygın olarak kullanılmıştır (Kao ve Scott, 2007; Oliveira ve ark., 2019). Özkan ve ark.' ları (2011), tek aşamalı maksiller sinüs ogmentasyon prosedürlerinde kullanılan sığır kemik greftlerinin implant yerleştirilmesine izin veren yeterli kalite ve hacimde kemik oluşturduğunu bulmuştur.

2.4.1.4. Fitojenik Biyomalzemeler

Fitojenik malzemeler, mercan bazlı ve deniz yosunları gibi bitkilerden elde edilen kemik greft malzemeleridir. Mercan bazlı kemik greftleri ağırlıklı olarak doğal olarak oluşan formunda kullanılan ya da amonyum fosfat ile ısıtılıp işlenilen ve daha sonra minimum oranda karbonata sahip olan kristalli hidroksiapatit (HA)' e dönüştürülen kalsiyum karbonattan oluşur (Bhatt ve Rozental, 2012; Fernandez de Grado ve ark., 2018; McPherson ve ark., 2019, Shavandi ve ark., 2016). HA, kemikten veya mercan gibi doğal malzemelerden elde edilen doğal bir kalsiyum fosfat polimeridir ve yapısal bir iskele görevi görme yeteneğinden dolayı kemik iyileşmesini desteklemek için yaygın olarak kullanılır.

AlgiPore, 1988'den beri klinik olarak kemik greft maddesi olarak kullanılan deniz yosunlarından elde edilen doğal olarak oluşan bir HA'dır (Galindo-Moreno ve ark., 2020). Bu malzeme, zaman içinde iyi emilebilirlik, protein yapışması için geniş bir yüzey alanı ve düşük immünojenite gibi arzu edilen özelliklere sahiptir. AlgiPore ayrıca büyüme faktörleri (BF) ve MSCs'ler için bir taşıyıcı görevi görebilir (Smiler ve ark., 2007; Turhani ve ark., 2005; Wanschitz ve ark., 2005).

2.4.2. Sentetik Kemik Greft Malzemeleri

Donör bölgelerindeki potansiyel immünojenite ve morbiditenin üstesinden gelmek için, doğal kemiğin biyolojik özelliklerini yakından taklit etmek için yapay kemik greft malzemeleri üretilmektedir. Buna rağmen, şu anda kullanılan mevcut sentetik malzemeler sadece osteointegratif ve osteokondüktif özellikler göstermektedir

(Moore ve ark., 2001). Bu kategoriye giren malzemeler arasında hidroksiapatit (HA), trikalsiyum fosfat (TKF) ve biyocam gibi kalsiyum fosfat seramikleri; nikel-titanyum gibi metaller; polimetilmetakrilat (PMMA) ve poliglikolitler ve kalsiyum fosfat gibi polimerlerdir (Kolk ve ark., 2012; Kumar ve ark., 2013).

2.4.2.1. Hidroksiapatit

HA'nın kimyasal bileşimi, kemiğin inorganik bileşenine çok benzer, bu da onun kemik greft materyali olarak kullanılmasını sağlar (Kattimani ve ark., 2016). Bununla birlikte, sentetik HA, çeşitli biyomekanik reaksiyonları etkileyen sığır kemiği gibi doğal olarak elde edilen HA'da bulunan eser miktarda Na +, Mg 2+, K + ve Sr + içermez. Sentetik HA, sığır türevi HA'da görüldüğü gibi mikro gözenekli bir yapıya sahip değildir (Ratnayake ve ark., 2017). Sentetik HA, nispeten yüksek Ca/P oranı ve kristallliği nedeniyle gecikmiş bir emilim hızına sahiptir. HA ile ilgili bir diğer önemli endişe, nispeten düşük mekanik mukavemetinin, yüksek yük taşıyan bölgelerde kullanılmasını engellemektedir. Önceki çalışmalar, tek başına veya bir polimer ile kombinasyon halinde sentetik HA ile greftlemenin ardından oluşan yeni kemiğin kalite ve miktarının, endosseöz implantların yerleştirilmesi, maksiller sinüsün kaldırılması, periodontal kemik defektlerinin onarımı ve alveolar kemik yüksekliklerinin korunması için yetersiz olduğunu bulunmuştur (Dewi ve Ana, 2018). Bu nedenle, diş hekimliğinde HA uygulaması genellikle implantlar, eksternal fiksator pimleri veya düşük yükleme stresi olan bölgelerdeki kaplama ile sınırlıdır (Kattimani ve ark., 2016; Wang ve Yeung, 2017). HA bazlı kemik greft malzemelerindeki son gelişmeler, doğal kemiğin bileşimini daha yakından taklit eden biyomekanik özellikleri artıran nano boyutlu HA üretmeyi araştırmıştır. Bu nano boyutlu malzemelerin geliştirilmesinin gerekçesi, kemik hücre dışı matrisine çok daha yakın bir benzerlik; dış çevresel uyaranlara daha hızlı tepki, büyüme faktörleri gibi biyoaktif moleküllerin gelişmiş dağıtımı ve kontrollü salınımı, gelişmiş osteo-rejeneratif özelliklere olanak tanımaktadır (Funda ve ark., 2020; Wang ve ark., 2012). Nanokristal HA, geleneksel HA formlarına kıyasla gelişmiş biyolojik performans ve çözünme sergiler (Sakamoto, 2010). Geleneksel HA formları ile karşılaştırıldığında tüm alanlarda performans olarak önemli gelişmeler olmasına

rağmen, nanokristal HA'nın yaygın kullanımını desteklemek için yetersiz kanıt bulunmaktadır

2.4.2.2. Trikalsiyum Fosfat Seramikleri (β -TKF)

TKF' nin α -TKF ve β -TKF şeklinde iki kristalografik formu vardır (Sheikh ve ark., 2019; Tamimi ve ark., 2012). β -TKF, uzun yıllardır kemik yerine yaygın olarak kullanılan bir tür kalsiyum fosfat malzemesidir. Düşük Ca/P oranı nedeniyle HA ile karşılaştırıldığında daha hızlı biyolojik bozunma ve absorpsiyon sergilemektedir (Wang ve Yeung, 2017). Saf fazik β -TKF, kullanım kolaylığı, iyileşmenin izlenmesine izin veren radyoopasite, fibrovasküler büyümeyi ve osteojenik hücre yapışmasını destekleyen makroporozite nedeniyle iyi osteoiletkenlik, sıgır kemik greftlerine kıyasla iyi emilebilirlik, düşük immünojenisite ve hastalık riski gibi birçok arzu edilen özelliğe sahiptir (Horowitz ve ark., 2014; Kao ve Scott, 2007). β -TKF'nin birbirine bağlı gözenekli yapısı gelişmiş vaskülarizasyona izin verirken, aynı zamanda malzemenin sıkıştırma altında zayıf mekanik mukavemeti ile sonuçlanır (Bhatt ve Rozental, 2012; Kao ve Scott, 2007; Wang ve Yeung, 2017). Bu durum, β -TKF'nin kemik grefti olarak kullanımını sınırlandırmakta, ancak kemik defektlerinde dolgu maddesi olarak kullanım ve morfolojik bölgelerdeki onarım için uygun olmasına yol açmaktadır (Suneelkumar ve ark., 2008). Genellikle marjinal periodontal ve periapikal defektleri onarmak ve alveolar kemik defektlerinde kısmen emilebilir bir dolgu maddesi olarak kullanılmaktadır (Stavropoulos ve ark., 2010). Nakajima ve ark.' ları (2007) β -TKF' nin kemik rejeneratif potansiyelinin, dondurularak kurutulmuş kemik allogrefti, proteini giderilmiş dondurularak kurutulmuş kemik allogrefti ve otogreft materyalleri ile karşılaştırılabilir olduğunu bulmuştur.

2.4.2.3. Polimerler

Kemik rejenerasyonu için en yaygın olarak kullanılan polimerler arasında polilaktik asit, poliglikolik asit, poli-kaprolakton ve bunların kopolimerleri ve türevleri bulunur (Haugen ve ark., 2019, Kolk ve ark., 2012). Bu malzeme grubunun önemli avantajları, özelleştirilebilir formları, düşük immünojenisitesi, kontrol edilebilir emilebilirliği, gözenekliliği ve fizyokimyasal yapısı olarak sayılabilir (Fuchs ve ark.,

2001; Haugen ve ark., 2019). Bununla birlikte, lokal pH, osteoiletkenlik ve zayıf hücre yapışma kapasitesinin değişmesine neden olan asidik bozunma ürünlerinin salınımı ile ilgili endişeler nedeniyle ağız bölgelerinde kullanımlarını kısıtlamaktadır (Pilipchuk ve ark., 2015; Yan ve ark., 2011). Polimer bazlı kemik greft malzemelerinin kullanıldığı hayvan çalışmaları yapılmıştır ve bunlar çoğu vakada komplikasyon olmamasından ara sıra inflamatuvar reaksiyonlara kadar değişen çeşitli sonuçlar göstermiştir (Kolk ve ark., 2012). HA veya TKF eklenmesi gibi polimer bazlı yapı iskelelerinde yapılan modifikasyonların, materyalin kemik rejenerasyon potansiyelini iyileştirebileceği öne sürülmüştür (Danoux ve ark., 2014; Fairag ve ark., 2019).

2.4.2.3.1. Kitosan

Günümüzde araştırılmakta olan umut verici bir ksenogreft materyali, glukozamin ve N-asetilglukozaminden oluşan kabukluların dış iskeletlerinden türetilen doğal oluşan polimer yapısındaki kitosandır (Oryan ve ark., 2014). Kitosan, osteoblastik aktiviteyi, mineralize kemik matrisinin oluşumunu destekleyen ve çeşitli in vitro ortamlarda mezenkimal kök hücrelerin (MKH)'lerin osteoblastlara farklılaşmasını indükleyen yapısal bir iskele sağlayarak kemik rejenerasyonunu uyarabilir (Kozusko ve ark., 2018). Kitosan, damla, lif, hidrojel ve gözenekli yapı iskeleleri gibi daha karmaşık yapılar dahil olmak üzere çeşitli formları mevcuttur. Kitosanın zayıf mekanik özellikleri nedeniyle, daha fazla istenen özellikleri sağlamak için genellikle jelatin, kalsiyum fosfatlar ve biyocam gibi diğer malzemelerle birleştirilir (Jebahi ve ark., 2014; Nie ve ark., 2020; Shavandi ve ark., 2016; Xu ve ark., 2005). Wattanutchariya ve Changkowkai, kitosanın jelatin ve hidroksiapatit (HA) ile karıştırılmasının, azaltılmış bozunabilirlik, hücre tutunması ve vaskülarizasyona elverişli bir açık gözenek yapısı dahil olmak üzere daha fazla arzu edilen özelliklere sahip gözenekli bir yapı oluşturduğunu bulmuşlardır (Wattanutchariya ve Changkowchai, 2014). Kitosan bazlı kemik ikame malzemeleri ayrıca düşük immünojenisite, lifli kapsül yapısı, yapısal çok yönlülük ve hücre yapışmasını ve çoğalmasını destekleyen hidrofilik bir yüzey gibi başka faydalı özelliklere de sahiptir (Kozusko ve ark., 2018). Kitosan bazlı kemik greftleme malzemesinin çok yönlü yapısı, onu geleneksel altın standart otogreftlere böyle umut verici bir alternatif

olarak göstermektedir. Dental alandaki son çalışmalar, kitosan bazlı materyallerin yönlendirilmiş doku rejenerasyonu, implant yüzeylerinin kaplanması, periodontal rejenerasyon ve alveolar kemik yüksekliğinin restore edilmesi için bir membran olarak başarılı bir şekilde kullanıldığını bildirmiştir (Husain ve ark., 2017; Aguilar ve ark., 2019). Li ve Shan (2011) diş çekimi sonrası yara iyileşmesi üzerine kitosan bazlı mikrobiyal fiber membran flagil (MF-FLA) ile ilgili klinik çalışma yapmışlardır. Bu biyomalzeme ile elde ettikleri sonuca göre, biyouyumluluğu, izolasyonu, anti-inflamatuvar yeteneği ve diş yuvasında kan pıhtısı oluşumunu desteklemesi nedeniyle daha iyi ve erken yara iyileşmesi görüldüğü, yeni kemiğin proliferasyonunu indüklediği ve çekim sonrası komplikasyon insidansının azaldığını göstermişlerdir.

2.4.2.3.2. Metakrilatlanmış Jelatin (Gel-MA)

Doku onarımı için biyomateryal iskelelerin geliştirilmesinde hidrojel, iyi biyouyumluluğu ve modifikasyon kolaylığı nedeniyle uygun bir materyal olarak kabul edilmektedir (Chuah ve ark., 2017). Metakrilatlanmış jelatin (Gel-MA), iyi hücre yapışmasına sahip, doğal olarak oluşan biyopolimerlere dayanan jelatin türevidir, fotopolimerize olabilen bir biyomateryaldir (Yue ve ark., 2015). Gel-MA, kolajen ve jelatin gibi geleneksel doğal proteinlerden daha düşük immünojeniteye ve daha iyi şekillendirilebilirliğe sahiptir (Chuah ve ark., 2017; Chu ve ark., 2017).

Alveolar kemiğin defektli bölgelerinde rejenerasyonu sağlamak için doku mühendisliği uygulamalarında doku iskelesi esaslı biyomalzemelerin kullanımını kemik doku bütünlüğünün korunmasında oldukça avantajlı görünmektedir (Agarwal ve Garcia, 2015). Hücreler, yapı iskeleleri ve büyüme faktörleri doku mühendisliği uygulamalarında temel bileşenleri oluşturmaktadır. Doku iskelesi, büyüme faktörleri sağlayabilir ve hücre bağlanmasını (tutunmasını) destekler (Mayer ve ark., 2018). Kemik dokusunu taklit eden veya yerine geçen biyomalzemeler çevre dokulardan hücreleri indükleyerek ideal kemik formasyonun şekillenmesinde rol oynarlar. Özellikle biyo-benzer hücre dışı matriks (ECM) kemik iyileşmesini aktive etmede önemli görev üstlenmektedir (Ding ve ark., 2019).

Doku iskeleleri geniş, düzenli üç boyutlu mimaride üretilmiş makro boyutlu yapılardır. Bu yapılar doğrudan ya da hücre/ biyosinyal molekül içerecek şekilde

hazırlanıp **in-vivo implante** edilebilirler. Ancak geleneksel doku mühendisliği yaklaşımı ile kompleks doku oluşumu yeterince sağlanamamakta (Ozbolat, 2015) ve istenen anatomik yapıya uygun dizaynda üretim yapılamamaktadır. Ayrıca hücre ekimi pipet aracılığıyla iskele üzerine yapıldığından istenen sayıda hücre ekimi ve homojen hücre dağılımı sağlanamamaktadır (Wüst ve ark., 2011).

Enjekte edilebilir hidrojel formların geleneksel katı doku iskeleleri ile karşılaştırıldığında birçok avantaja sahiptir: i) hücrelerin 3-boyutlu ve eşzamanlı konumlandırılmasına izin verir, ii) yüksek seviyede hücre yoğunluğu ile doku oluşturulmasına izin verir, iii) doku desteklerinde damarlaşma problemine çözüm getirir ve iv) in-vivo koşullarda defekt bölgesine **doğrudan (in-situ)** uygulanabilir (Mironov ve ark., 2009). Yöntemde her türlü hücre çeşidi kullanılabilir ve **çok sayıda hücreye ihtiyaç duyulmaktadır.**

Doku mühendisliği ve rejeneratif tıp çalışmalarında **jelatin, yüksek biyouyumlu, biyobozunur, kolay manipüle edilebilir ve ucuz olması** nedeniyle oldukça sık kullanılmaktadır (Wüst ve ark., 2011). Ayrıca, jelatin ilaç ve yiyecek endüstrisinde kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanmıştır. Jelatin hücre dışı matrisin ana bileşeni olan kollajenin asidik veya bazik yöntemlerle denatürasyonu ile elde edilmektedir. Jelatin, kollajenin sahip olduğu hücre yapışma proteinleri olan arjinin-glisin-aspartik asit (RGD üçlü peptid sekansı)'e sahipken kollajenin aksine antijenik özellik göstermez (Peltola ve ark. 2008). Bu durum jelatinin doku mühendisliği biyomalzemesi olarak kullanımını oldukça cazip hale getirmektedir.

Jelatin kovalent yolla çapraz bağlanarak vücut sıcaklığında kararlı hale getirilebilir. Jelatin hidrojellerde çapraz bağlanma yöntemleri arasında jelatinin kimyasal veya enzimatik olarak çapraz bağlanması (Olde Damink ve ark., 1995) ya da jelatinin amin gruplarına fonksiyonel grup eklenmesinin ardından çapraz bağlanması bulunmaktadır (Murphy ve Atala, 2014). Biyoüretim amacıyla jelatin, glutaraldehit ile çapraz bağlanabilmektedir; ancak (Olde Damink ve ark., 1995), glutaraldehitin yol açabildiği sitotoksikite yüzünden bu yöntem gözden düşmüştür. Fonksiyonlandırılmış jelatinin çapraz bağlanma prosesi büyük oranda kontrol edilebildiğinden dolayı istenen tasarım ve özellikte hidrojeller elde edilebilmektedir. Hücre enkapsülasyonu ve çapraz bağlanmanın eş zamanlı yapılabildiği yöntemler,

enzimatik ve fotoçapraz bağlamadır (Peltola ve ark., 2008). Fotobaşlatıcı varlığında UV ya da görünür ışıkla yapılan çapraz bağlama işlemi enzimatik yöntemle orana daha kontrol edilebilir bir reaksiyon ve daha kararlı hidrojel oluşumunu sağlamaktadır (Nguyen ve West, 2002). Jelatin, özellikle tiyoller ve akrilatlar gibi gruplara sahip bileşenler ile fonksiyonlandırılarak fotoçapraz bağlanmaktadır (Peltola ve ark., 2008).

Kemik rejenerasyonu için kullanılan hidrojel sistemlerin **biyoyumlu, uygulama kolaylığı, osteokondüktif ve osteoindüktif özellikleri** bulunmaktadır. Ayrıca yeni kemik formasyonu için kök hücrenin infiltrasyonuna ve proliferasyonuna izin veren kemiğin hücre dışı matrisi taklit etmesi önemli özelliklerinden birisidir (Agarwal ve Garcia, 2015; Barros ve ark., 2019; Yu ve ark., 2015).

Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylı jelatin, yüksek derecede biyoyumlu, hücre yapışmasını artırıcı ve biyobozunur özelliklileri ile doku mühendisliğinde cazip bir biyomalzeme olmasının yanı sıra; oda koşullarında viskoz özellikte olması, kolay manipüle edilebilir ve ucuz olması nedenleriyle de doku mühendisliği çalışmalarında biyoçözelti olarak tercih edilmektedir. Jelatin, termal olarak kararlı ve biyoyumlu fotoçapraz bağlı hidrojellerin elde edilmesi amacıyla, metakrilat grubu ile fonksiyonlandırılabilir (Jel-MA). **Jel-MA, doku mühendisliğinde kalp** (Duan ve ark., 2014), **kemik, kırık** (Schuurman ve ark. 2013), **karaciğer, vaskülarizasyon** (Skardal ve ark., 2010), **nöral doku rejenerasyonlarının** sağlanmasında hücre yüklü hidrojeller olarak kullanılmaktadır. Bertassoni ve ark.'ları (2014) Jel-MA'nın üretim koşullarını optimize etmeye çalışmışlardır. Yüksek (2×10^6 hücre/mL) hücre konsantrasyonu kullanarak 6.9 mW/cm^2 UV (360-480 nm) ışık kaynağıyla 15-60 s kadar ışınlanarak hazırlanmış %10 w/v Jel-MA'nın, şekillendirilebilir tabakalı 3B yapılar oluşturabildiğini bulmuşlardır. Buna ek olarak bu grup, hidrojelin 8 gün süresince iyi derecede canlı hücre oranı ve jelin mekanik niteliklerinin jelatin konsantrasyonu ve UV'ye maruz kalma süresi ile bağlantılı olduğunu da göstermişlerdir (%15 w/v jeller için 10 saniyelik UV'ye maruz kalmanın ardından elastik modül (E) = 2.6 kPa ve 60 saniyenin ardından 60.3 kPa olarak bulunmuştur.

2.5. Diş Hekimliğinde Kemik Yerine Geçen Biyomalzemelerin Geleceği

İdeal kemik grefti materyalini tanımlayan kriterlere göre otogreftler altın standart olarak kabul edilmektedir (Sheikh ve ark., 2019). Bununla birlikte, sınırlı bulunabilirlikleri ve kullanımı ile ilgili sınırlamalar, alternatif greft materyallerinin kullanılmasına ve yeni sentetik kemik greftlerinin geliştirilmesine doğru bir kaymaya neden olmuştur. Bu ihtiyacı karşılamak için muazzam çabalar olmasına rağmen, piyasada mevcut tüm biyomateryaller hala biyomekanik performansta bir eksiklik göstermektedir (Kolk ve ark., 2012).

İdeal osseointegrasyon ve vaskülarizasyona izin veren mekanik olarak güçlü, birbirine bağlı gözenekli bir yapı üretmek, materyal geliştirmede karşılaşılan en büyük zorluk olarak tanımlanmıştır. Ne yazık ki, sentetik kemik ikameleri sadece osteokondüktif özelliklere sahiptir (Sheikh ve ark., 2019). Gözenek boyutu, yoğunluk, morfoloji, birbirine bağlanabilirlik ve emilebilirlik gibi hayati biyolojik parametrelerin dikkate alınması dahil olmak üzere yeni malzemelerin yapısal tasarımına olan ihtiyacı desteklemektedir (Haugen ve ark., 2019). Osteoindüktif büyüme faktörlerinin ve/veya MSCs' lerin, materyalin kemik rejeneratif potansiyelini arttırmak ve istenmeyen inflamatuvar alıcı tepkilerini inhibe etmek için yapısal bir iskele ile birleştirilmesi için yeni bir eğilim olmuştur. Bu nedenle, yeni greft malzemelerinin geliştirilmesi, mümkün olduğu kadar ideal biyolojik parametreyi dahil etmeye odaklanırken, bu tür malzemelerin kolayca temin edilebilir, uygun maliyetli ve klinik olarak kanıta dayalı olmasını sağlamalıdır.

Yeni kemik grefti materyallerinin güvenliğini ve etkinliğini araştıran çalışmaların eksikliği de bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır (Sallent ve ark., 2020). Bu yeni materyallerle ilgili mevcut bilgilerin çoğu vaka raporlarından veya deneysel hayvan modellerinden elde edilmiştir. Her bir materyalin klinik uygulanabilirliğini ve ticari olarak mevcut ürünleri tanıtmak için faydalarını daha iyi anlamak için daha standartlaştırılmış klinik öncesi ve klinik çalışmaların yapılması, sonrasında ise belgelenmesi gerekmektedir. Böylece her bir materyalin klinik uygulanabilirliğini ve faydalarını daha iyi anlamak mümkün olacaktır.

2.6. Diş Çekim Soketinde Kullanılan Hücre Kaynakları

Hücre temelli terapi, hasarlı dokuları (örn., sinir, kemik, kıkırdak ve cilt) onarmak için umut verici bir strateji olarak ortaya çıkmaktadır. Hücrelerin etkili bir şekilde uygulanması, hücre tedavisine dayalı rejeneratif tıp için ön koşuldur (Madl ve ark., 2018). Biyomateryal destekli hücre dağıtım sistemlerinin geliştirilmesi oldukça önemlidir (Niu ve ark., 2020). Hücreler, doku mühendisliğinde biyolojik aktivitenin kaynağıdır. Embriyonik kök hücreler (EKH'ler) ve yetişkin mezenkimal kök hücreler (MKH), farklılaşma potansiyellerine göre sınıflandırılan iki tip kök hücredir (Haghighat ve ark., 2021; Kolagar ve ark., 2020). EKH'lerin kullanımını sınırlayan etik sorunlar nedeniyle, doku mühendisliğinde birden fazla MKH kaynağı daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Nancarrow-Lei ve ark., 2017). Bazı spesifik genleri eksprese etmek için somatik hücrelerin yapay olarak uyarılmasıyla elde edilen indüklenmiş pluripotent kök hücreler (iPKH'ler), süresiz bölünme yeteneğine ve herhangi bir insan hücresine farklılaşma kapasitesine sahiptir (Deicher ve Seeger, 2021).

Mezenkimal kök hücreler aşağıdaki dokulardan izole edilebilmektedir;

- Kemik iliği mezenkimal kök hücreleri (KİMKH) (Li ve ark., 2019; Xu ve ark., 2019),
- Yağ dokusundan üretilen stromal hücreleri (YDSH) (Zhu ve ark., 2019; Xu ve ark., 2020),
- İnsan dişlerinden izole edilen MKH'leri (Lambrichts ve ark., 2017),
- İnsan süt dişlerinden elde edilen kök hücreleri (İSDKH) (Sugimura-Wakayama ve ark., 2015),
- Periodontal bağ kök hücreleri (PBKH) (Panduwawala ve ark., 2017),
- Apikal papilla kök hücreleri (APKH) (Shen ve ark., 2021),
- Diş folikül hücreleri (DFH) (Lima ve ark., 2017),
- Diş eti mezenkimal kök hücreleri (DMKH) (Liu ve ark., 2020).

2.6.1. Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler (Kİ-MKH)

Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler (Kİ-MKH) için; deney hayvanlarındaki kemik iliğinin aspirasyonu sonrasında in vitro' da plastiğe yapışma ve osteojenik, kondrojenik ve adipojenik soylara farklılaşabilme özelliğini barındıranlar manyetik hücre ayırıcı (MACS), floresan ile aktive edilen hücre ayırıcı (FACS), gibi yöntemler ile hücre yüzey belirteçlerine göre saflaştırılabilirken Ficoll yöntemi olarak da bilinen yoğunluk gradient santrifüjleme ile de saflaştırılabilir (Chu ve ark., 2020; Gimble ve ark., 2011; Lee ve ark., 2016). Kİ-MKH' lerin kolayca izole edilebilirliği ve in vitro' da büyütülebilirliğinin yanı sıra hasarlı dokuya göç edebilmesi ve yerel doku mikro çevresini yeniden yapılandırmak için belirli hücre tiplerine farklılaşmaya teşvik edilebilmesi, immün sistem tepkisini düzenleyerek doku onarımına katılması rejeneratif tıp ve doku mühendisliği gibi disiplinlerde kullanılmasını sağlamaktadır (Boido ve ark., 2014; He ve ark., 2018; Karaoz ve ark., 2012). Kİ-MKH' leri kemik doku mühendisliği çalışmalarında en yaygın kullanılan osteojenik hücre kaynağı olmaya devam etmektedir (Davies ve ark., 2002). Miranda ve ark.' ları (2012) kitosan-jelatin doku iskelesi içinde, dış çekim soketine yerleştirilen Kİ-MKH' lerin, yeni oluşan kemiğin olgunlaşmasına önemli ölçüde katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir. Kitosan-jelatin ve Kİ-MKH' lerin, kemik doku mühendisliğinde ve kraniyofasiyal rekonstrüksiyonlar için umut verici bir biyomalzemeler olduğu belirtilmektedir.

2.6.2. Yağ Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler (YD-MKH)

Yağ dokusunun çoğu bölgelerde bulunabilmesi, minimal invaziv prosedürler ile izole edilme kolaylığı, onu yüksek verimli MSC 'lerin izolasyonu için ideal bir kaynak haline getirmektedir. Ayrıca, adipoz dokudan türetilen MSC' ler kültürde daha uzun süre muhafaza edilebilir ve yüksek bir çoğalma kapasitesine sahiptir (Peroni ve ark., 2008; Saulnier ve ark., 2011). Kemik oluşumu ve rejenerasyonu için hücre temelli yaklaşımlar, fizyolojik osteojenik süreci in vivo olarak verimli bir şekilde sürdürebildikleri için yaygın bir şekilde kullanılmalarına yol açmıştır. YD-MKH uygulamalarında en umut verici alan kemik rekonstrüksiyonu/ rejenerasyonu tekniklerinde olduğu kabul edilmektedir (Lattanzi ve ark., 2005; Lindroos ve ark., 2011). Literatürden elde edilen veriler, in vivo kemik rejenerasyonunu/iyileşmesini

indüklemek için YD-MKH tabanlı yaklaşımların etkinliğini göstermektedir. Kritik boyut-kalvaryal kusurlar, hayvan modellerinde kemik iyileşmesini incelemek için yaygın olarak kullanılır ve iki boyutlu bir defekt içinde yeni oluşan kemik miktarının kolay bir şekilde ölçülmesine olanak tanır (Behr ve ark., 2011; Wang ve ark., 2010). YD-MKH hakkında artan miktarda bilimsel veriye ve in vivo kemik rejeneratif potansiyellerini doğrulayan çok sayıda prelinik çalışmaya rağmen, kemikle ilgili bozuklukları olan hastalarda YD-MKH' lerin etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmeyi amaçlayan sadece birkaç kontrollü klinik çalışma yapılmıştır (Casteilla ve ark., 2011; Sandor ve ark., 2013). Özellikle, kraniyofasiyal kemik rekonstrüksiyonu için otolog YD-MKH kullanan farklı çalışmalarda başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Lendeckel ve ark., 2004; Sandor ve ark., 2013).

Bu çalışmada uygulanan biyomalzemenin insan ve klinik kullanım öncesi hayvanlar üzerinde çalışılması ve sonuçlarının test edilmesi oldukça önem arz etmiştir. Bu amaçla **in vivo rat modeli insan diş çekim socketinin** oluşturmasında ve çalışmanın sonuçlarının gerçeğe en yakın bir şekilde elde edilmesi için seçilmiştir. Ratlarda oluşturulan diş çekim socket iyileşmesi deney modeli literatür ile kanıtlanmış ve uygulanabilir bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu sebeplerden dolayı kemik rejenerasyonu sağlayan biyomalzemelerin klinik kullanım öncesi insanlarda uygulanabilirliğinin test edilmesi için önce hayvanlarda etkinliğinin gösterilmesi oldukça önemlidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

Deneylerin gerçekleştirilmesinde kullanılan cihazlar tablo 3.1.'de, sarf ve kimyasal malzemeler ise tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Cihazların Listesi.

CİHAZLAR	MARKA
Su banyosu (37)	Memmert
İnkübatör	Panasonic
Laminar Kabin	Telstar
Vorteks	Heidolph
Flow sitometre cihazı	BD Biosciences
Pipet tabancası	İsoLab
İnvert Mikroskop	Leica
Santrifüj cihazı	Heitch-Rotina
Buz makinesi	Scotman
Soğutucu dolap (+4 °C)	Siemens
Soğutucu dolap (-20 °C)	Siemens
Soğutucu dolap (-80 °C)	Panasonic

Tablo 3.2. Kullanılan Sarf ve Kimyasal Malzemeler

Sarf ve Kimyasal Malzemeler	Kod	Marka
<i>DMEM High Glucose (4.5 g/l), with L-Glutamine 500ml</i>	DMEM-HA	Capricorn Scientific
<i>Fetal Bovine Serum Advanced, Collected in South America 500ml</i>	FBS-11A	Capricorn Scientific
<i>Penicillin/Streptomycin (100x) 100ml</i>	PS-B	Capricorn Scientific
<i>Amphotericin B Solution (100x) 100ml</i>	AMP-B	Capricorn Scientific
<i>L-Glutamine (200 mM) 100ml</i>	GLN-B	Capricorn Scientific
<i>Dulbecco's PBS (1x), w/o Ca & Mg, w/o Phenol Red 500ml</i>	PBS-1A	Capricorn Scientific
<i>Trypsin /EDTA 10X, (0,5%trypsin, 0,2%EDTA) 100ml</i>	325-052 EL	Wisent
<i>Collagenase from Clostridium histolyticum 25mg Type IA, 0.5-5.0 FALGPA units/mg solid, ≥125 CDU/mg solid, For general use</i>	C9891-25MG	Sigma
<i>Gelatin from porcine skin 100gr powder, gel strength ~300 g Bloom, Type A, BioReagent, for electrophoresis, suitable for cell culture</i>	G1890-100G	Sigma
<i>Calcium sulfate –325 mesh, 99% 100gr</i>	237132-100G	Sigma
<i>25 cm2 Cell Culture Flask, Vent Cap, TC, Sterile, 10/pk</i>	707003	Nest Scientific
<i>75 cm2 Cell Culture Flask, Vent Cap, TC, Sterile, 5/pk</i>	708003	Nest Scientific
<i>15 mL Centrifuge Tube, Bulk, premium, Sterile, 50/pk</i>	601002	Nest Scientific
<i>50 mL Centrifuge Tube, Bulk, premium, Sterile, 25/pk</i>	602002	Nest Scientific
<i>Lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinate ≥95% 1gr</i>	900889-1G	Sigma
<i>Alizarin Red S</i>	CB2045	Chem Bio
<i>Masson Trichrome Stain Set Boya Seti</i>	CB6095	Chem Bio
<i>Cerrahi Küret</i>	QBCUR2H101	Queen
<i>Kemik Pensi</i>	QBR027	Queen
<i>Cerrahi Portegü</i>	QUNHTC017	Queen
<i>Bistüri</i>	QBH015	Queen
<i>Cerrahi Sütür PGLA</i>	L2163	Doğsan
<i>Atravmatik Penset ADSON</i>	QTP125	Queen
<i>Çekim Preseli/ Kök Pensi</i>	QENOTH008	Queen
<i>Periost Elevatörü</i>	QRAS3H227	Queen
<i>Ekartör</i>	Q-95-1268	Queen
<i>Cerrahi Hemostat</i>	QHF021	Queen
<i>Sond</i>	QPR3H300	Queen
<i>Presel</i>	QTW008	Queen

3.2. Yöntemler

3.2.1. Mikrodalga Destekli Metakrilatlanmış Jelatinin (Gel-MA) Sentezi

Çalışma kapsamında jelatinin metakrilatlama sürecinde mikrodalga enerjisi (Mw) kullanılmıştır. Bu amaçla Tip A Jelatin (%10, w/v) 50°C’de PBS (pH:7.4) içinde karıştırılarak çözülmüş ve çözelti sıcaklık-kontrollü mikrodalga reaktör (Milestone, İtalya) içine alınmıştır. Metakrilik anhidrit (%4, v/v) enjektör pompası vasıtası ile 0.4 mL/dk akış hızında çözeltiye eklenmiş olup bu sırada 1000 W Mw enerjisi uygulanarak ve metakrilatlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Mw enerjisi ile sistemin sıcaklığı hızlı bir şekilde artacağından dolayı sıcaklığı sabit tutmak için güç kısa aralıklarla verilerek sistem soğuması sağlanmış ve güç uygulaması tekrarlanmıştır. Ardından çözelti diyaliz membrana alınarak farklı sürelerde diyaliz işlemine tabi tutulmuştur. Böylece reaksiyona girmemiş metakrilik anhidrit yapıdan uzaklaştırılarak çözelti saflaştırılmıştır. Diyaliz işleminden sonra çözelti liyofilizatörde (Christ, Almanya) kurutulmuştur. Kurutulan örnekler -80 °C’ de saklanmıştır (Irmak ve Demirtaş, 2018).

3.2.1.1. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizi

Jelatinin metakrilatlanma derecesini (MD) belirlemek için proton nükleer manyetik rezonans (1H-NMR) spektroskopisi kullanılmıştır. Otuz mg Jel-MA 1 mL dötriyum oksit içinde 40°C’de çözülmüştür. Analiz, 40°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Metakrilatlanma derecesi, eşitlik 3.2.1.1.1.’de verilen formül ile hesaplanmıştır (Irmak ve Demirtaş, 2018).

$$\% MD = 1 - \frac{[\text{Jel-MA'da yer alan lizin metilen fonksiyonel grupları}]}{[\text{Jelatin'de yer alan lizin metilen fonksiyonel grupları}]} \times 100 \text{ (Eşitlik 3.2.1.1.1.)}$$

3.2.2. Mikrodalga Destekli Biyomimetik Yöntem ile nano-Hidroksiapatit Üretimi

Çalışma kapsamında hidrojellerin osteokondüktif ve osteoindüktif özelliklerini geliştirmek için grubumuz tarafından daha önce üretimi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiş olan kemik benzeri nano-Hidroksiapatit (nHAp) kullanılmıştır (Demirtaş ve ark., 2015). nHAp üretimi için öncelikle 10 kat derişik yapay vücut

sıvısı (10X SBF) hazırlanmıştır. Bunun için NaCl (58.443 g), KCl (0.373 g), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3,675 g), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1.016 g) ve $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.250 g) tuzları sırasıyla 800 mL distile suda çözülmüş ve daha sonra hacim 1000 mL'ye getirilerek stok çözelti hazırlanmıştır. 100 mL stok çözelti alınarak NaHCO_3 (0.084 g) eklenmiş ve 600 W güç altında mikrodalga enerjisi (Milestone, Italy) uygulanmıştır. Mikrodalga ışıması 30 s süre ile 9 kez uygulanmıştır. Çöktürme işlemi sonunda diğer fazların uzaklaştırılması için 2 kez etanol ve 1 kez distile su içinde 10 dk 13,000 rpm 'de çöktürme işlemi yapılmıştır. Çalışmanın kontrol grubu hariç diğer deneysel gruplara (Gel-MA/nHAp ve Gel-MA/nHAp/MSCs) yukarıda üretim detayları anlatılan nano-Hidroksiapatit eklenmiştir.

3.2.3. Sıçan Kemik İliğinden Mezenkimal Kök Hücrelerin İzolasyonu

MKH izole etmek için toplam 6 adet hayvandan kemik iliği dokuları alınarak izolasyon işlemi gerçekleştirildi. Femur ve tibiaların eldesi için, kemikler femur başından epifizlere zarar verilmeden ayrıldı. Her iki arka bacak için de aynı işlem gerçekleştirildi. Eklem bölgesinden ayakları kesildi ve kemikler mümkün olduğu kadar makas yardımı ile kaslardan temizlendi. Femur ve tibia kemikleri ayrıldı. Kemikler taşıma ortamı bulunan tüpe alındı. Laminar kabin içerisinde kemikler makas ve bistüri yardımı ile kas dokusundan olabildiğince temizlendi ve antibiyotikli PBS solüsyonu içeren başka bir petriye aktarıldı. İnsülin enjektörleri hücre kültür ortamı ile doldurularak hazırlandı. Kemikler hemostat yardımı ile tutuldu ve epifiz uçları makas ile kesildi. Epifiz ucu kesilen kemikten insülin enjektörü ile hücre kültür ortamı geçirilerek kemik iliğinin petriye aktarılması sağlandı. Tüm kemik iliğinin alınmış olduğundan emin olununcaya kadar işlem devam ettirildi. Bir femur ve tibiadan elde edilen hücreler aynı tüpe toplandı. 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrası süpernatant döküldü ve hücreler besi ortamı ile yıkanarak tekrar 1000 rpm'de 5 dakikada santrifüj edildi. Süpernatant döküldü, yıkama işlemi tekrarlandı. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı. Hücreler 5'er ml ortam ile toplandı ve 25 cm²'lik 2 flaska dağıtıldı. 37°C de %5 CO₂ etüvünde kültüre edildi. 3 saat sonra ortam, taze ortam ile değiştirerek yüzeye yapışık olmayan hücrelerin çıkarılması sağlandı. Ardından 8 saatlik bir kültürden sonra, ortamı 1.5 ml taze ortam ile değiştirildi. Daha sonra, bu adımı ilk kültür işleminin üzerinden 72 saat geçene

kadar her 8 saatte bir tekrarlandı. Yüzeye tutunan hücrelere (pasaj 0) her 3-4 günde bir taze ortam eklendi.

3.2.3.1. Akış Sitometri Analizi

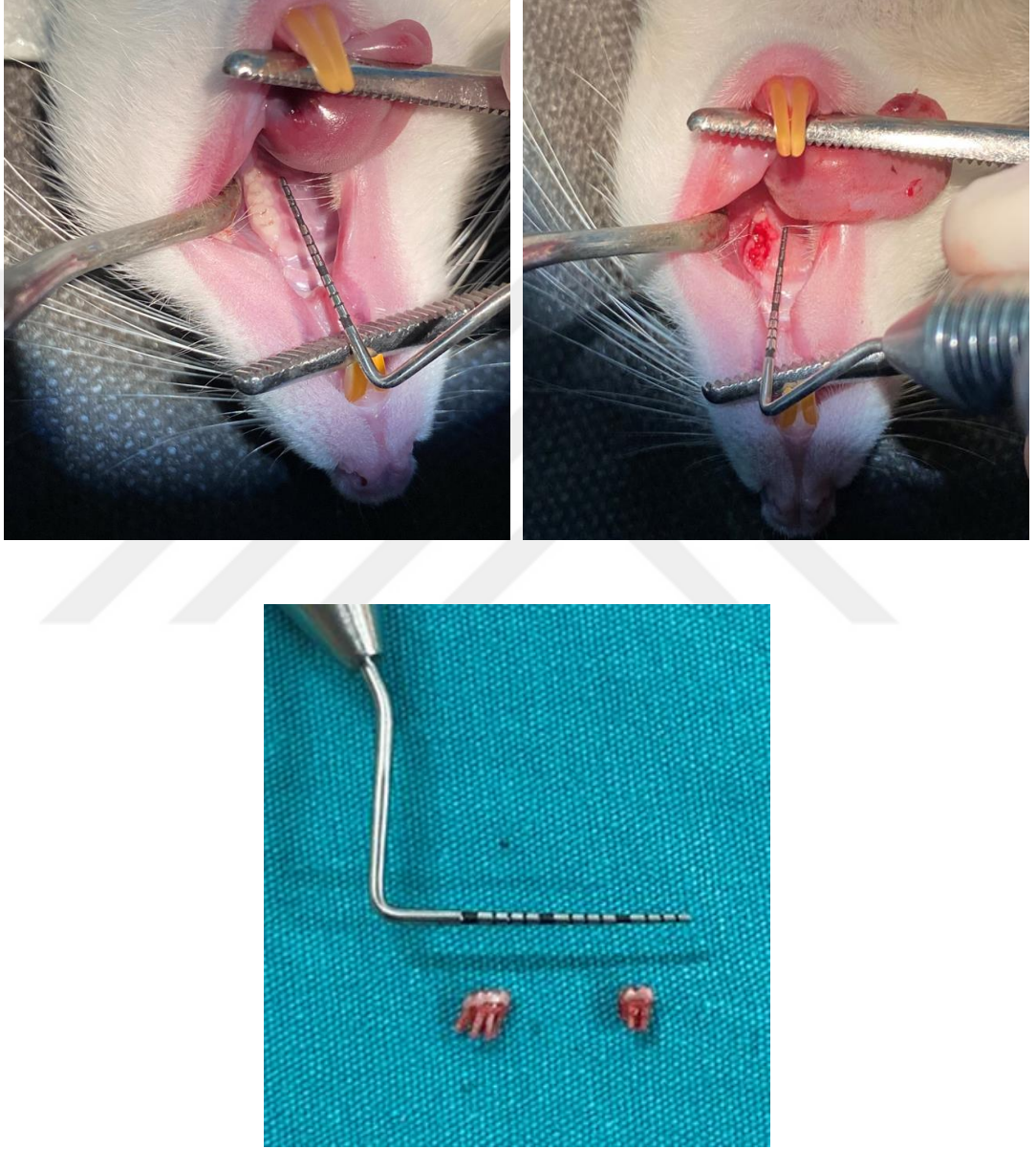
Sıçan kökenli rMSC'lerin kültürde ürerken fenotipik karakterlerini koruduğunu doğrulamak amacıyla farklılaştırılmamış mezenkimal hücrelere akış sitometri analizi yapılmıştır.

İkinci pasaj rMSC'ler yüzeyden kaldırılarak hücre derişimi 1×10^6 hücre/mL olacak şekilde süspanse edilmiştir. Santrifüjden sonra yıkama tamponunda süspanse edilen hücrelere 300 μ L floresan izotiyosiyanat (FITC)-konjuge antikorlar eklenerek oda sıcaklığında 45 dak inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Akış sitometri analizi için FACSCalibur (BD Biosciences, San Diego, USA) cihazı kullanılmıştır. Hücrelerin immüno-fenotiplemesinde Cluster of Differentiation CD29, CD90, CD54, CD45, CD106, MHC sınıf 1 ve MHC sınıf 2 antijenlerine uygun sıçan antikorları ve antikorlar için önerilen izotip kontrolleri kullanılmıştır (Becton Dickinson, ABD) (Karaoz ve ark., 2009).

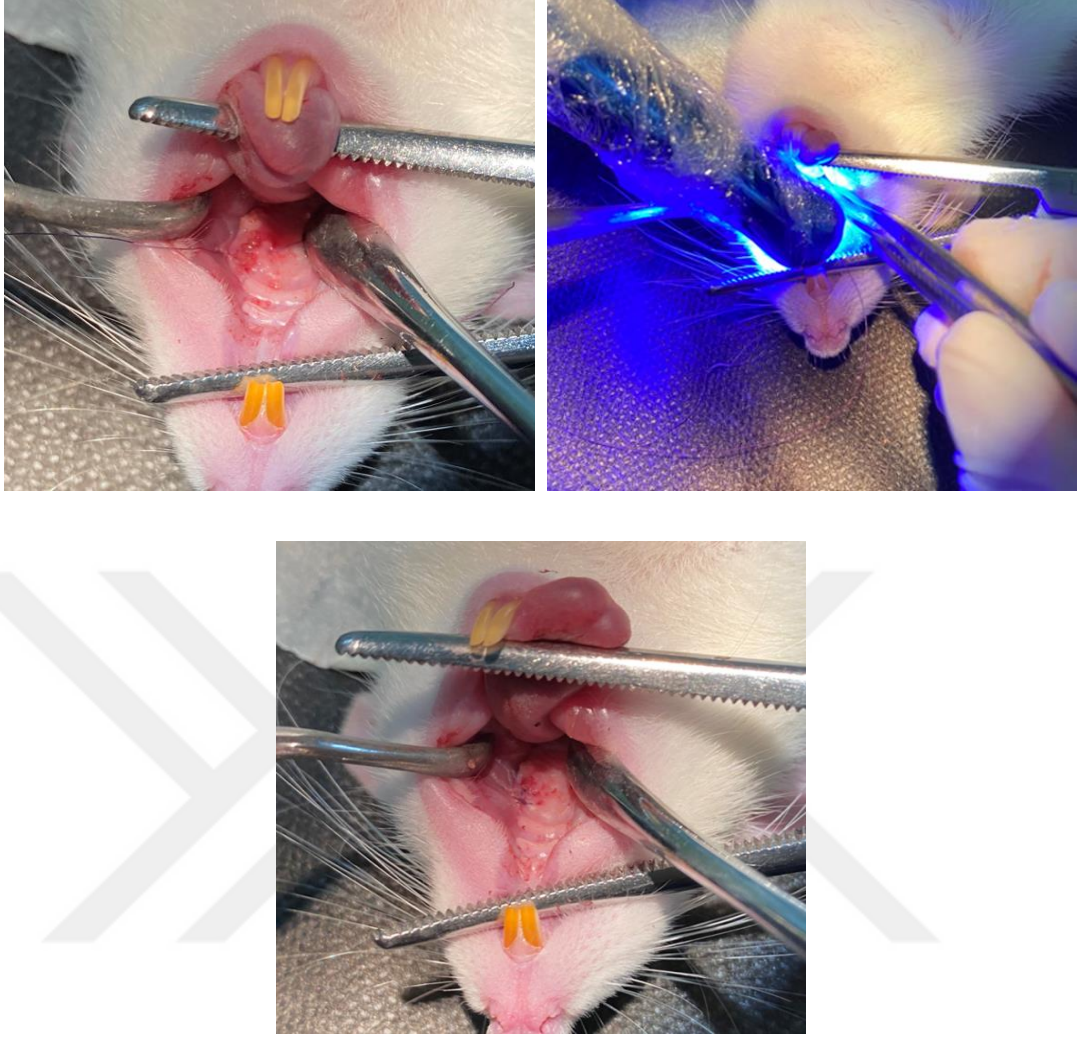
3.2.4. Ratlarda İn-Vivo Oluşturulan Diş Çekim Soketi Modeline Hidrojel Kök Hücre Sistemlerinin Enjekte Edilmesi

Çalışmada 36 adet erkek, ortalama 200-300 gr ağırlığında 10 haftalık Sprague Dawley ratlar kullanıldı. Ratlar 1 hafta boyunca kafeslerine ve ortam iklimine alıştırmak için girişimsel işlem yapılmadan beklendi. Ratlar cerrahi işlem öncesi randomize olarak 3 gruba ayrıldı. Her grupta 12 adet rat bulunacak şekilde Kontrol (1. grup); Gel-MA/nHAp, (2. grup); Gel-MA/nHAp/MKH (3. grup) uygulanan randomize bir şekilde deneysel gruplar oluşturuldu. Ratlar intraperitonel enjeksiyon ile genel anestezi (Ketamine HCl 50 mg/kg ve 8 mg/kg xylazine HCl) altına alındıktan sonra ratların tek taraflı sol maksiller birinci azı (molar M1) ve ikinci azı (molar M2) dişleri lokal anestezi altında (Articain HCl 3 mg/kg) minimal invaziv yöntemle çekildi (Şekil 3.1.). Jelatin, termal olarak kararlı ve biyoyumlu fotoçapraz bağlı hidrojellerin elde edilmesi amacıyla, metakrilat grubu ile fonksiyonlandırıldıktan sonra (Gel-MA), sıçan diş çekim soketlerinde oluşan boşluk Gel-MA (%10 w/v) /nHAp (20mg/mL Gel-MA)/MSCs (1×10^6 hücre/mL Gel-MA)

karışımı (yaklaşık 50µL) ile doldurularak UV ışık kaynağına (VALO cordless dental curing light unit, 395–480nm, 30 sn) maruz bırakılmasıyla hidrojel oluşumu gerçekleştirildi (Şekil 3.2.). Biyomalzeme konulan çekim soketleri 5-0 kendiliğinden rezorbe olan poliglikolik asit suturlar ile primer olarak kapatıldı (Şekil 3.2.).



Şekil 3.1. Sol Maksiller 1. ve 2. Molar Dişler Çekildi

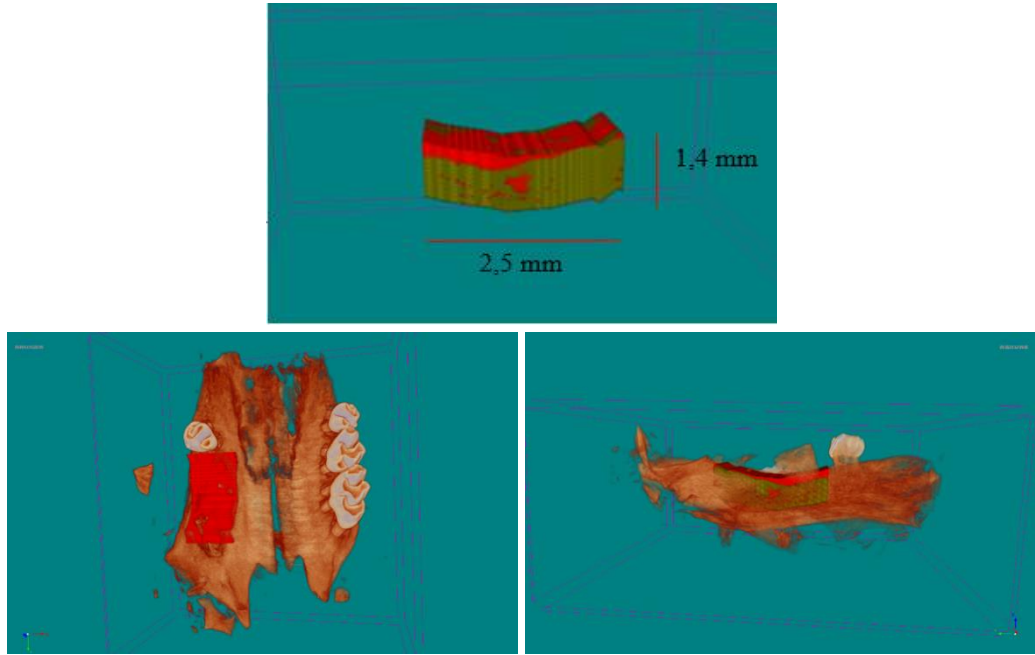


Şekil 3.2. Kontrol Grubundaki Çekim Boşlukları (soketleri) boş bırakıldı. Grup II ve Grup III' teki hayvanların çekim soketlerine sırasıyla Gel-MA+ nHAp ve Gel-MA+nHAp+MSCs' ler yerleştirildi. UV ışık kaynağına (VALO cordless dental curing light unit, 395–480nm, 30 sn) maruz bırakılmasıyla hidrojel oluşumu gerçekleştirildi.

Kontrol grubunda da aynı şekilde tek taraflı sol maksiller birinci azı (molar M1) ve ikinci azı (molar M2) dişler çekildi, çekim soketleri boş bırakılıp sadece kan pıhtısı ile dolması sağlandı. Dişeti mukozası 5-0 rezorbe olabilen poliglukolik asit ile suture edildi. İntraoperatif tek doz ve post operatif 3 gün boyunca intramusküler penisilin (80.000 ünite) uygulandı. Cerrahi işlem sonrası ratlar uyandırılıp takipleri yakından yapıldı. Kontrol ve deneysel gruptaki ratların yarısı 28. gün (erken dönem) diğer yarısı 56. gün (geç dönem) sonra sakrifiye edildi (Chang ve ark., 2018; Liu ve ark., 2019; Mayer ve ark., 2018; Pan ve ark., 2020; Yang ve ark., 2020).

3.2.5. Mikro-BT Analizi

Mikro-BT (SkyScan-1272, Bruker, Kontich, Belçika) incelemesinde, rekonstrüksiyonu sağlanan kemik dokusu 3 boyutlu olarak incelenmiş ve kemik yoğunluğu ölçümleri yapılmıştır. Mikro-BT ilk olarak Feldkamp ve ark. tarafından 1989'da tanıtılmıştır (Feldkamp ve ark., 1989). Mikro-BT ile doku mineral yoğunluğu, kemik mineral yoğunluğu ve kemik hacmi hesaplanabilmektedir. Ayrıca trabeküler kemiğin üç boyutlu yapısını değerlendirmede altın standart olarak kabul edilmektedir. Mikro-BT, kemik trabeküllerinin mikro-mimarisinin analiz edilmesine de olanak sağlamaktadır. İnceleme bölgesinde total hacim, yeni oluşan kemik hacmi ve kemik yoğunluğu alanı ölçülmüştür. Ratların sol maksiller M1 ve M2 çekim soketlerine yerleştirilen dikdörtgenler prizması 1,4*2,5 mm boyutundaydı (Şekil 3.3.). Mikro-BT ile taranan numunelerden elde edilen dataların görüntüye dönüştürülmesinde NRecon v.1.6.3 software (Bruker-mikroBT), analizinde ise CTAn v.1.12 software (Bruker-mikroBT) programları kullanıldı. 3 boyutlu görüntü eldesinde CTVol v.2.2.1 software (Bruker-mikroBT) kullanıldı. Bu çalışmada, kemik yoğunluğu ölçümünün 3B olarak hesaplanması ve histolojik analiz sonuçlarıyla benzerlik kurulabilmesi için Mikro-BT cihazı kullanılmıştır.



Şekil 3.3. Micro-BT Analizinde Kullanılan 3B Şeklin Boyutları, Maksillada Diş Çekim Soketlerine Yerleştirilmiş 3B Görüntüler.

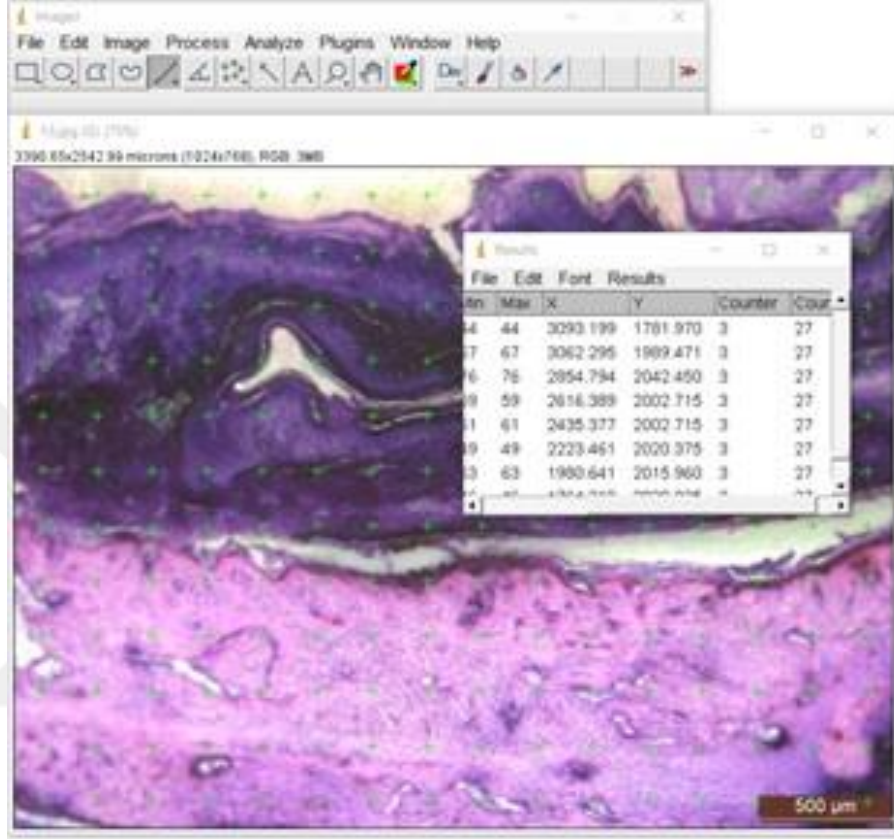
3.2.6. Histolojik Analiz

Her deney hayvanından (kontrol ve deneysel gruplardan) sol maksiller birinci ve ikinci molar diş (M1, M2) bölgelerine yerleştirilen Gel-MA, nHAp ve MKH' ler ile gerçekleştirilmek istenen kemik ve yumuşak doku rekonstrüksiyonunu değerlendirmek üzere M1 ve M2 çevresindeki kemik bütünüyle rezeke edildi. Rezeke edilen kemik blok halinde çıkarılıp %4 lük nötral tamponlanmış formalinde fikse edildi. En az 24 saatlik fiksasyon süresinin ardından blok halinde gelen kemik-biyomalzeme-MKH dokusundan 2-3 mm kalınlığında kesitler alındı. Örnekler %60, %80, %96, %100 oranlarında etanol içeren alkol havuzlarında birer gün süreyle dehidrate edildi. Dehidrate edilen örnekler sırasıyla, %30 metil metakrilat rezin (Tecnovit 7200) ve %70 alkol karışımında daha sonra %50 alkol %50 tecnovit 7200, %70 Tecnovit 7200- %30 alkol ve en sonunda da %100 lük Tecnovit 7200 içerisinde 24 saat vakum altında infiltre edildi. Daha sonra, örnekler metil metakrilat (Tecnovit 7200) içeren plastik kalıplar içerisinde vakum altında hava kabarcığı kalmayacak şekilde gömüldü. Örnekleri içeren bu kutucuklar 40°C'de, dalga boyu 450 nm olan ışık altında 8 saat süre ile polimerize edildi. Tamamen sertleşmiş olan bloklar, ilk kesime hazırlamak ve paralel yüzey hazırlığını yapmak için şeffaf kutucuklardan çıkartıldı. Düz olan alt yüzey bir pleksiglas lam üzerine Technovit 7210 VLC (Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Almanya) kullanılarak vakum altında yapıştırıldı. Lam üzerine yapıştırılmış bu örneklerden hassas kesme cihazına bağlı elmas testere (Exakt 300 CL, Exakt Apparaturbau, Norderstad, Almanya) ile 300-350 µm kalınlığında kesitler elde edildi. Bu kesitler, mikro aşındırma sistemine (Exakt 400 CS, Exakt Apparaturbau, Norderstad, Almanya) bağlı zımparalar ile 45 µm kalınlığına kadar inceltildi. Deparafinize ve rehidre edilen kesitler histolojik değerlendirmeler için hematoksilin eozin, masson trikrom (kollajen) ve alizerin red (mineral) ile boyandı ve metil metakrilat kullanılarak üzerleri lamel ile kapatıldı.

3.2.6.1. Histopatolojik Analiz

Tüm kesitlerden diş çekim soketlerinin histolojik değerlendirilmesi için ışık mikroskobuna (Olympus CX41, Tokyo, Japan) bağlı dijital kamera (Olympus DP 25, Tokyo, Japan) ve Olympus analysis LS research programı yardımı ile dijital görüntüleri alındı. Elde edilen görüntüler Image J programında açılarak görüntüler

üzerine 45000 μm^2 alana sahip noktalı alan ölçüm cetveli yerleştirildi ve kemik ile bağ dokusuna ait hacim hesaplandı (Şekil 3.4.). Ayrıca elde edilen kesitlerde yer alan doku morfolojileri histopatolojik olarak değerlendirildi ve veriler uygun istatistiksel analizlerle karşılaştırıldı.



Şekil 3.4. Diş Çekim Soketi Alanlarının Image J Programında Hacimsel Analizi.

3.2.7. Raman Spektroskopisi ile Yeni Doku Oluşumlarının Moleküler Analizi

Kemik ve yumuşak doku farklılaşmasının moleküler olarak incelemesinin yapılabilmesi amacıyla yapılacak Raman spektrumu analizinde, öncelikle histolojik inceleme kısmında anlatılan yöntemle göre örneklerden 45 μm kalınlığında kesitler elde edildi. Daha sonra cam lamellere alınan kesit örnekler, Raman spektrumları (785nm, 60mW) konfokal Raman mikroskopisi (Alpha M+, WITec, Almanya) kullanılarak spektrumlar elde edilmiştir. Elde edilen spektrumlar analiz edilerek normal doku ile moleküler benzerlikleri ortaya konmuştur.

Elde edilecek Raman Spektrumlarında 960 cm⁻¹ ve 1070 cm⁻¹ pikleri MatLAB program kullanılarak aşağıdaki 3.2.7.1.'deki eşitlikle piklerin ortalama enerjileri hesaplanarak mineral ve protein oluşumu açısından grupların karşılaştırılmaları yapılacaktır.

$$E_{ort} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x[n]^2 \quad (\text{Eşitlik 3.2.7.1.})$$

Burada x[n] raman spektrumunu N ise 960 cm⁻¹ ve 1070 cm⁻¹ pikinde yer alan veri sayısını gösteriyor.

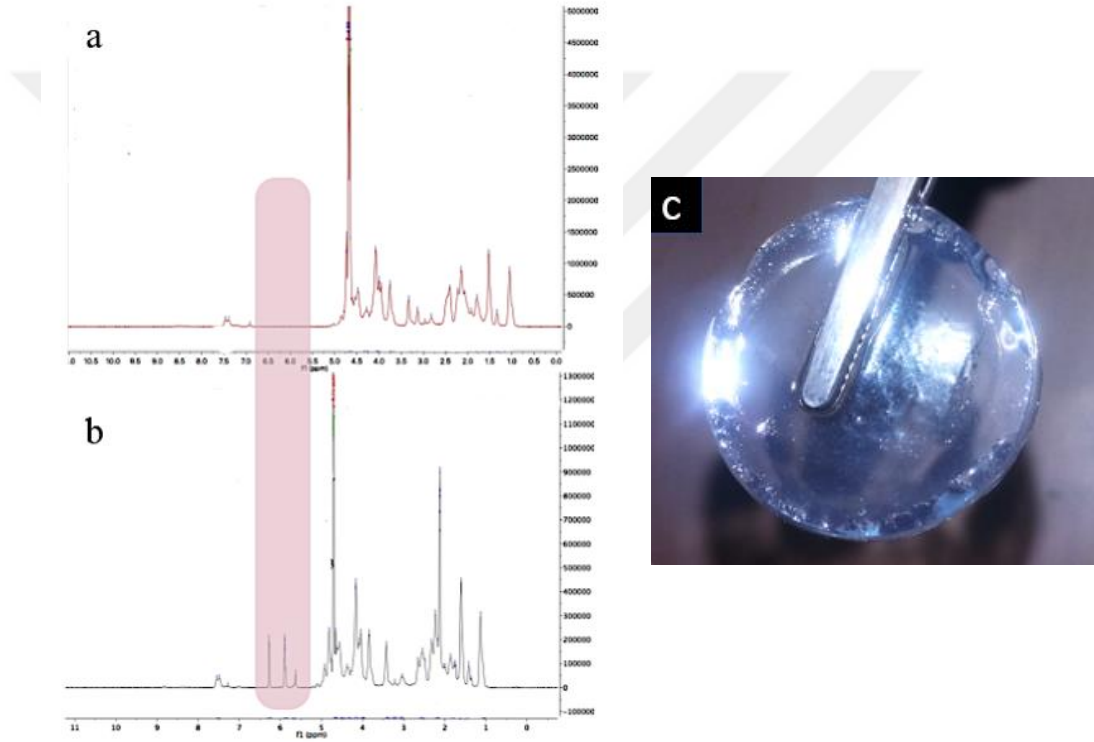
3.2.8. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonunda elde edilen tüm micro-BT verileri, üçlü yürütülecek üç benzer deneyin gösterimi $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Çalışma sonuçları Graphpad Prism 8 Software programı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Farklı grupların istatistiksel karşılaştırılması için Student's t-testi kullanıldı ve p-değerinin 0.05'den az olduğu durumlar anlamlı olarak değerlendirildi.

Tüm analizlerin tamamlanmasının ardından elde edilen histolojik sayısal veriler ise SPSS programı (SPSS version 21,0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. Deneklere ait verilerin normal dağılım varsayımına uygun olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile test edilerek, grupların karşılaştırılmasında normal dağılıma uyan veriler tek yönlü varyans analizi One-Way ANOVA, Tukey testleri ile değerlendirildi; normal dağılım göstermeyen çoklu grupların karşılaştırılmasında ise Kruskal Wallis, Tamhane testi kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmede p<0,05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı ve p<0,01 değerleri istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olarak kabul edildi (Alkan ve ark., 2019).

4. BULGULAR

4.1. Mikrodalga Destekli Gel-MA Sentezi ve Karakterizasyonu



Şekil 4.1. a) Jelatin ve b) %4 (v/v) MA 1000W MW Enerjisi Uygulanarak Sentezlenen Gel-MA'nın ¹H-NMR Spektrumları. İşaretli bölge Gel-MA grupları için lizin ve hidroksilizin grupları ile birleşen metakrilat grubunun akrilik protonlarıdır c) UV ışık kaynağı ile çapraz bağlandıktan sonra Gel-MA hidrojel.

Gel-MA sentezinin karakterizasyonu kapsamında ¹H-NMR spektroskopisi kullanılmış olup metakrilatlanma derecesi, Bölüm 3.2.1.1.'de verilen Eşitlik 3.2.1.1.1. ile hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalar sonucu metakrilatlanma derecesi **%92±1,8** olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.1.).

4.2. Akış Sitometri Analizi

Mezenkimal kök hücrelerde bulunması gereken 3 ana özellik, Mezenkimal Doku Kök Hücre Komitesi tarafından açıklanmıştır (Dominici ve ark., 2006).

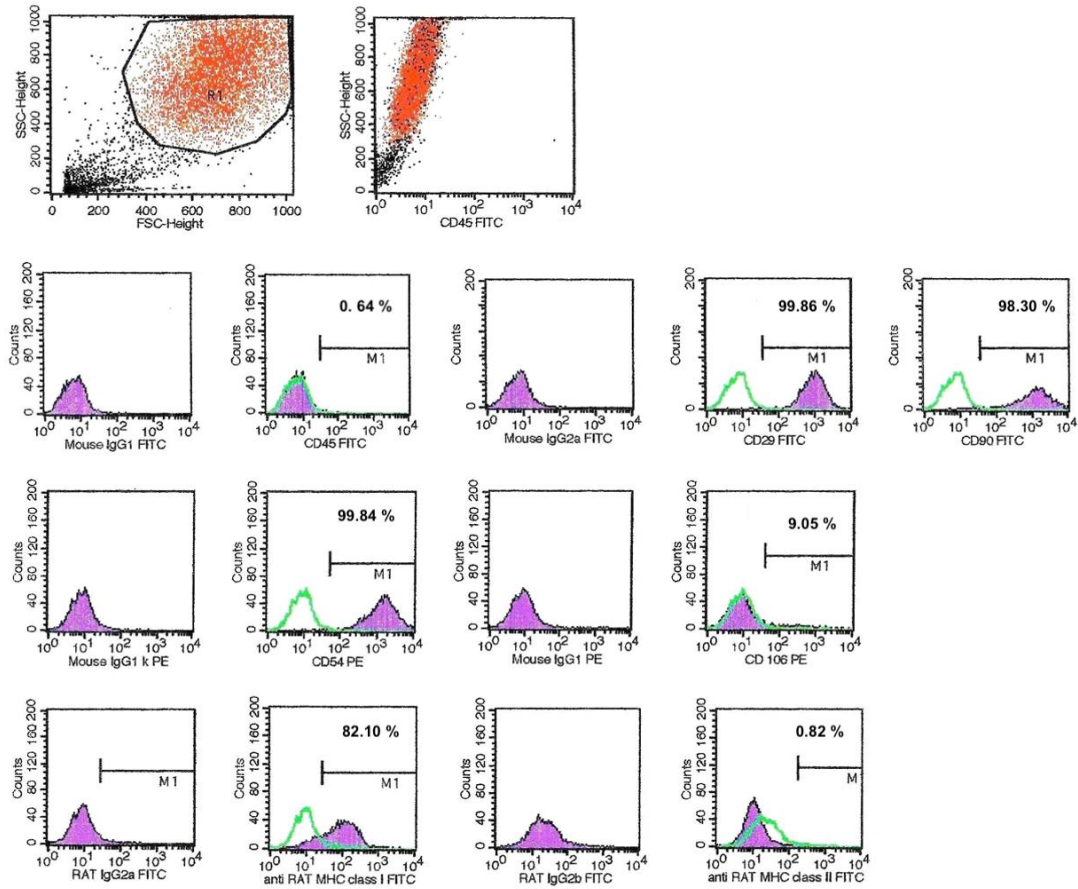
Bunlar;

1. Plastik yüzeye yapışabilme,
2. Uygun yüzey antijenlerinin ekspresyonu,
3. Multipotent farklılaşma özelliği (osteojenik, kondrojenik ve adipojenik farklılaşma).

Çalışmamızda kullanılan sıçan kaynaklı Kİ-MKH' lerin plastik yüzeye tutunabildiği Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Mezenkimal kök hücrelere uygun yüzey antijenlerinin ekspresyonunun tesbit edilmesi için akış sitometri analizi yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 4.3'de gösterilmektedir.

Akış sitometri analizi, hücrelerin akmakta olan bir akışkanın içindeyken karakteristiklerinin ölçülmesidir. Bu analiz ile süspansiyon yapısındaki hücreler lazer ışığı ile aydınlatılan alanlardan geçirilir, hücrelerin ışığın önünden geçerken verdikleri sinyaller toplanarak analiz edilir. Oluşan sinyallerin kaynağı, hücrenin büyüklük, granülarite gibi fiziksel özellikleri veya hücreye bağlanan çeşitli florokromlar da olabilmektedir. Bu şekilde hücrelerin yüzey antijenleri, DNA içeriği, enzim aktiviteleri, hücre membran potansiyeli ve canlılığı gibi çeşitli özellikleri hakkında bilgi sahibi olunabilir (İbrahim ve Engh, 2007). Akış sitometri analizinde hücrelerden gelen ışık saçılımı ve floresan emisyonu, filtre ve dedektörler vasıtasıyla dijital sinyal haline dönüştürülür. İleri saçılım kanal (forward scatter channel, FSC) dedektörü hücrenin boyutu hakkında bilgi verirken, yana saçılım kanal (side scatter channel, SSC) dedektörü hücrelerin granüler içeriği hakkında bilgi sağlamaktadır. Şekil 4.2'de sunulan ilk grafikte rMSC'lerin analizinde FSC ve SSC dedektörlerinden elde edilen sinyaller verilmiştir. Bu grafikte tek çekirdekli hücre özelliklerine sahip olan hücre grubu kırmızı ile işaretlenmiştir. Ayrıca çerçevelenerek "kapılama" işlemi de yapılmıştır. Böylece hücre süspansiyonunda bulunan lenfosit veya granülosit gibi hücrelerin IgG işaretlenme oranları değerlendirme dışı bırakılmıştır. İkinci grafikte ise CD45 antijeni ile yapılan işaretleme sonucunda elde edilen sinyalin SSC

detektöründen elde edilen sinyal ile değerlendirildiği gösterilmektedir. Grafikte kırmızı ile işaretli "kapılanmış" hücrelerin grafiğin sol üst bölümünde bulunması, hücrelerin CD45 negatif olduğunu göstermiştir. Şekil 4.2'de sunulan histogramlarda, yeşil renk kontrol, mor ise yüzey IgG işaretleyicilerden alınan sonuçları ifade etmektedir. Yeşil ve mor histogramların çakışması negatif işaretlenmeyi, yani hücrenin ilgili yüzey antijenini ifade etmediğini göstermektedir. Pozitif durumda ise mor histogramın, kontrolün sağ tarafında bulunması gerekmektedir.



Şekil 4.2. Sıçan Kökenli MKH' lere Ait Akış Sitometri Analiz Sonuçları (Yeşil ve Mor Histogramlar Sırasıyla Kontrol ve Yüzey IgG işaretleyicilerdir).

MKH' lerde bulunması ve bulunmaması gereken yüzey antijenlerinden bazıları şu şekilde belirlenmiştir: Fenotip pozitif antijenler ($\geq 95\%$): CD105, CD73, CD90, CD29 ve fenotip negatif antijenler ($\leq 2\%$): CD45, CD34, CD14, CD79 (Dominici ve

ark., 2006; Karaoz ve ark., 2009; Lotfy ve ark., 2014). Akış sitometri analiz sonuçları Tablo 4.1.'de gösterilmektedir. Hücrelerin literatürle uyumlu bir şekilde CD29, CD90, CD54 ve MHC sınıf 1 işaretleyicileri için pozitif olduğu görülmüştür. CD45 ve MHC sınıf 2 antijenleri için ise oldukça düşük işaretlenme oranları bulunmuştur ($\leq 1\%$). Analiz sonuçlarına göre hücrelerin yüksek saflıkta olduğunu ve mezenkimal hücrelere uygun yüzey antijenlerini ifade ettiklerini söylemek mümkündür.

Tablo 4.1. Akış Sitometri Analizinin Değerlendirilmesi.

Antijen	Özellik	% Pozitiflik	Açıklama
CD45 (reseptör C)	Tüm Hematolojik hücreler	0.64	Negatif (-)
CD29 (Integrin beta-1)	Hücre yüzey matris reseptörü	99.86	Pozitif (+)
CD90 (Thy-1)	MSC yüzey antijeni	98.30	Pozitif (+)
CD54 (ICAM-1)	Hücre içi adhezyon molekülü-1	99.84	Pozitif (+)
CD106 (VCAM-1)	Vasküler hücre yapışma proteini 1	9.05	Pozitif (+)
MHC sınıf 1	Ana doku uyumluluk kompleksi	82.10	Pozitif (+)
MHC sınıf 2	Bağışıklık tepkilerini düzenleyici reseptör	0.82	Negatif (-)

4.3. İn Vivo Kemik Rejenerasyonunun Makroskopik ve Mikroskopik Değerlendirilmesi

Alveolar diş çekim soketlerindeki kemik defektinin in vivo rejenerasyon kapasitesini araştırmak için SD sıçanlarında çekilen diş soketlerinin içine sırasıyla, optimize edilmiş Gel-MA/nHAp ve Gel-MA/nHAp/MSCs karışımı enjekte edildi. Biyomalzemeler UV ışık kaynağına (VALO cordless dental curing light unit, 395–480nm, 30 sn) maruz bırakılarak çapraz bağlama reaksiyonu gerçekleştirildi. Toplam deney süresi boyunca sadece 1. ay kontrol grubundaki bir hayvan anestezi işlemi sonrası ölümü gerçekleşti. Diğer hayvanlarda herhangi bir enfeksiyon belirtileri gözlenmedi. Kontrol ve deneysel gruptaki ratların yarısı 30. gün diğer yarısı 60.

gün sakrifiye edildi. Toplamda 35 örnek analiz için hazırlandı. Maksillanın makroskopik gözleminde (Şekil 4.3.) kontrol grubundaki 1. ve 2. ay sakrifiye edilen toplam iki rat dışında çekim soketlerinin iyi iyileştiği ve hiçbir nekroz veya enflamasyon tespit edilmediği görüldü. 4 ve 8 haftalık iyileşmeden sonra, kontrol gruplarında diş soket onarımının minimal olduğunu ve çoğu defekt bölgesinin boş kaldığını gözlemledik. Özellikle, 1. ve 2. ay Gel-MA/MSCs grubu, Mikro-BT kesitlerinde de görüldüğü gibi, açık bir şekilde yeni kemik oluşumu gösterdi. İyileşmeden sonra diş çekim soketlerinin sınırları Gel-MA/nHAp ve Gel-MA/nHAp/MSCs'te orijinal alveolar kemiğe benzerliği daha fazlaydı. Bununla birlikte, kontrol grubunda tedavi edilen diş soketlerinin merkezinde hala bariz bir boşluk ve çökmeler izlendi.



Şekil 4.3. Maksilladan Alınan Doku Örneklerinin 30. ve 60. gündeki Kemik ve Yumuşak Doku İyileşmelerinin Makroskopik Düzeyde İncelenmesi.

4.4. Mikro-BT Analiz Sonuçları

Ratların maksillasından çekilen dişlerin, 1. ve 2. aydaki soket iyileşmelerinin mikro-BT ve 3B görüntüleri şekil 4.4; şekil 4.5; şekil 4.6; şekil 4.7; şekil 4.8; şekil 4.9'da gösterilmiştir. Mikro-BT (SkyScan-1272, Bruker, Kontich, Belçika) incelemesinde, rekonstrüksiyonu sağlanan kemik dokusu 3B olarak incelendi ve kemik yoğunluğu ölçümleri yapıldı. Toplam doku hacminin kemik hacmi fraksiyonunu (BV/TV, %) hesaplayarak 4 ve 8 haftalık iyileşmeden sonra yeni rejenere kemik dokusu miktarını belirledik. 3B görüntü sonuçlarında, yeni kemik dokunun kök hücre yerleştirilen grupta daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. 1. ve 2. ay mikro-BT analiz sonuçlarına göre, Gel-MA/MSCs grubunun kemik hacim yüzdesi (BVP) en yüksekti ve diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. Gel-MA/MSCs grubunun 1. ay ortalama BVP' si $\%81.02 \pm 3.05$, 2. ay ortalama BVP değeri ise $\%85.86 \pm 1.74$ olarak bulundu ($p < 0.001$). Gel-MA grubunun 1. ay ortalama BVP' si $\%71.73 \pm 6.74$, 2. ay ortalama BVP değeri ise $\%81.8 \pm 6.5$ olarak bulundu ($p < 0.001$). Kontrol grubunun 1. ay ortalama BVP' si $\%62.04 \pm 1.6$, 2. ay ortalama BVP değeri ise $\%69.7 \pm 2.9$ olarak bulundu ($p < 0.001$) (Tablo 4.2.). 1. aydaki dokuların mikro-BT analiz sonucuna göre, BVP değerleri kontrol ile Gel-MA/MSCs grubu ve Gel-MA ile Gel-MA/MSCs grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.001$, $p < 0.01$). 2. ay sonuçları da aynı gruplar arasında istatistiksel olarak benzer farklılıklar göstermiştir ($p < 0.001$, $p < 0.05$) (Şekil 4.10). Yapılan bu analizlere göre optimize edilmiş Gel-MA/nHAp/MSCs enjekte edilebilir ve foto çapraz bağlanabilir biyomalzemelerin in vivo olarak diş çekim soketi kemik defektinin onarımını etkili bir şekilde destekleyebileceği gösterilmiştir.

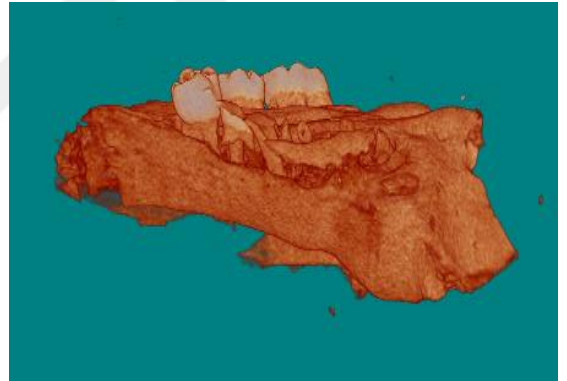
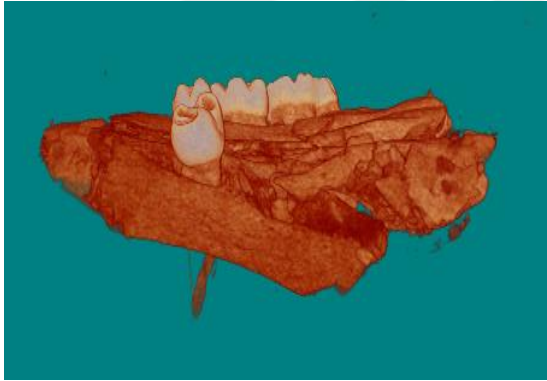
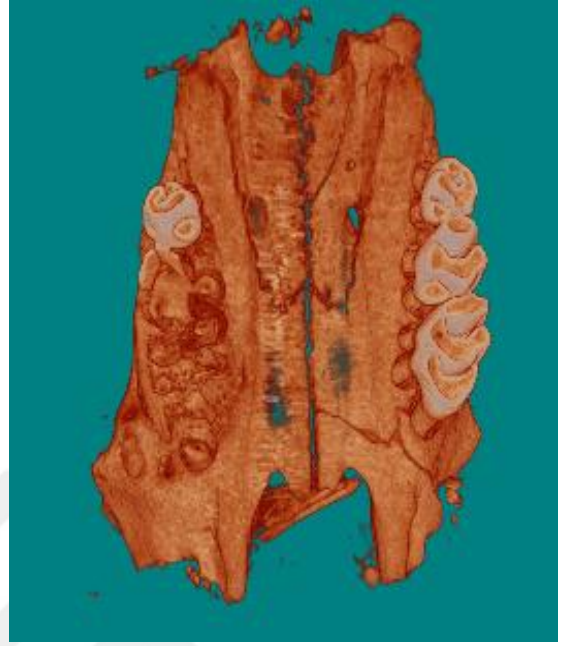
Tablo 4.2. Grupların Kemik Hacim Yüzdesi (BVP) (%) $\pm$ SS Değerleri.

	Kontrol	Gel-MA	Gel-MA/MSCs
30. Gün	$\%62.04 \pm 1.6$	$\%71.73 \pm 6.74$	$\%81.02 \pm 3.05$
60. Gün	$\%69.7 \pm 2.9$	$\%81.8 \pm 6.5$	$\%85.86 \pm 1.74$

Kontrol 30. gün

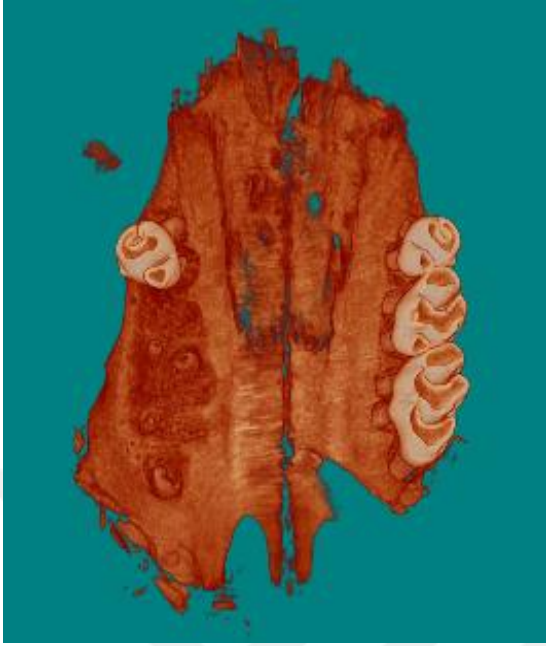


Kontrol 60. gün

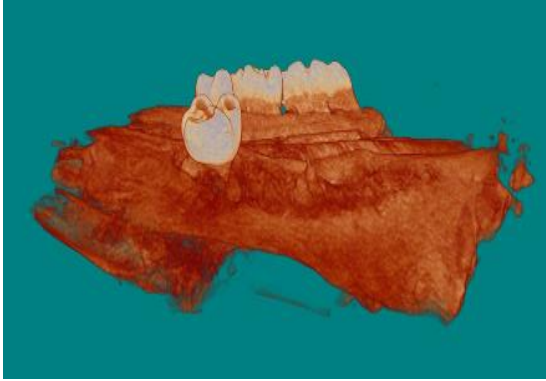


Şekil 4.4. Kontrol Grubu 1. ve 2. ay, Maksillanın Aksiyal/ Sagittal 3B Görüntüleri.

Gel-MA/nHAp 30. gün



Gel-MA/nHAp 60. gün

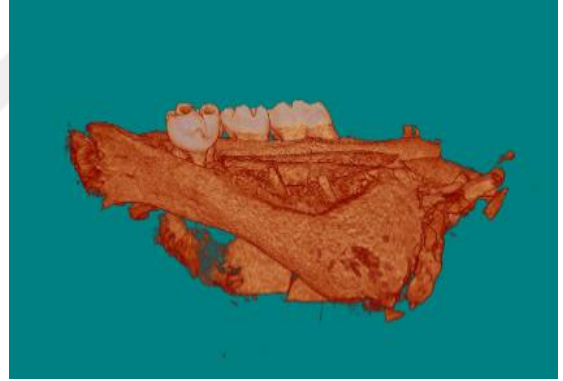
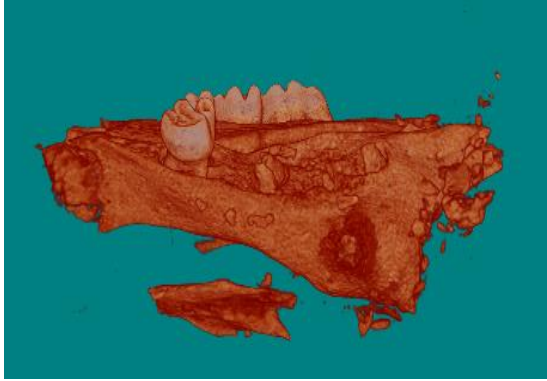
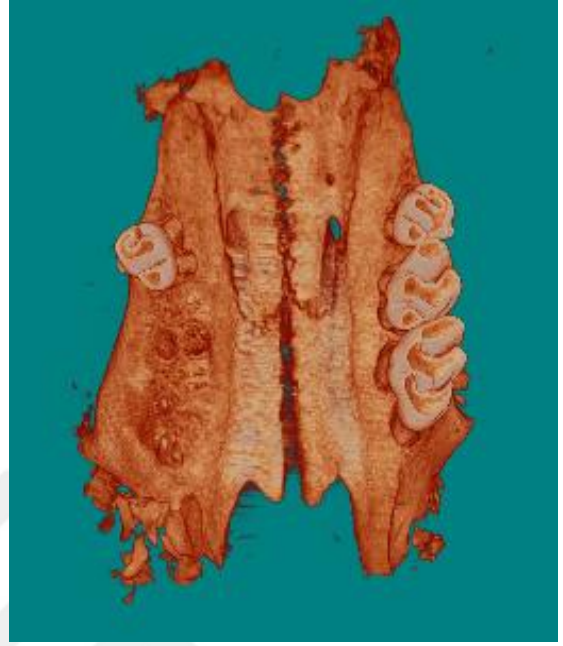


Şekil 4.5. Gel-MA/nHAp Grubu 1. ve 2. ay, Maksillanın Aksiyal/ Sagittal 3B Görüntüleri

Gel-MA/nHAp/MSCs 30. gün



Gel-MA/nHAp/MSCs 60. gün

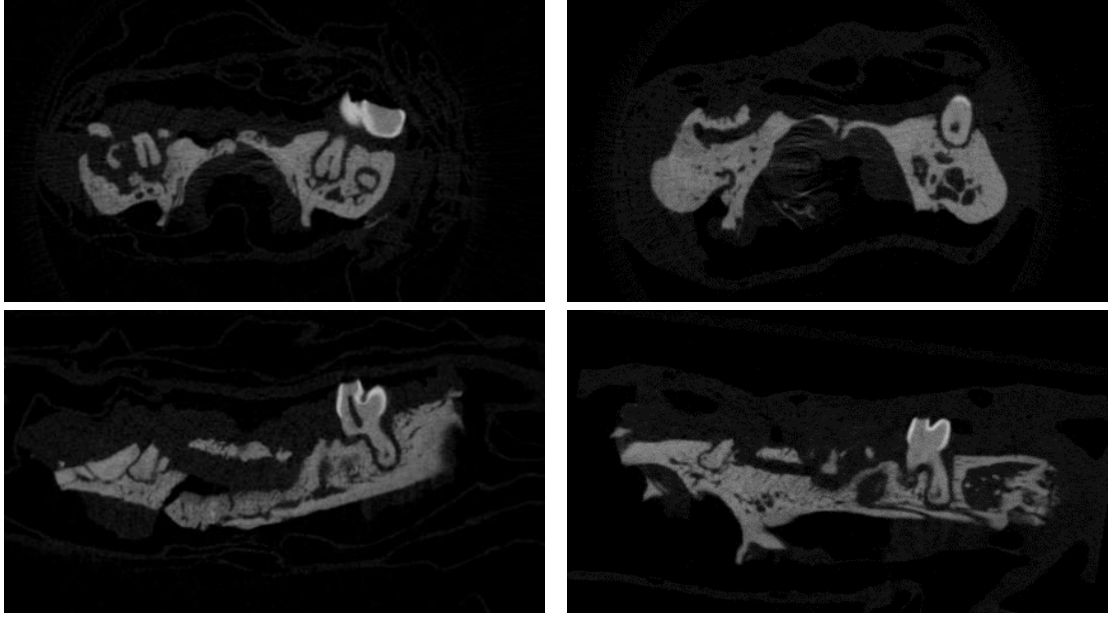


Şekil 4.6. Gel-MA/nHAp/MSCs Grubu 1. ve 2. ay Aksiyal/ Sagittal Maksillanın 3B Görüntüleri

Maksillanın Mikro-BT Görüntüleri

Kontrol 30. gün

Kontrol 60. gün

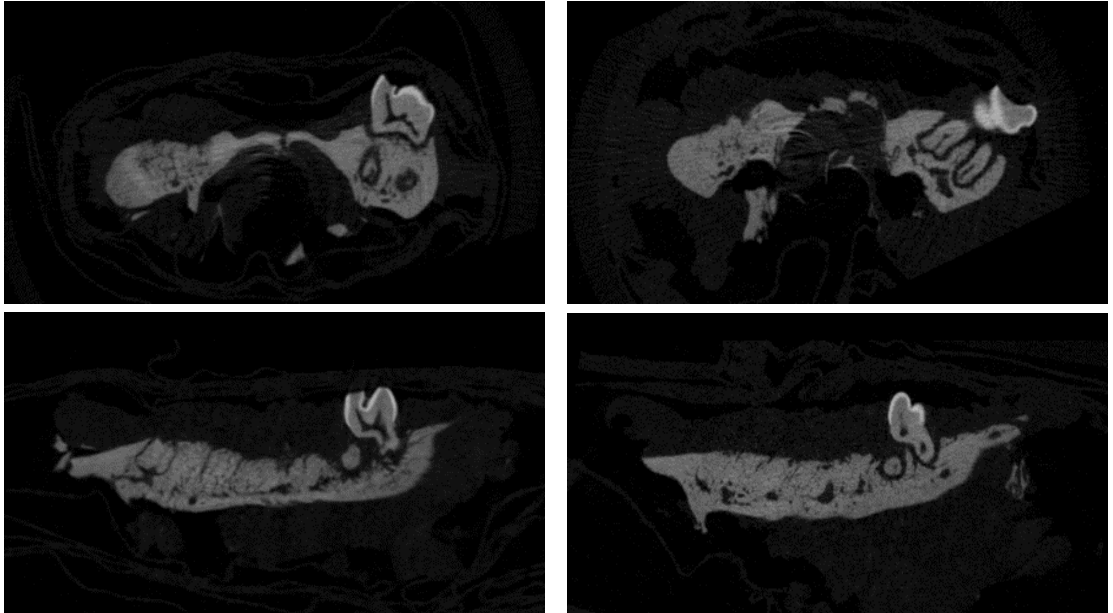


Şekil 4.7. Kontrol Grubu 1. ve 2. ay Maksillanın Koronal/ Sagittal Mikro-BT Görüntüleri

Maksillanın Mikro-BT Görüntüleri

Gel-MA/nHAp 30. gün

Gel-MA/nHAp 60. gün

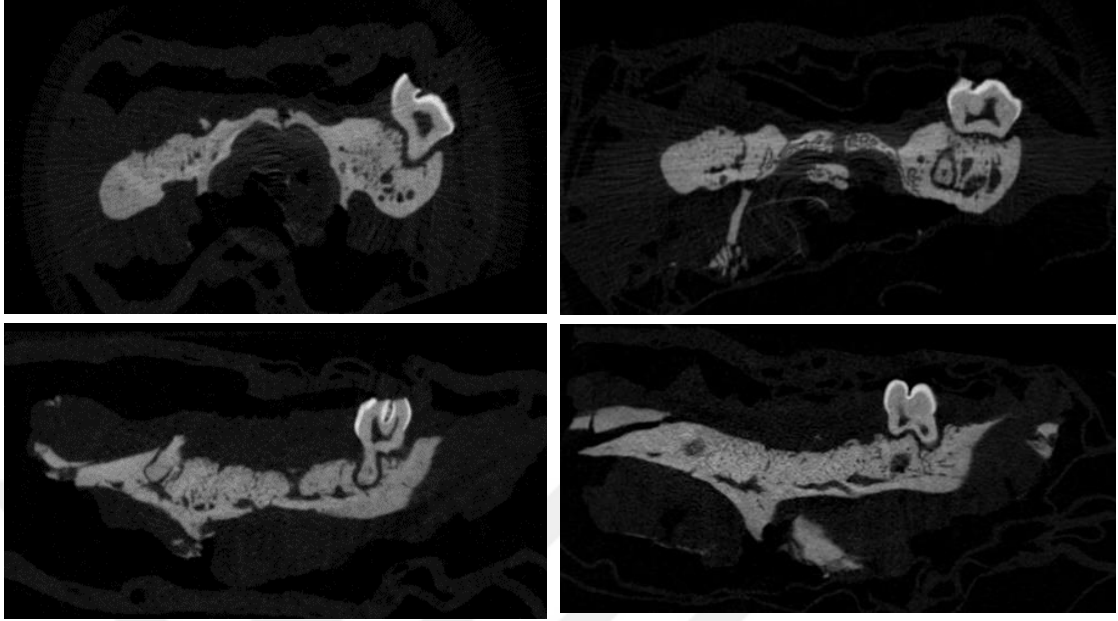


Şekil 4.8. Gel-MA/nHAp grubu 1. ve 2. ay Maksillanın Koronal/ Sagittal Mikro-BT Görüntüleri

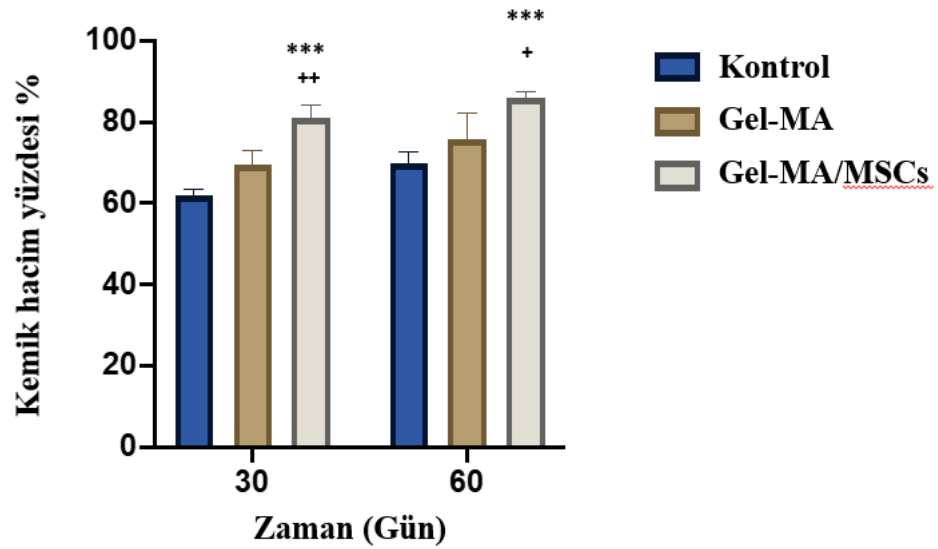
Maksillanın Mikro-BT Görüntüleri

Gel-MA/nHAp/MSCs 30. gün

Gel-MA/nHAp/MSCs 60. gün



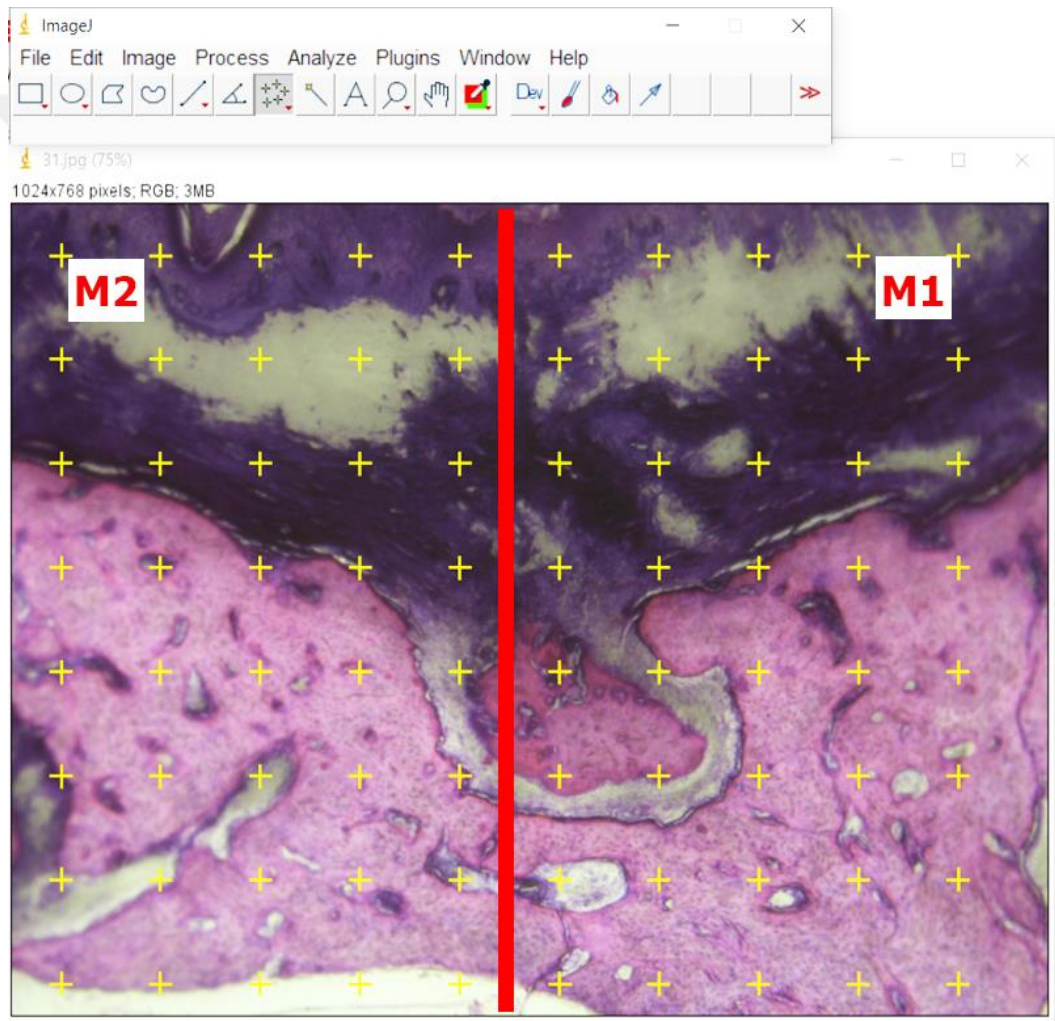
Şekil 4.9. Gel-MA/nHAp/MSCs grubu 1. ve 2. ay Maksillanın Koronal/ Sagittal Mikro-BT Görüntüleri



Şekil 4.10. İstatistiksel Olarak Anlamlı Farklar n = 3, *** p < 0,001 kontrol grubu KONTROL olduğunda; +p < 0.05, ++ p < 0.01, kontrol grubu Gel-MA olduğunda.

4.5. Histopatolojik Sonuçlar

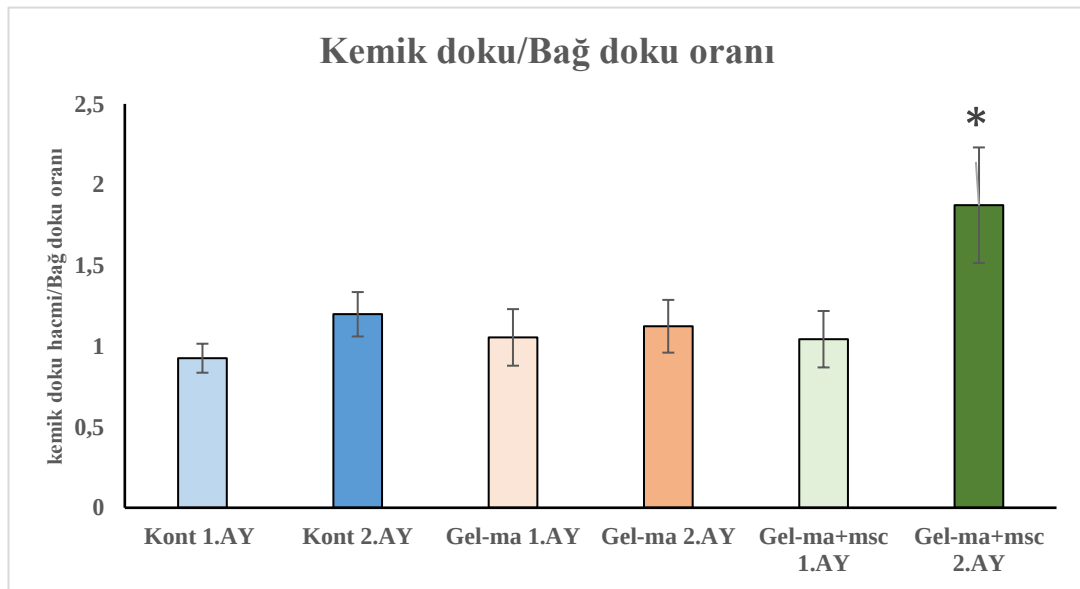
Diş çekim soketlerinden alınan kesitlerde iyileşmenin izlenmesi adına kemik ve bağ dokusu hacim analizleri gerçekleştirildi ve bu alanda yer alan kemik ve bağ dokusunun oranları hesaplandı (Tablo 4.3.; Şekil 4.11). Çekim yapılan alana ait görüntüler iki parçaya ayrılarak M1-M2 örnekleri oluşturulmuş ve böylelikle her bir grupta 12 alan taraması gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.12). Kemik dokusu ve bağ dokusunun kesin olarak ayırt edilemediği kesitler analize dahil edilmedi.



Şekil 4.11. Örnekleme Stratejisi.

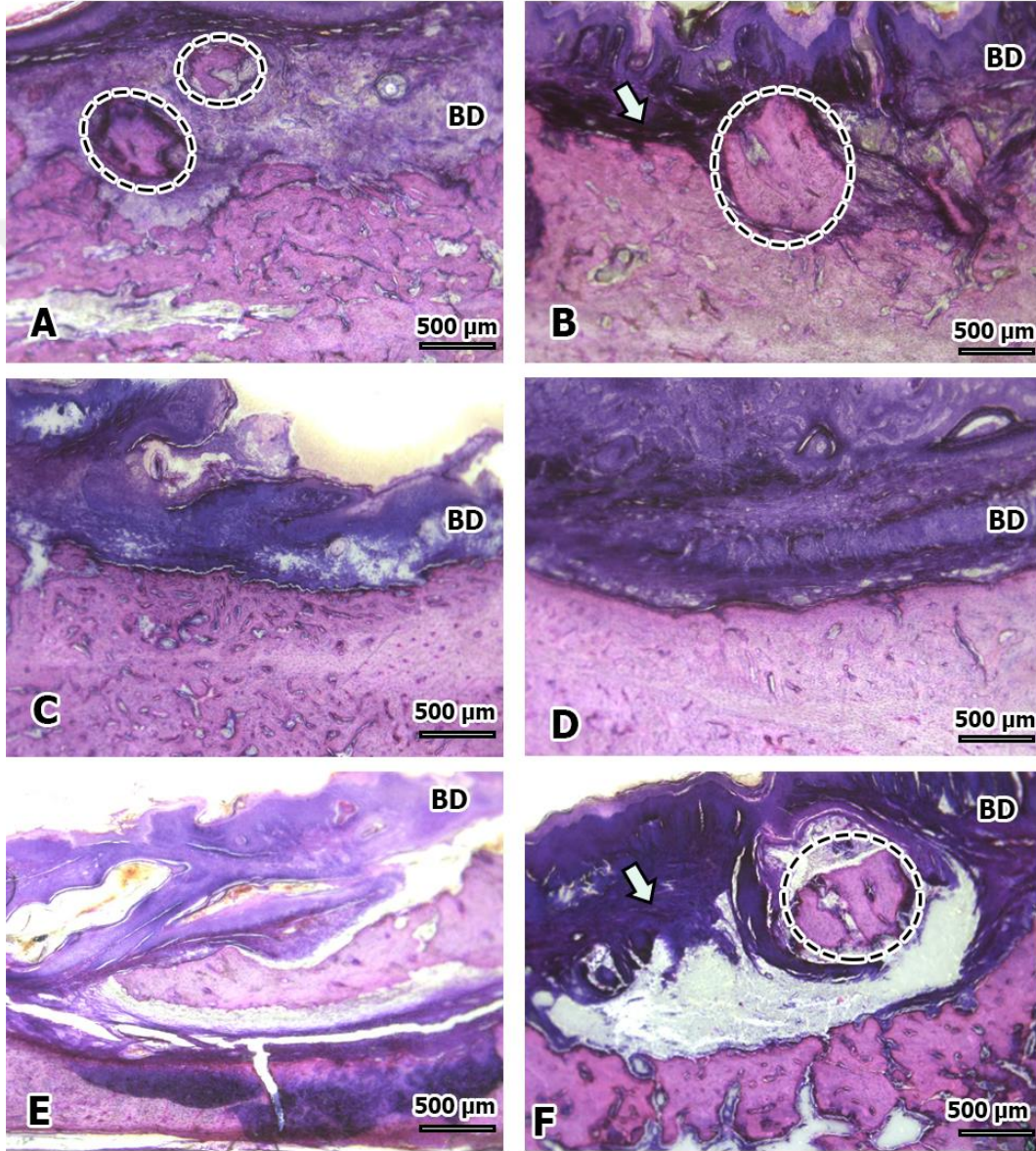
Tablo 4.3. Diş Çekim Soketlerinde Bulunan Kemik ve Bağ Dokusu Oranları.

	KONTROL		GEL-MA		GEL-MA+MSC	
	1. AY	2. AY	1. AY	2. AY	1. AY	2. AY
1	1,08	5,4	1,67	0,88	0,89	1,10
2	1,15	0,96	1,70	1,48	1,15	2,95
3	0,68	0,64	1,03	1,10	1,62	1,14
4	1	0,96	1,32	2,05	1,88	1,92
5	0,55	0,44	0,58	0,17	0,19	2,85
6	1,34	0,53	0,61	2,08	0,86	2,73
7	1,11	1,44	1,33	0,78	1,11	1,15
8	0,39	0,85	2,08	0,66	0,60	1,29
9	0,86	0,75	0,44	0,72	0,85	1,93
10	1,09	0,71	0,38	0,43	1,94	2,30
11	-	Analize dahil edilmemiştir	0,89	1,0	0,21	1,25
12	-	0,49	0,64	2,07	1,21	Analize dahil edilmemiştir
ORT	0,93	1,20	1,05	1,12	1,04	1,87
SEM	0,08	0,13	0,17	0,16	0,17	0,35

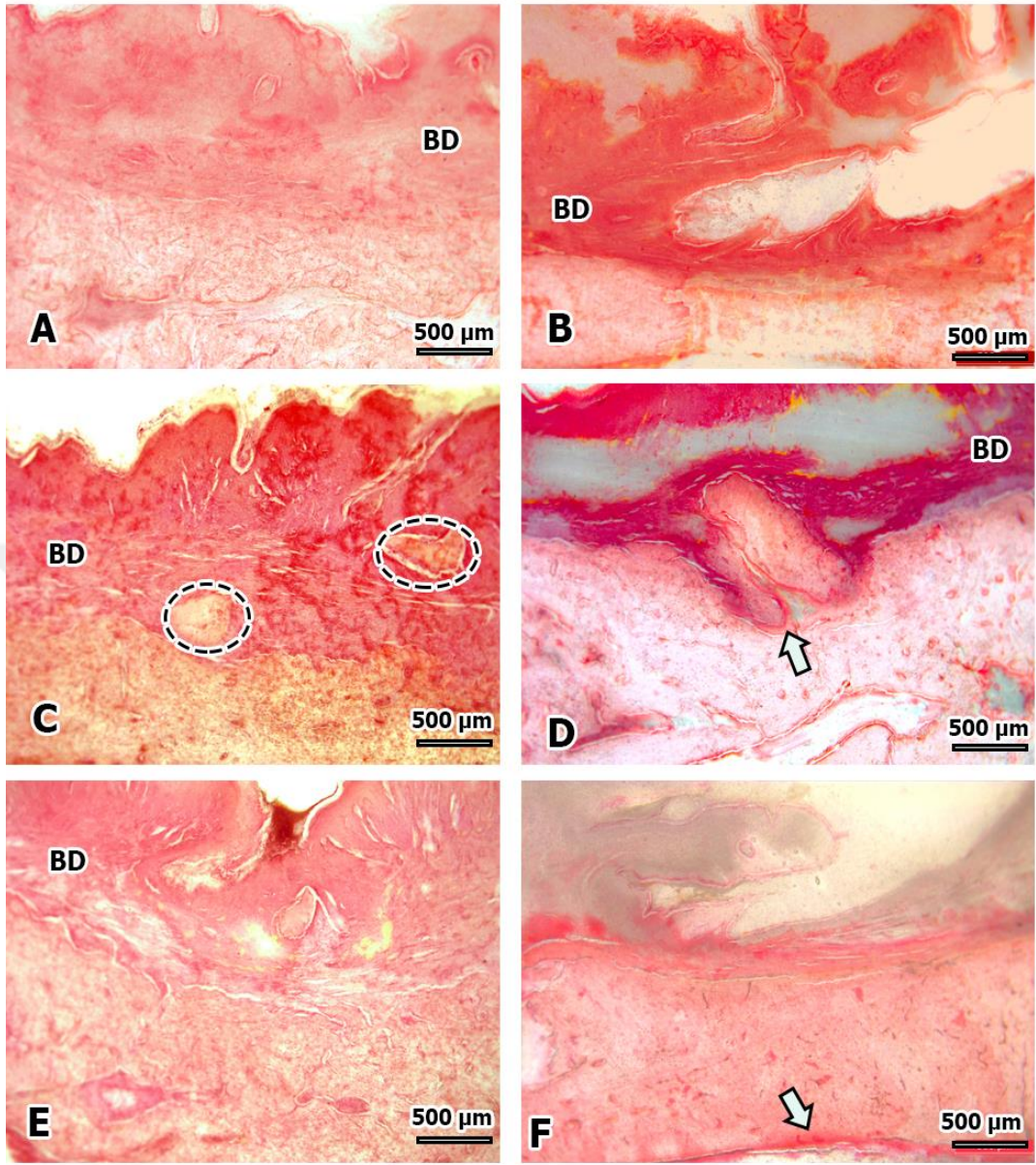


Şekil 4.12. Kemik ve bağ doku oranı grafiği ($\pm$ SEM). Yapılan istatistiksel analizlerde Gel-MA+MSCs 2. ay grubunun tüm gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p < 0,05$, One-way ANOVA).

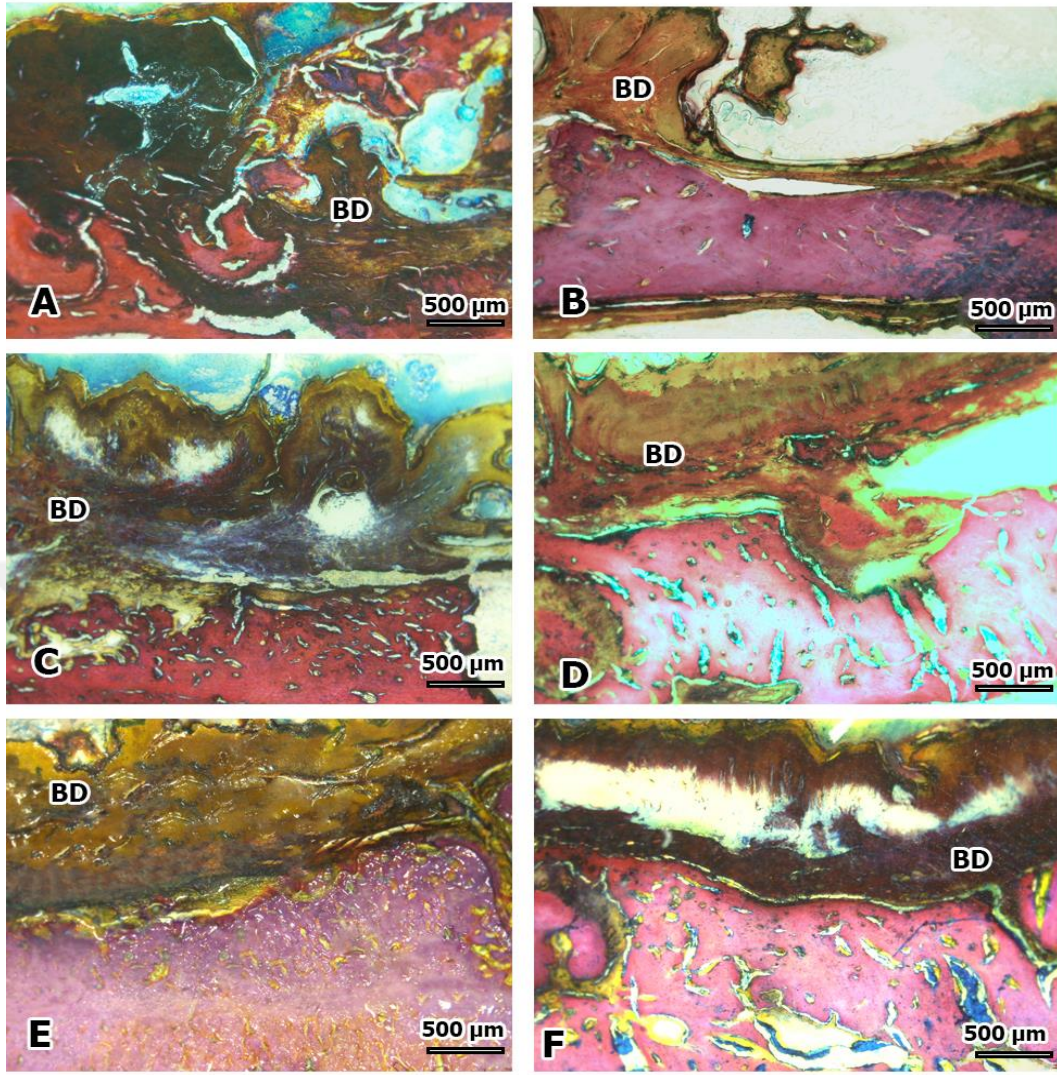
Image J programı üzerinde noktalı alan cetveli atılarak gerçekleştirilen hacimsel analizlerde Gel-MA+MSCs 2. ay grubundaki hacimsel değerin tüm gruplara ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu, bu grup dışında elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak fark olmadığı görülmüştür ($p>0,05$, One-way ANOVA).



Şekil 4.13. Tüm gruplara ait dokuların histolojik görüntüleri (Hematoksilen-Eozin Boyaması). **A;** Kontrol 1. ay grubu, **B;** Kontrol 2. ay grubu, **C;** Gel-MA 1. ay grubu, **D;** Gel-MA 2. ay grubu, **E;** Gel-MA/MSCs 1. Ay grubu, **F;** Gel-MA/MSCs 2. ay grubu. **Sınırlandırılmış alan;** Kemik doku, **BD;** Bağ doku, **Beyaz ok;** Bağ doku lifleri.



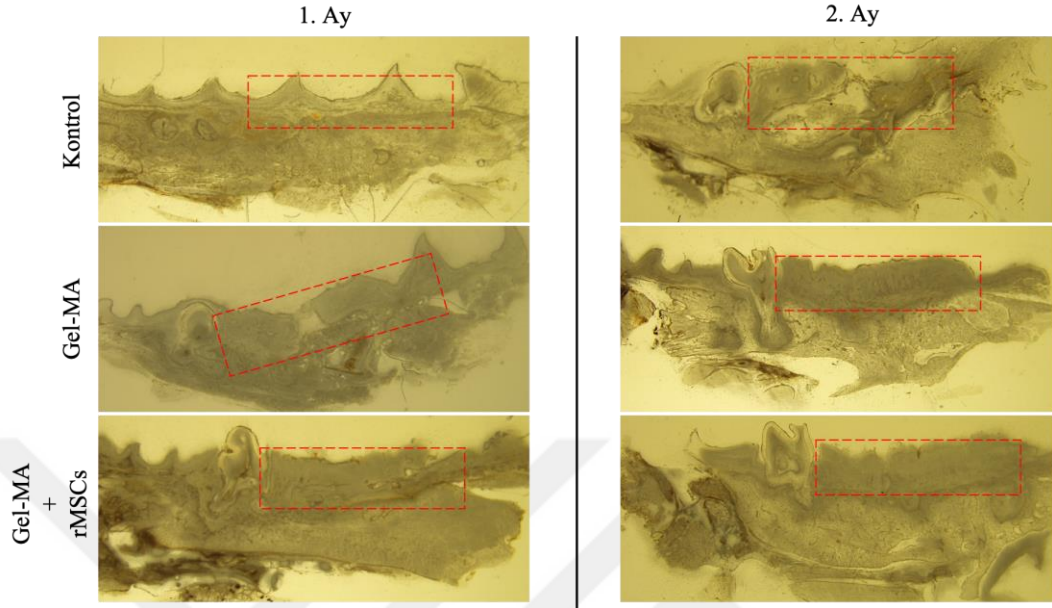
Şekil 4.14. Tüm gruplara ait dokuların histolojik görüntüleri (Alizerin Red Boyaması). **A;** Kontrol 1. ay grubu, **B;** Kontrol 2. ay grubu, **C;** Gel-MA 1. ay grubu, **D;** Gel-MA 2. ay grubu, **E;** Gel-MA/MSCs 1. ay grubu, **F;** Gel-MA/MSCs 2. ay grubu. **Sınırlandırılmış alan;** Kemik doku, **BD;** Bağ doku, **Beyaz ok;** Hidroksiapatitlerinin yoğun olduğu alanlar.



Şekil 4.15. Tüm gruplara ait dokuların histolojik görüntüleri (Mason Tricrome Boyaması). **A;** Kontrol 1. ay grubu, **B;** Kontrol 2. ay grubu, **C;** Gel-MA grubu 1. ay, **D;** Gel-MA 2. ay grubu, **E;** Gel-MA/MSCs 1. ay grubu, **F;** Gel-MA/MSCs 2. ay grubu. **BD;** Bağ doku.

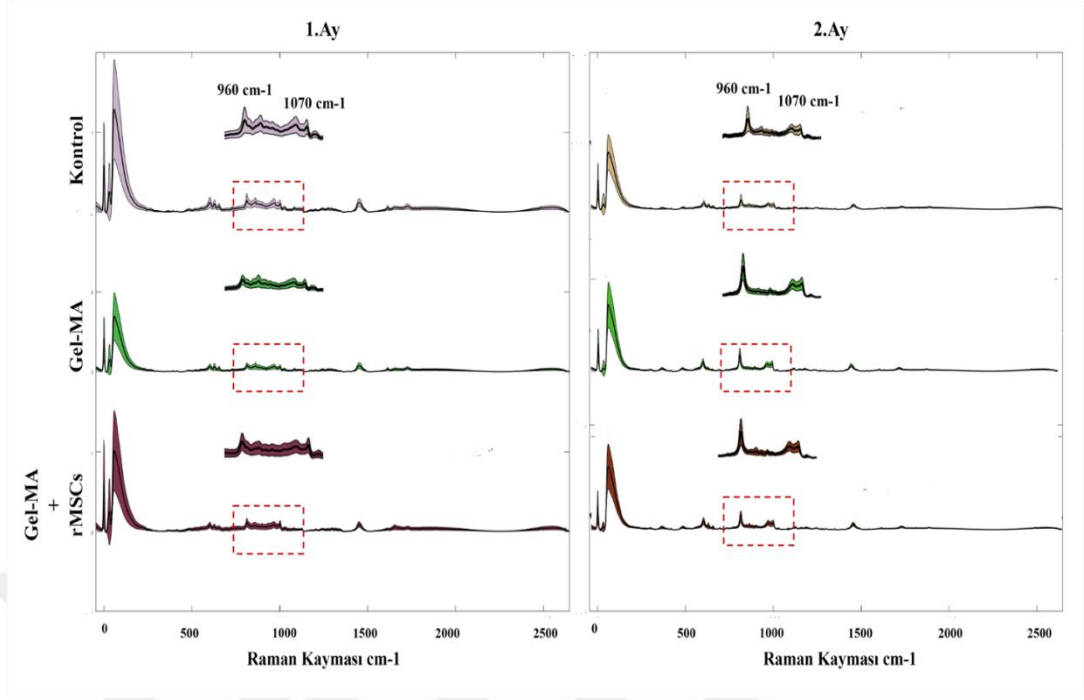
Kesitlerin histolojik olarak incelenmesinde Kontrol 1. ay, Kontrol 2. ay ve Gel-MA+MSCs 2. ay gruplarında bağ dokusu içerisinde kemik alanları dikkat çekmektedir. Ayrıca Kontrol 2. ay' a ait görüntülerde bağ dokusu liflerinin yoğunluğunun arttığı fark edilmiştir (Şekil 4.13.). Alizerin red boyamalarında ise özellikle Gel-MA 2. ay ve Gel-MA+MSCs 2. ay gruplarında özellikle hidroksiapatitlerinin yoğun olduğu ve yeni kemik oluşumunu gösteren koyu boyanmış alanlar dikkat çekmektedir (Şekil 4.14.). Massom Tricrome ile yapılan boyamalarda ise kontrol grubuna ait örneklerin oldukça düzensiz bir yapılanma ve iyileşmeye sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.15.).

4.6. Sıçan Diş Soket Bölgelerinde Kemik Oluşumunun Raman Spektroskopisi ile Analizi



Şekil 4.16. Diş çekim soketi kesitlerini içeren optik mikroskop görüntüleri ve Raman Spektroskopisi analizi yapılan bölgeler (Kırmızı kesikli çizgiler/Dikdörtgen alanlar).

Bölüm 3.2.7’ de anlatıldığı üzere grupların diş çekim soketlerinin 1. ve 2. ay histolojik kesitlerinden Şekil 4.16.’de gösterilen bölgelerden 120 noktadan ($n=120$ spektrum) Konfokal Raman Spektroskopisi ile 785 nm dalga boyunda uyarımı sonucu Raman Spektrogramları elde edilmiştir (Şekil 4.17.). Pik değerleri; 955 cm^{-1} - 960 cm^{-1} (Suhito ve ark., 2018) civarı hidroksiapatite, 971 cm^{-1} - 976 cm^{-1} hidroksiapatit öncülüne, 985 cm^{-1} dikalsiyum fosfatdehidrata, 1006 cm^{-1} kollajene atfedilen fenilalanine, 1068 cm^{-1} apatit benzeri minerale atfedilir (Lazarević ve ark., 2019).



Şekil 4.17. Dış çekim soketlerinden elde edilen 1. ve 2. ay'da alınmış Raman Spektrumlarının ortalama değerlerine ait grafikler. Mineral oluşumunu gösteren 960cm^{-1} ve 1070cm^{-1} piklerinin karşılaştırılması.

Dış çekim soketlerinin kesitlerinden elde edilen Raman Spektrumlarının mineral oluşumunu gösteren 960 cm^{-1} pikleri ve apatit benzeri mineral, kollajene atfedilen prolin oluşumunu gösteren 1070 cm^{-1} pikleri aşağıda verilen eşitlik ile spektrumlardaki piklerin ortalama enerjileri hesaplanarak Tablo 4.4. ve Tablo 4.5.'de verilmiştir.

Tablo 4.4. 960 cm^{-1} Piklerin Ortalama Enerji Hesapları.

960 cm^{-1} piki		
	1. ay	2.ay
Kontrol	1.9863e+04	1.3951e+04
Gelma	3.0273e+04	3.2981e+04
Gelma/MSCs	6.3280e+04	6.3149e+04

Tablo 4.5. 1070 cm⁻¹ Piklerin Ortalama Enerji Hesapları.

1070 cm⁻¹ piki		
	1.ay	2.ay
Kontrol	1.0397e+04	9.7890e+03
Gel-MA	1.8527e+04	1.6187e+04
Gelma/MSCs	3.0273e+04	2.8821e+04

Bu sonuçlara göre 1. ve 2. ay'da Gel-MA/MSCs grubunun mineral oluşumun Kontrol grubuna göre yaklaşık 6 kat, Gel-MA grubuna göre ise yaklaşık 2 kat daha fazla mineralize olduğunu söyleyebiliriz. Aynı şekilde apatit benzeri mineral, kollajene atfedilen prolin oluşumunu gösteren 1070 cm⁻¹ pikinin enerjileri karşılaştırıldığında Gel-MA/MSCs grubunun Kontrol grubuna göre yaklaşık 3 kat daha fazla olduğu, Gel-MA grubuna göre ise yaklaşık 1,5 kat daha fazla olduğu görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Geleneksel enjekte edilebilir hidrojeller, enjeksiyondan sonra genellikle bozulmakta veya mekanik mukavemetlerini kaybederek başarısızlığına neden olabilmektedir (Azevedo ve ark., 2017). Dış çekim yarasının düzensiz şekli nedeniyle, hidrojel yapıları, enjeksiyondan sonra başlangıçtaki mekanik gücü geri yükleyebilir ve defekti doldurabilir. Ayrıca dişeti ve yumuşak dokuların onarımı için iyi bir destek sağlamaktadır (Cui ve ark., 2019). Nanopartiküllerin eklenmesi hidrojin mekanik mukavemetini daha da iyileştirebilir (Liu ve ark., 2015; Wang ve ark., 2010). Bu durum çekim yarasının etrafındaki alveolar sırtın desteklenmesi için büyük önem taşır. Ayrıca periodontal dokunun proliferasyonunu da uyarabilir (Das ve ark., 2015; Trappmann ve ark., 2012). Optimize edilmiş hidrojel iskelesi, diğer iskele malzemelerine kıyasla alveolar sırtın korunması için daha uygun biyomalzemelerdir. Biyo-iskele malzemelerinin gözenekliliği ve biyouyumluluğu doku mühendisliği için önemli özelliklerdendir (Fléreau ve ark., 2017, Kharkar ve ark., 2013). Kök hücrelerin çok yönlü göçü ve hidrojel yapı iskelelerinin gözenekli yapısı sadece biyoaktif maddelerin agregasyonunu karşılamakla kalmayıp aynı zamanda metabolik atıkların boşaltılmasını da teşvik ettiğinden, doku mühendisliğinde hidrojel materyallerinin uygulanmasının temelini oluşturur (Kharkar ve ark., 2013; Ribeiro ve ark., 2018). Osteosentez yapı iskelesi malzemelerinde nHAp kullanılması oldukça önemlidir (Yi ve ark., 2016). İn vivo deneyler, klinikte kullanım için materyaller geliştirmenin anahtarını oluşturur. Kemğin yüksekliği ve genişliği, çekim yarasındaki alveolar sırtın boyutsal kemik değişikliklerinin doğrudan göstergeleridir. Labial ve lingual alveollerin mesafeleri, alveolar sırt rezorbsiyonunu ölçmek için güvenilir parametrelerdir (Arai ve ark., 2016). İskele malzemesinin mekanik gücünün iyi olması, alveolar sırtı destekleyebilen, rezorbsiyonunu ve içe doğru çökmesini önleyebilen bir yapı

oluşturmaktadır (Liu ve ark., 2015). Diş eti dokusunun iyileşmesiyle, çekim yuvası alveolar sırtı mükemmel bir şekilde kapatılabilir. Yüksek osteojenik aktiviteye sahip mikro-ortam, yeni kemik dokusunun birikmesini destekler. Böylece yeni kemik, alveolar sırtı daha da desteklemek için konakçı kemiğe bağlanır (Zuhr ve ark., 2018). Hidrojelin bozunma hızı, alveolar sırtın rezorpsiyona karşı korumasında önemli rol aynar ve kontrol edilebilir bozunma yeteneği, nihayetinde yeni kemik oluşumu için alan sağlar (Cui ve ark., 2019; Qi ve ark., 2020).

Doğal fizyolojik iyileşme sürecinin bir parçası olarak diş çekimi sonrası kısmen kaybolan alveolar sırtın sert ve yumuşak doku boyutlarını korumak amacıyla soket koruma tedavileri önerilmiştir. Bu durum, özellikle hastalara başarılı bir şekilde implant ve protez tedavilerini yapabilmek için dental implant cerrahisinde büyük önem taşımaktadır (Tarnow ve Eskow, 1996). Ne yazık ki, bu terapötik prosedürlerin etkinliğini ve kullanılan farklı tekniklerin/materyallerin potansiyel faydasını değerlendiren çok az sayıda iyi tasarlanmış klinik çalışma vardır.

Diş çekim sonrası farklı kemik grefti biyomalzemeleri ile bölgelerin iyileşme süreçlerini analiz eden klinik çalışmalarda bulunmaktadır (Atieh ve ark.; 2015; Corbella ve ark., 2017; MacBeth ve ark., 2017; Siddiqui ve Partridge, 2016). Son sistematik incelemeler ve meta-analiz çalışmaları, ksenojenik malzemelerin doku iyileşmesinde genel olarak önemli etkilerinin olduğu belirtilmektedir. Rezidüel greft malzemeleri ile ilgili olarak, en düşük oranlar allogreftli prosedürlerde (%12,4- %21,11), ksenogreft ve alloplast kullananlarda ise 7 ay sonra (%37,14 ve %37,23) daha yüksek doku iyileşmesi sonuçları gösterdiği bulunmuştur (De Risi ve ark., 2015). Bununla birlikte, histolojik olarak, bu biyomalzemeler, üretim süreçleri nedeniyle, uzun vadede rezorpsiyonu azaltabilmektedir (Minetti ve ark., 2022). Tıp giderek hastalar üzerindeki etkiyi azaltan kişiselleştirilmiş minimal invaziv tedavilere doğru evrilmektedir (Gual-Vaques ve ark., 2018; Nibali ve ark., 2019; Ower, 2013). Dokuların yeniden onarılması veya “biyomimetik” materyallerin oluşturulması ile cerrahi prosedürlerin hastalar üzerindeki etkisini azaltmayı amaçlayan önemli konular olarak düşünülmektedir (Minetti ve ark., 2022).

Şu anda, doku mühendisliği araştırmaları için kullanılan hücreler esas olarak ksenojenik, allojenik ve otolog hücre kaynaklıdır. Ksenojenik hücreler insan olmayan

başka türlerin vücut dokularından alınıp elde edilebilir, bu da ksenojenik hücrelerin kullanımının bağışıklık reddine neden olabileceği anlamına gelmektedir. Bazı araştırmacıların bu bağışıklık reddinin üstesinden geldiğini bildirmesine rağmen (Iwase ve ark., 2015; Mohiuddin ve ark., 2014), ksenojenik hücrelerin güvenlik ve uzun vadeli terapötik etkilerinin hala daha fazla doğrulanması gerekmektedir (Sun ve ark., 2019). Ksenojenik hücrelerle karşılaştırıldığında, allojenik hücreler bağışıklık reddinin üstesinden daha iyi gelebilmektedir (Goyer ve ark., 2019). Otolog hücreler hastaların kendi dokularından alınır. Bu hücreler çeşitli doku ve organları yenileme potansiyeline sahiptir. Otolog hücreler, ksenojenik ve allojenik hücrelerden farklı olarak, immün rejeksiyona neden olmazlar ve etik sorunları yoktur, ancak sınırlı kaynak alanları ve hücre eldesi sırasında meydana gelen travmalar nedeniyle uygulamaları sınırlıdır (Cao ve ark., 2021).

Doku iskeleleri, doğal biyomalzemeler, sentetik polimerler veya hidrojel yapısında olabilir. Bu malzemelerinde bazı sınırlamaları bulunmaktadır. Çoğu doğal biyomalzeme hayvanlardan elde edilmektedir. İn vivo veya in vitro deneyler sırasında iyi biyouyumluluğa sahip oldukları gösterilmiştir. Fakat bu biyomalzemeler hala otolog olmayan ve bağışıklık sistemi tarafından işaretlenmiş yabancı cisimler olarak değerlendirilmekte ve uzun süreli kullanımdan sonra ciddi immünojenik tepkilere neden olabilmektedir (Gilmartin ve ark., 2013). Sentetik polimer malzemeler, önceki çalışmalarda genellikle zayıf hücre afinitesi sergilediği gösterilmiştir (Zhao ve ark., 2016). Rasperini ve ark.'ları (2015) periodontal kemik defektini tedavi etmek için 3D-baskı biyo-çözünür polimer yapı iskelesinin kullanıldığı ilk insan vakasını bildirmiştir; bununla birlikte, iskele 13. ayda açığa çıktığı ve yara iyileşmesi gecikmesi nedeniyle 14. ayda çıkarıldığını belirtmektedirler. İskelelerin bozulma hızının defekt iyileşme hızına uyacak şekilde nasıl kontrol edileceği ve koordineli doku rejenerasyonuna rehberlik edebilecek katmanlı iskelelerin nasıl hazırlanacağı, gelecekte iyileştirme yaklaşımlarının ana yönleri olabilir (Cao ve ark., 2021).

Diş hekimliğinde çoğunlukla eksik olan sert doku yapılarını yenilemek için partikül veya blok şeklinde kemik grefti veya yerine geçen biyomalzemeler kullanılmaktadır. Yeni ve daha verimli doku greftleme malzemeleri için artan bir talep bulunmaktadır. Mevcut durumda kullanılan otogreft olmayan diğer greft

malzemelerine karşı konak yanıtlarıyla ilgili potansiyel sorunlar devam etmektedir. Bununla birlikte, doku mühendisliği alanındaki araştırmalar ilerledikçe, büyüme faktörleri ile entegre edilmiş veya canlı osteojenik progenitör hücrelerle modifiye edilmiş çeşitli seramik ve polimer bazlı kemik greftleri ile ilgili yeni birçok gelişme olmuştur. Bu ilerlemeler sonunda daha etkili kemik greft malzemeleri tasarlanması ve geliştirilmesine olanak sağlayacaktır. Bu kemik greftlerinin maliyeti üzerinde durulması gereken başka bir husustur. Klinisyenler, bu yeni teknolojilerin daha yüksek maliyetlerini göz önünde bulundurmalıdır (Zhao ve ark., 2021). Bu araştırma çalışmasında, gözenekli bir yapıya, mekanik stabiliteye, kontrollü bozunmaya ve yeni kemik oluşum hızıyla karşılaştırılabilir yeniden şekillenme yeteneğine sahip dental biyomalzemeleri geliştirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu anlaşılmıştır.

Kemik doku mühendisliği hidrojelleri, ECM, kök hücreler ve osteoindüktif bileşenleri entegre ederek doğal kapasiteleri ile kemik defektlerini tedavi etmek için kullanılan ideal bir çözüm sunacağı düşünülmektedir. Böylece kemik iyileşmesini etkin bir şekilde uyaracaktır. Ayrıca hidrojel, biyonik kemik özellikleri elde etmek için daha fazla modifikasyona izin verir ve minimal invaziv bir strateji ile kemik defekti alanına enjekte edilebilir (Bendtsen ve Wei, 2015; Hou ve ark., 2015; Saekhor ve ark., 2019). Bu çalışma, nHAp, Gel-MA hidrojeli ve MSCs' ler ile biyomimetik kemik dokusu mühendisliği materyalinin diş çekim soketlerindeki rejenerasyonuna etkisi araştırılmıştır. Enjekte edilebilir GelMA hidrojeli, nHAp ve MSCs, in vivo olarak önemli oranda kemik rejenerasyon kabiliyeti göstermiştir.

Kemik ECM' sine benzer yapı ve bileşime sahip hidrojellerin, MSCs hücrelerinin hücrel biyoaktivitesini korumak için faydalı olduğu kanıtlanmıştır (Cheng ve ark., 2018; Tsou ve ark., 2016). Bu çalışmada, GelMA hidrojelinin temel bileşeni, hidrolize bir formda kollajen olan jelatin olduğundan, GelMA hidrojeline nHAp'ın eklenmesi, hidrojelin nano ölçekte kemik yapısına benzerliklerini desteklemiştir. Böylece, GelMA/nHAp hidrojeli, bileşimsel benzerlik açısından mükemmel bir biyomimetik hücre yükleme platformu oluşturmuştur.

Kemik rejenerasyon doku iskelesinin; yeni oluşan kemiğe yapısal destek sağlaması, konakçı kemiğe benzer mekanik özellikleri paylaşması, biyouyumlu olması ve

kemiğin yeniden şekillenmesi ile sinerjik bir oranda biyolojik olarak bozunması beklenmektedir. Bu konuyu göz önünde bulundurarak, kemik defektini tamir eden bir iskele oluşturmak için gözenek boyutunu ve sayısını kontrol etmek esastır (Karageorgiou ve Kaplan, 2005). Ayrıca doğal kemik gözeneklidir ve gözenek boyutları 1 ila 100 μm arasında değişir (Hing ve ark., 2004; Klawitter ve ark., 1976; Simske ve ark., 1997).

MSCs ve GelMA/nHAp hidrojelieri, doğal kemiğe, osteojenik hücrelere ve osteoindüktif faktörlere bileşimsel benzerlik entegrasyonu nedeniyle kemik kusurlarını tedavi etmek için potansiyel olarak yararlı greft biyomalzemeleridir. Ek olarak, gözenekli biyomimetik matris, endotelial progenitör hücreler (EPH)' in ilave edilmesi ile elde edilebilen sinir ve kan damarlarının büyümesini destekleme ve uyarma potansiyeline sahiptir (Peng ve ark., 2019). Yeni kan damarlarının ve sinir dokularının biyomalzemelere eklenmesi de kemik ve diğer doku rejenerasyonunda kritik bir rol oynar. Gerekli oksijeni, besinleri, temel büyüme faktörlerini, neurofeedback ve nöro kontrolü sağlayabilirler (Marrella ve ark., 2018). Spesifik olarak GelMA, onaylanmış mükemmel biyogüvenlik ile doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Yue ve ark., 2015). nHAp, doğal insan kemiğinde en çok bulunan mineraldir ve ayrıca kemik greft biyomalzemelerinin bir parçası olarak yaygın olarak kullanılmaktadır.

GelMA/nHAp hidrojelinin in vivo kemik rejenerasyonunu ve doku iyileştirme yeteneğini test etmek için, MSCs de kullanılarak, sıçanların sol üst çene maksiller 1. ve 2. molar dişlerin çekim soketlerinde kemik defekti alanına enjekte edildi. UV ışık kaynağına (VALO cordless dental curing light unit, 395–480nm, 30 sn) maruz bırakılmasıyla hidrojel oluşumu daha da kararlı hale getirildi. Hidrojin enjekte edilebilirliği ve yerinde çapraz bağlama özelliği, ameliyatta sıklıkla karşılaştığımız düzensiz şekilli diş çekim soketini (kemik defekti) oldukça etkin bir şekilde doldurulduğu görüldü. Bu nedenle, bu GelMA-nHAp hidrojeli, düzensiz kemik defektlerinde mevcut kemiği maksimum düzeyde koruyabileceği sonucuna ulaşıldı. Mikro-CT sonuçları, transplantasyondan sekiz hafta sonra GelMA/nHAp/MSCs ile tedavi edilen sıçan diş çekim soketlerinin en yüksek kemik rejenerasyon hacminin bulunduğunu ortaya koymuştur. Histolojik analiz, GelMA/nHAp/MSCs grubunun kemik dokusunu yenilemek için üstün kapasitesini daha da doğrulamıştır. Böylece

GelMA/nHAp/MSCs doku iskelesi, kantitatif ve kalitatif olarak kemik rejenerasyonunu uyarmaktadır. İn vivo sonuçlar, GelMA/nHAp/MSCs hidrojelinin kemik rejenerasyonunu geliştirmek için verimli biyomimetik ve osteojenik doku mühendisliği malzemeleri olarak kullanılabileceği hipotezini güçlendirmektedir.

Çalışmamızda, enjekte edilebilir sistemin biyogüvenliği, in vivo sonuçlarla mükemmel kemik rejenerasyon kapasitesini doğrulamıştır. Bu nedenle biyomimetik, biyouyumlu, biyoaktif ve enjekte edilebilir Gel-MA/nHAp/MSCs hidrojel sistemi, gelişmiş doku ve hatta organ rejenerasyonu için büyük potansiyele sahiptir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, kemik dokusu rejenerasyonu için kullanılan enjekte edilebilir MSCs destekli biyomimetik Gel-MA/nHAp hidrojel sistemi tasarlanmıştır. Gel-MA'daki nHAp, doğal kemik yapısı ve bileşenlerine benzerlik sağlamıştır. Çalışmanın sınırlamaları dahilinde, Gel-MA, nHAp ve MSCs den oluşan biyomalzeme doku iskelesi doğal ve minimal invaziv kemik greft biyomalzeme kaynağı olarak düşünülebilir. Çalışmada kullanılan hidrojel ve nHAp, yüksek spesifik yüzey alanına ve gözenek hacmine sahip olan ve bu nedenle çeşitli proteinlerin, diğer biyomoleküllerin yüklenmesinde yüksek performansla sahip olan biyomimetik yapı sağlamıştır. Ayrıca, nanopartiküllerin (nHAp) enjekte edilebilir hidrojel sistemine dahil edilmesiyle doku iskelelerinin uyarılmasını sağlamıştır. Optimize edilmiş hidrojel doku iskelesi, in vitro olarak sadece mükemmel sito-uyumluluk ve osteojenik farklılaşma yeteneği göstermekle kalmadı, aynı zamanda in vivo olarak kemik oluşumunu kolaylaştıran mükemmel bir osteokondüktif ve osteoindüktif mikro-ortam sağlamıştır. Daha da önemlisi, alveolar kemiğinin korunmasını da hızlandırmıştır. Bu nedenle, estetik alanlarda da alveolar kemik alanlarının korunması için bu biyomalzemelerin kullanılması ve klinikte kemik defekti restorasyonu için yeni bir strateji sağlaması beklenmektedir.

Çalışmanın mikro-BT ve histopatolojik analiz sonuçlarının birbiri ile uyumlu olduğu, raman spektroskopisi analizinin de bu sonuçları desteklediği görüldü. Ayrıca moleküler düzeyde de gruplar arasında farkların olduğu tesbit edildi.

Sonuç olarak, çalışmamızda kullanılan bu biyomalzemelerin; oral ve maksillofasiyal cerrahi klinik uygulamalarındaki kemik rejenerasyonuna olan gerçek etkisini değerlendirmek ve anlamak için çok sayıda ve uzun gözlem süresi ile daha fazla çalışma yapılmaya ihtiyaç bulunduğu görülmüştür. Bununla birlikte, in-vivo ortamda gerçekleştirilen bu araştırma çalışması, diş çekimi sonrası alveolar kemik yapısını

korumak için enjekte edilebilir biyomimetik kemik greft malzemelerinin geliştirilmesine yönelik yapılması planlanan diğer çalışmalara katkıda bulunacağı da açıktır.



7. KAYNAKLAR

- Agarwal R, Garcia AJ. Biomaterial strategies for engineering implants for enhanced osseointegration and bone repair. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015; 94: 53-62.
- Aguilar A, Zein N, Harmouch E, Hafdi B, Bornert F, Offner D, Clauss F, Fioretti F, Huck O, Benkirane-Jessel N, Hua G. Application of Chitosan in Bone and Dental Engineering. *Molecules*, 2019; 24(16): 3009.
- Alkan I, Altunkaynak BZ, Altun G, Erener E. The investigation of the effects of topiramate on the hypothalamic levels of fat mass/obesity-associated protein and neuropeptide Y in obese female rats. *Nutr Neurosci*, 2019; 22(4): 243-252.
- Amato F, Mirabella AD, Macca U, Tarnow DP. Implant site development by orthodontic forced extraction: A preliminary study. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2012; 27(2): 411-420.
- Arai Y, Aoki K, Shimizu Y, Tabata Y, Ono T, Murali R, Mise-Omata S, Wakabayashi N. Peptide-induced de novo bone formation after tooth extraction prevents alveolar bone loss in a murine tooth extraction model. *Eur J Pharmacol*, 2016; 782: 89-97.
- Araujo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*, 2005; 32(2): 212-218.
- Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: Histomorphometric evaluations at 9 months. *J Periodontol*, 2000; 71(6): 1015-1023.
- Ashman A, Bruins P. A new immediate hard tissue replacement (HTR)TM for bone in the oral cavity. *J Oral Implantol*, 1982; 10(3): 419-452.
- Atieh MA, Alsabeeha NH, Payne AG, Duncan W, Faggion CM, Esposito M. Interventions for replacing missing teeth: alveolar ridge preservation techniques for dental implant site development. *Cochrane Database Syst Rev*, 2015; May 28; 2015(5): CD010176.
- Avila-Ortiz G, Chambrone L, Vignoletti F. Effect of alveolar ridge preservation interventions following tooth extraction: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*, 2019; 46(Suppl 21): 195-223.
- Avila-Ortiz G, Elangovan S, Kramer KW, Blanchette D, Dawson DV. Effect of alveolar ridge preservation after tooth extraction: A systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*, 2014; 93(10): 950-958

- Azevedo S, Costa AMS, Andersen A, Choi IS, Birkedal H, Mano JF. Bioinspired Ultratough hydrogel with fast recovery, self-healing, Injectability and Cytocompatibility. *Adv Mater*, 2017; 29(28).
- Bangun K, Sukasah CL, Dilogio IH, Indrani DJ, Siregar NC, Pandelaki J, Iskandriati D, Kekalih A, Halim J. Bone Growth Capacity of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells and BMP-2 Seeded into Hydroxyapatite/Chitosan/Gelatin Scaffold in Alveolar Cleft Defects: An Experimental Study in Goat. *Cleft Palate Craniofac J*, 2021; 58(6): 707-717.
- Bao ZT, Gu ZP, Xu JB, Zhao M, Liu GT, Wu J. Acid-responsive composite hydrogel platform with space-controllable stiffness and calcium supply for enhanced bone regeneration. *Chem Eng J*, 2020; 2: 396, 125353.
- Barros J, Ferraz MP, Azeredo J, Fernandes MH, Gomes PS, Monteiro FJ. Alginate-nanohydroxyapatite hydrogel system: optimizing the formulation for enhanced bone regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019; 105: 109985-110001.
- Baumer D, Zuhr O, Rebele S, Hurzeler M. Socket Shield Technique for immediate implant placement – Clinical, radiographic and volumetric data after 5 years. *Clin Oral Implants Res*, 2017; 28(11): 1450-1458.
- Behr B, Tang C, Germann G, Longaker MT, Quarto N. Locally applied vascular endothelial growth factor A increases the osteogenic healing capacity of human adipose-derived stem cells by promoting osteogenic and endothelial differentiation. *Stem Cells*, 2011; 29(2): 286-296.
- Bendtsen ST, Wei M. Synthesis and characterization of a novel injectable alginate–collagen–hydroxyapatite hydrogel for bone tissue regeneration. *J Mater Chem B*, 2015; 3(15): 3081-3090.
- Bertassoni LE, Cardoso JC, Manoharan V, Cristino AL, Bhise NS, Araujo WA, Zorlutuna P, Vrana NE, Ghaemmaghami AM, Dokmeci MR, Khademhosseini A. Direct-write bioprinting of cell-laden methacrylated gelatin hydrogels. *Biofabrication*, 2014; 6(2): 024105.
- Bhatt RA, Rozental TD. Bone Graft Substitutes. *Hand Clin*, 2012; 28(4): 457-468.
- Boido M, Garbossa D, Fontanella M, Ducati A, Vercelli A. Mesenchymal stem cell transplantation reduces glial cyst and improves functional outcome after spinal cord compression. *World Neurosurg*, 2014; 81(1): 183-190.
- Bostrom MPG, Seigerman DA. The Clinical Use of Allografts, Demineralized Bone Matrices, Synthetic Bone Graft Substitutes and Osteoinductive Growth Factors: A Survey Study. *HSS J*, 2005; 1(1): 9-18.
- Brugnami F, Caiazzo A. Efficacy evaluation of a new buccal bone plate preservation technique: A pilot study. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 2011; 31(1): 67-73.
- Canellas JVDS, Medeiros PJD, Figueredo C, Fischer RG, Ritto FG. Which is the best choice after tooth extraction, immediate implant placement or delayed placement with alveolar ridge preservation? A systematic review and meta-analysis. *J Craniomaxillofac Surg*, 2019; 47(11): 1793-1802.

- Canellas JVDS, Ritto FG, Figueredo CMDs, Fischer RG, de Oliveira GP, Thole AA, Medeiros PJD. Histomorphometric evaluation of different grafting materials used for alveolar ridge preservation: a systematic review and network meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2020; 49(6): 797-810.
- Canellas JVDS, Soares BN, Ritto FG, Vettore MV, Júnior GMV, Fischer RG, Medeiros PJD. A. What grafting materials produce greater alveolar ridge preservation after tooth extraction? A systematic review and network meta-analysis. *J Craniomaxillofac Surg*, 2021; 49(11): 1064-1071.
- Cao L, Su H, Si M, Xu J, Chang X, Lv J, Zhai Y. Tissue Engineering in Stomatology: A Review of Potential Approaches for Oral Disease Treatments. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021; 9: 662418.
- Casteilla L, Planat-Benard V, Laharrague P, Cousin B. Adipose-derived stromal cells: their identity and uses in clinical trials, an update. *World J Stem Cells*, 2011; 3(4): 25-33.
- Cha HS, Kim JW, Hwang JH, Ahn KM. Frequency of bone graft in implant surgery. *Maxillofac Plast Reconstr Surg*, 2016; 38(1): 19.
- Chang PC, Chang HC, Lin TC, Tai WC. Preclinical alveolar ridge preservation using small-sized particles of bone replacement graft in combination with a gelatin cryogel scaffold. *J Periodontol*, 2018; 89(10): 1221-1229.
- Chappuis V, Araújo MG, Buser D. Clinical relevance of dimensional bone and soft tissue alterations post-extraction in esthetic sites. *Periodontol 2000*, 2017; 73(1): 73-83.
- Chappuis V, Engel O, Reyes M, Shahim K, Nolte LP, Buser D. Ridge alterations post-extraction in the esthetic zone: A 3D analysis with CBCT. *J Dent Res*, 2013; 92(12 Suppl): 195S-201S.
- Cheng F, Zhang M, Wang Q, Xu H, Dong X, Gao Z, Chen J, Wei Y, Qin F. Tooth Loss and Risk of Cardiovascular Disease and Stroke: A Dose-Response Meta Analysis of Prospective Cohort Studies. *PLoS One*, 2018; 13(3): e0194563.
- Cheng H, Chabok R, Guan X, Chawla A, Li Y, Khademhosseini A, Jang HL. Synergistic interplay between the two major bone minerals, hydroxyapatite and whitlockite nanoparticles, for osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Acta biomater*, 2018; 69: 342-351.
- Chu C, Deng J, Sun X, Qu Y, Man Y. Collagen membrane and immune response in guided bone regeneration: recent progress and perspectives. *Tissue Eng Part B Rev*, 2017; 23(5): 421-435.
- Chu DT, Phuong TNT, Tien NLB, Tran DK, Thanh VV, Quang TL, Truong DT, Pham VH, Ngoc VTN, Chu-Dinh T, Kushekhar K. An Update on the Progress of Isolation, Culture, Storage, and Clinical Application of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem/Stromal Cells. *Int J Mol Sci*, 2020; 21(3): 708.
- Chuah YJ, Peck Y, Lau JEJ, Hee HT, Wang DA. Hydrogel based cartilaginous tissue regeneration: recent insights and technologies. *Biomater Sci*, 2017; 5(4): 613-631.

- Corbella S, Taschieri S, Francetti L, Weinstein R, Del Fabbro M. Histomorphometric results after postextraction socket healing with different biomaterials: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2017; 32(5): 1001-1017.
- Cui ZK, Kim S, Baljon JJ, Wu BM, Aghaloo T, Lee M. Microporous methacrylated glycol chitosan-montmorillonite nanocomposite hydrogel for bone tissue engineering. *Nat Commun*, 2019; 10(1): 3523.
- Cypher TJ, Grossman JP. Biological principles of bone graft healing. *J. Foot Ankle Surg*, 1996; 35(5): 413-417.
- Danoux CB, Barbieri D, Yuan H, De Bruijn JD, A Van Blitterswijk C, Habibovic P. In vitro and in vivo bioactivity assessment of a polylactic acid/hydroxyapatite composite for bone regeneration. *Biomater*, 2014; 4: e27664.
- Das RK, Gocheva V, Hammink R, Zouani OF, Rowan AE. Stress-stiffening-mediated stem-cell commitment switch in soft responsive hydrogels. *Nat Mater*, 2016; 15(3): 318-325.
- Davies JE, Karp JM, Baksh D. Mesenchymal cell culture: Bone. In: Atala A, Lanza R, Lanza RP editors. *Methods of Tissue Engineering*. San Diego: Academic Press; 2002; 333-344.
- De Risi V, Clementini M, Vittorini G, Mannocci A, De Sanctis M. Alveolar ridge preservation techniques: a systematic review and meta-analysis of histological and histomorphometrical data. *Clin Oral Implants Res*, 2015; 26(1): 50-68.
- De Witte T-M, Fratila-Apachitei LE, Zadpoor AA, Peppas NA. Bone tissue engineering via growth factor delivery: from scaffolds to complex matrices. *Regenerative Biomaterials*, 2018; 5(4): 197-211.
- Deicher A, Seeger T. Human Induced Pluripotent Stem Cells as a Disease Model System for Heart Failure. *Curr Heart Fail Rep*, 2021; 18 (1): 1-11.
- Demirtaş TT, Kaynak G, Gümüşderelioğlu M. Bone-like hydroxyapatite precipitated from 10×SBF-like solution by microwave irradiation. *Mat Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015; 49; 713-719.
- Deshpande S, Deshmukh J, Deshpande S, Khatri R, Deshpande S. Vertical and horizontal ridge augmentation in anterior maxilla using autograft, xenograft and titanium mesh with simultaneous placement of endosseous implants. *J Indian Soc Periodontol* 2014; 18(5): 661-665.
- Dewi AH, Ana ID. The use of hydroxyapatite bone substitute grafting for alveolar ridge preservation, sinus augmentation, and periodontal bone defect: A systematic review. *Heliyon*; 2018; 4(10), e00884.
- Dey K, Roca E, Ramorino G, Sartore L. Progress in the Mechanical Modulation of Cell Functions in Tissue Engineering. *Biomater Sci*, 2020; 8(24); 7033-7081.
- Ding J, Zhang J, Li J, Li D, Xiao C, Xiao H, Yang H, Zhuang X, Chen X. Electrospun polymer biomaterials. *Prog Poly Sci*, 2019; 90; 1-34.

- Discepoli N, Vignoletti F, Laino L, de Sanctis M, Munoz F, Sanz M. Early healing of the alveolar process after tooth ex-traction: An experimental study in the beagle dog. *J of Clin Periodontol*, 2013; 40: 638-644.
- do Desterro FdeP, Sader MS, Soares GDA, Vidigal Jr GM. 2014. Can inorganic bovine bone grafts present distinct properties? *Braz Dent J*, 2014; 25(4): 282-288.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop D, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006; 8(4): 315-317.
- Duan B, Kapetanovic E, Hockaday LA, Butcher JT. Three-dimensional printed trileaflet valve conduits using biological hydrogels and human valve interstitial cells. *Acta Biomater*, 2014; 10(5): 1836-1846.
- Dzobo K, Thomford NE, Senthebane DA, Shipanga H, Rowe A, Dandara C, Pillay M, Motaung KSCM. Advances in Regenerative Medicine and Tissue Engineering: Innovation and Transformation of Medicine. *Stem Cell Int*, 2018; 30: 2495848.
- Elsalanty ME, Genecov DG. Bone Grafts in Craniofacial Surgery. *Craniofacial Trauma Reconstr*, 2009; 2(3): 125-134.
- El-Sherbiny IM, Yacoub MH. Hydrogel scaffolds for tissue engineering: progress and challenges. *Glob Cardiol Sci Pract*, 2013; 2013(3): 316-342.
- Est-Witte SE, Farris AL, Tzeng SY, Hutton DL, Gong DH, Calabresi KG, Grayson WL, Green JJ. Non-viral Gene Delivery of HIF-1 α Promotes Angiogenesis in Human Adipose-Derived Stem Cells. *Acta Biomater*, 2020; 113: 279-288.
- Fairag R, Rosenzweig DH, Garcialuna JLR, Weber MH, Haglund L. Three-Dimensional Printed Polylactic Acid Scaffolds Promote Bone-like Matrix Deposition in Vitro. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019; 11(17): 15306-15315.
- Fang J, Chen F, Liu D, Gu F, Wang Y. Adipose Tissue-Derived Stem Cells in Breast Reconstruction: a Brief Review on Biology and Translation. *Stem Cell Res Ther*, 2021; 12 (1); 8.
- Farhat W, Chatelain F, Marret A, Faivre L, Arakelian L, Cattani P, Fuchs A. Trends in 3D Bioprinting for Esophageal Tissue Repair and Reconstruction. *Biomaterials*, 2021; 267; 120465.
- Farmer M, Darby I. Ridge dimensional changes following singletooth extraction in the aesthetic zone. *Clin Oral Implants Res*, 2014; 25(2), 272-277.
- Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt AM, Jesion G, Kleerekoper M. The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *J Bone Miner Res*, 1989; 4(1): 3-11.
- Fernandez de Grado G, Keller L, Idoux-Gillet Y, Wagner Q, Musset AM, Benkirane-Jessel N, Bornert F, Offner D. Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management. *J Tissue Eng*, 2018; Jun 4; 9: 2041731418776819.

- Flégeau K, Pace R, Gautier H, Rethore G, Guicheuex J, Le Visage C, Weiss P. Toward the development of biomimetic injectable and macroporous biohydrogels for regenerative medicine *Adv Colloid Interf Sci*, 2017; 247: 589-609.
- Fuchs JR, Nasser BA, Vacanti JP. Tissue engineering: A 21st century solution to surgical reconstruction. *Ann Thorac Surg*, 2001; 72(2): 577-591.
- Funda G, Taschieri S, Bruno GA, Grecchi E, Paolo S, Girolamo D, Del Fabbro M. Nanotechnology Scaffolds for Alveolar Bone Regeneration. *Materials*, 2020; 13(1): 201.
- Galindo-Moreno P, Padial-Molina M, Lopez-Chaichio L, Gutiérrez-Garrido L, Martín-Morales N, O'Valle F. Algae-derived hydroxyapatite behavior as bone biomaterial in comparison with anorganic bovine bone: A split-mouth clinical, radiological, and histologic randomized study in humans. *Clin Oral Implant Res*, 2020; 31: 536-548.
- Gilmartin DJ, Alexaline MM, Thrassivoulou C, Phillips ARJ, Jayasinghe SN, Becker DL. Integration of Scaffolds into Full-Thickness Skin Wounds: the Connexin Response. *Adv Healthc Mater*, 2013; 2 (8): 1151-1160.
- Gimble JM, Bunnell BA, Chiu ES, Guilak F. Concise review: Adipose-derived stromal vascular fraction cells and stem cells: let's not get lost in translation. *Stem Cells*, 2011; 29(5): 749-754.
- Goyer B, Larouche D, Kim DH, Veillette N, Pruneau V, Bernier V, Auger FA, Germain L. Immune Tolerance of Tissue-Engineered Skin Produced with Allogeneic or Xenogeneic Fibroblasts and Syngeneic Keratinocytes Grafted on Mice. *Acta Biomater*, 2019; 90: 192-204.
- Gual-Vaques P, Polis-Yanes C, Estrugo-Devesa A, Ayuso-Montero R, Mari-Roig A, Lopez Lopez J. Autogenous teeth used for bone grafting: a systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2018; 23(1): 112- 119.
- Haghighat M, Iranbakhsh A, Baharara J, Ebadi M, Sotoodehnejadnematalahi F. Effect of β -carotene on the Differentiation Potential of Ciliary Epithelium-Derived MSCs Isolated from Mouse Eyes on Alginate-Based Scaffolds. *Exp Eye Res*, 2021; 202: 108346.
- Hammerle CH, Araujo MG, Simion M. Evidence-based knowledge on the biology and treatment of extraction sockets. *Clin Oral Implants Res* 2012; 23 Suppl 5;80-82.
- Han J, Menicanin D, Gronthos S, Bartold P. Stem Cells, Tissue Engineering and Periodontal Regeneration. *Aust. Dent J*, 2014; 59 (Suppl) 1; 117-130.
- Hancock PC, Koduru SV, Sun M, Ravnic DJ. Induction of Scaffold Angiogenesis by Recipient Vasculature Precision Micropuncture. *Microvasc Res*, 2021; 134: 104121.
- Hao CP, Cao NJ, Zhu YH, Wang W. The Osseointegration and Stability of Dental Implants with Different Surface Treatments in Animal Models: a Network Meta-Analysis. *Sci Rep*, 2021;11(1): 13849.

- Hao PJ, Wang ZG, Xu QC, Xu S, Li ZR, Yang PS, Liu ZH. Effect of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell in Peri-Implant Bone Defect after Immediate Implant: an experiment Study in Beagle Dogs. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014; 7(11): 8271-8278.
- Haugen HJ, Lyngstadaas SP, Rossi F, Perale G. Bone grafts: Which is the ideal biomaterial? *J Clin Periodontol*, 2019; 46Suppl 21: 92-102.
- He Y, Chen D, Yang L, Hou Q, Ma H, Xu X. The therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells in premature ovarian failure. *Stem Cell Res Ther*, 2018; 9(1):263.
- Hejazi M, Zareshahrabadi Z, Ashayeri S, Saharkhiz MJ, Iraj A, Alishahi M, Zomorodian K. Characterization and Physical and Biological Properties of Tissue Conditioner Incorporated with Carum Copticum L. *Biomed Res Int*, 2021; Aug 12; 2021:5577760.
- Hing KA, Best SM, Tanner KE, Bonfield W, Revell PA. Mediation of bone ingrowth in porous hydroxyapatite bone graft substitutes. *J Biomed Mater Res A*, 2004; 68(1): 187-200.
- Horowitz RA, Leventis MD, Rohrer MD, Prasad HS. Bone grafting: History, rationale, and selection of materials and techniques. *Compend Contin Educ Dent*, 2014; 35(4 Suppl): 1-6.
- Horvath A, Mardas N, Mezzomo L A, Needleman I G, Donos N. Alveolar ridge preservation. A systematic review. *Clin Oral Investig*, 2013; 17(2): 341-363.
- Hou S, Wang X, Park S, Jin X, Ma PX. Rapid self-integrating, injectable hydrogel for tissue complex regeneration. *Adv Healthc Mater*, 2015; 4(10): 1491-1495.
- Huang KQ, Liu GT, Gu ZP, Wu J. Tofu as excellent scaffolds for potential bone regeneration. *Chinese Chem Lett*, 2020; 31(12): 3190- 3194.
- Hurzeler MB, Zuhr O, Schupbach P, Rebele SF, Emmanouilidis N, Fickl S. The socket-shield technique: A proof-of- principle report. *J Clin Periodontol*, 2010; 37(9), 855-862.
- Husain S, Al-Samadani KH, Najeeb S, Zafar MS, Khurshid Z, Zohaib S, Qasim SB. Chitosan Biomaterials for Current and Potential Dental Applications. *Materials*, 2017; 10(6): 602.
- Iasella JM, Greenwell H, Miller RL, Hill M, Drisko C, Bohra AA, Scheetz JP. Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: A clinical and histologic study in humans. *J Periodontol*, 2003; 74(7): 990-999.
- Ibrahim SF, Engh GVD. Flow cytometry and cell sorting. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2007; 106: 19-39.
- Iocca O, Farcomeni A, Pardinás Lopez S, Talib HS. Alveolar ridge preservation after tooth extraction: A Bayesian Network meta- analysis of grafting materials efficacy on prevention of bone height and width reduction. *J Clin Periodontol*, 2017; 44(1): 104-114.

- Iohara K, Murakami M, Takeuchi N, Osako Y, Ito M, Ishizaka R, Utunomiya S, Nakamura H, Matsushita K, Nakashima M. A Novel Combinatorial Therapy with Pulp Stem Cells and Granulocyte colony-stimulating Factor for Total Pulp Regeneration. *Stem Cell Transl Med*, 2013; 2(7): 521-533.
- Irmak G, Demirtaş TT, Gümüşderelioğlu M. Highly methacrylated gelatin bioink for bone tissue engineering. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018; 5(2): 831-845.
- Iwase H, Liu H, Wijkstrom M, Zhou H, Singh J, Hara H, Ezzelarab M, Long C, Klein E, Wagner R, Phelps C, Ayares D, Shapiro R, Humar A, Cooper DKC. Pig Kidney Graft Survival in a Baboon for 136 Days: Longest Life-Supporting Organ Graft Survival to Date. *Xenotransplantation*, 2015; 22(4): 302-309.
- Jamjoom A, Cohen RE. Grafts for ridge preservation, *J Funct Biomater*, 2015; 6(3): 833-848.
- Jebahi S, Oudadesse H, Ben Saleh G, Saoudi M, Mesadhi S, Rebai T, Keskes H, el Feki A, el Feki H. Chitosan-based bioglass composite for bone tissue healing: Oxidative stress status and antiosteoporotic performance in a ovariectomized rat model. *Korean J Chem Eng*, 2014; 31(9): 1616-1623.
- Joo JY, Son S, Lee JY. Implant site development for enhancing esthetics of soft and hard tissue and simplification of implant surgery using a forced eruption. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 2016; 36(4): 583-589.
- Jung RE, Philipp A, Annen BM, Signorelli L, Thoma DS, Hämmerle CHF, Attin T, Schmidlin P. Radiographic evaluation of different techniques for ridge preservation after tooth extraction: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2013; 40(1): 90-98.
- Kalsi AS, Kalsi JS, Bassi S. Alveolar ridge preservation: why, when and how. *Br Dent J*, 2019; 227(4): 264-274.
- Kao ST, Scott DD. A Review of Bone Substitutes. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 2007; 19(4): 513-521.
- Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*, 2005; 26(27): 5474-5491.
- Karaoz E, Aksoy A, Ayhan S, Sariboyaci AE, Kaymaz F, Kasap M. Characterization of mesenchymal stem cells from rat bone marrow: ultrastructural properties, differentiation potential and immunophenotypic markers. *Histochem Cell Biol*, 2009; 132(5): 533-546.
- Karaoz E, Kabatas S, Duruksu G, Okcu A, Subasi C, Ay B, Musluman M, Civelek E. Reduction of lesion in injured rat spinal cord and partial functional recovery of motility after bone marrow derived mesenchymal stem cell transplantation. *Turk Neurosurg*, 2012; 22(2): 207-217.
- Kattimani VS, Kondaka S, Lingamaneni KP. Hydroxyapatite-Past, Present, and Future in Bone Regeneration. *Bone Tissue Regen Insights*, 2016; 7: 36138.
- Kharkar PM, Kiick KL, Kloxin AM. Designing degradable hydrogels for orthogonal control of cell microenvironments. *Chem Soc Rev*, 2013; 42(17): 7335-7372.

- Khodakaram-Tafti A, Mehrabani D, Shaterzadeh-Yazdi H, Zamiri B, Omid M. Tissue Engineering in Maxillary Bone Defects. *World J Plast Surg*, 2018; 7(1): 3-11.
- Kim HD, Lee EA, An Y-H, Kim SL, Lee SS, Yu SJ, Jang HL, Nam KT, Im SG, Hwang NS. Chondroitin sulfate-based biomineralizing surface Hydrogels for bone tissue engineering. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017; 9(26): 21639-21650.
- Klawitter JJ, Bagwell JG, Weinstein AM, Sauer BW. An evaluation of bone growth into porous high density polyethylene. *J Biomed Mater Res*, 1976; 10(2): 311-323.
- Kolagar TA, Farzaneh M, Nikkar N, Khoshnam SE. Human Pluripotent Stem Cells in Neurodegenerative Diseases: Potentials, Advances and Limitations. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2020; 15 (2); 102-110.
- Kolk A, Handschel J, Drescher W, Rothamel D, Kloss F, Blessmann M, Heiland M, Wolff KD, Smeets R. Current trends and future perspectives of bone substitute materials-From space holders to innovative biomaterials. *J Craniomaxillofac Surg*, 2012; 40(8): 706-718.
- Kondiah PJ, Choonara YE, Kondiah PPD, Marimuthu T, Kumar P, du Toit LC, Pillay V. A review of injectable polymeric hydrogel systems for application in bone tissue engineering. *Molecules*, 2016; 21(11): 1580.
- Kozusko SD, Riccio C, Goulart M, Bumgardner J, Jing XL, Konofaos P. Chitosan as a Bone Scaffold Biomaterial. *J Craniofacial Surg*, 2018; 29(7): 1788-1793.
- Kumar P, Vinitha B, Fathima G. Bone grafts in dentistry. *J Pharm Bioallied Sci*, 2013; 5(Suppl 1): 125-127.
- Lambrichts I, Driesen RB, Dillen Y, Gervois P, Ratajczak J, Vangansewinkel T, Wolfs E, Bronckaers A, Hilkens P. Dental Pulp Stem Cells: Their Potential in Reinnervation and Angiogenesis by Using Scaffolds. *J Endod*, 2017; 43(9): 12-16.
- Langer R, Vacanti J. *Tissue Engineering Sci*, 1993; 260: (5110), 920-926.
- Lattanzi W, Pola E, Pecorini G, Logroscino CA, Robbins PD. Gene therapy for in vivo bone formation: recent advances. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2005; 9(3): 167-174.
- Lazarević JJ, Kukolj T, Bugarski D, Lazarević N, Bugarski B, Popović ZV. Probing primary mesenchymal stem cells differentiation status by micro-Raman spectroscopy. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2019; 213: 384-390.
- Lee JS, Kim SK, Cha JK, Jung BJ, Choi SB, Choi EY, Kim CS. Novel Technique for Isolating Human Bone Marrow Stem Cells Using Hyaluronic Acid Hydrogel. *Tissue Eng Part C Methods*, 2016; 22(10): 941-951.
- Lekovic V, Camargo PM, Klokkevold PR, Weinlaender M, Kenney EB, Dimitrijevic B, Nedic M. (1998). Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. *J Periodontol*, 1988; 69(9): 1044-1049.

- Lendeckel S, Jödicke A, Christophis P, Heidinger K, Wolff J, Fraser JK, Hedrick MF, Berthold L, Howaldt HP. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J Craniomaxillofac Surg*, 2004; 32(6): 370-373. Hans-Peter
- Li Y, Shan Z. Initial study on facilitating wound healing after tooth extraction by using microbial fiber membrane flagyl. *J Oral Maxillofac Surg*, 2011; 69(4): 994-1002.
- Li Y, Yang F, Gao M, Gong R, Jin M, Liu T, Sun Y, Fu Y, Huang Q, Zhang W, Liu S, Yu M, Yan G, Feng C, He M, Zhang L, Ding F, Ma W, Bi Z, Xu C, Yuan Y, Cai B, Yang L. miR-149-3p Regulates the Switch between Adipogenic and Osteogenic Differentiation of BMSCs by Targeting FTO. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019; 17: 590-600.
- Lim G, Lin GH, Monje A, Chan HL, Wang HL. Wound healing complications following guided bone regeneration for ridge augmentation: A systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2018; 33 (1): 41–50.
- Lima RL, Holanda-Afonso RC, Moura-Neto V, Bolognese AM, DosSantos MF, Souza MM. Human Dental Follicle Cells Express Embryonic, Mesenchymal and Neural Stem Cells Markers. *Arch Oral Biol*, 2017; 73: 121-128.
- Lin CH, Kudva A. Simultaneous Reconstruction of Mandibular and Maxillary Defects Using the Single Free Fibular Osseocutaneous Flap. *Ann Plast Surg*, 2021; 86(4): 428-433.
- Lindroos B, Suuronen R, Miettinen S. The potential of adipose stem cells in regenerative medicine. *Stem Cell Rev Rep*, 2011; 7(2): 269-291.
- Liu C, Su Y, Tan B, Ma P, Wu G, Li J, Geng W. Reconstruction of Attached Soft Tissue Around Dental Implants by Acellular Dermal Matrix Grafts and Resin Splint. *Int J Clin Exp Med*, 2014; 7(12): 4666-4676.
- Liu G, Guo Y, Zhang L, Wang X, Liu R, Huang P, Xiao Y, Chen Z, Chen Ze. A standardized rat burr hole defect model to study maxillofacial bone regeneration. *Acta biomater*, 2019; 86: 450-464.
- Liu M, Ishida Y, Ebina Y, Sasaki T, Hikima T, Takata M, Aida T. An anisotropic hydrogel with electrostatic repulsion between cofacially aligned nanosheets. *Nature*, 2015; 517(7532): 68-72.
- Liu X, Wang Z, Song W, Sun W, Hong R, Pothukuchi A, Xu Q. Systematically Transplanted Human Gingiva-derived Mesenchymal Stem Cells Regulate Lipid Metabolism and Inflammation in Hyperlipidemic Mice with Periodontitis. *Exp Ther Med*, 2020; 19(1): 672-682.
- Lotfy A, Salama M, Zahran F, Jones E, Badawy A, Sobh M. Characterization of mesenchymal stem cells derived from rat bone marrow and adipose tissue: a comparative study. *Int J Stem Cells*, 2014; 7(2): 135-142.
- Ma P, Dai S, Jin C, Yao Y, Zou C. Tooth Loss and Risk of Colorectal Cancer: a Dose–Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Onco Targets Ther*, 2018; 11: 1617-1623.

- MacBeth N, Trullenque-Eriksson A, Donos N, Mardas N. Hard and soft tissue changes following alveolar ridge preservation: A systematic review. *Clin Oral Implants Res*, 2017; 28(8): 982-1004.
- Madl CM, Heilshorn SC, Blau HM. Bioengineering strategies to accelerate stem cell therapeutics. *Nature*, 2018; 557(7705): 335-342.
- Mardas N, Trullenque-Eriksson A, MacBeth N, Petrie A, Donos N. Does ridge preservation following tooth extraction improve implant treatment outcomes: a systematic review: Group 4: Therapeutic concepts & methods. *Clin Oral Implants Res*, 2015; Sep; 26 Suppl 11: 180-201.
- Marrella A, Lee TY, Lee DH, Karuthedom S, Sylva D, Chawla A, Ali Khademhosseini A, Hae Lin Jang HA. Engineering vascularized and innervated bone biomaterials for improved skeletal tissue regeneration. *Mater Today*, 2018; 21(4): 362-376.
- Matassi F, Botti A, Sirleo L, Carulli C, Innocenti M. Porous metal for orthopedics implants. *Clin Cases Mineral Bone Metab*, 2013;10(2): 111-115.
- Mauffrey C, Barlow BT, Smith W. Management of segmental bone defects. *J Am Acad Orthop Surg*, 2015;23(3):143-153.
- Mayer Y, Ginesin O, Khutaba A, Machtei EE, Giladi HZ. Biocompatibility and osteoconductivity of PLCL coated and noncoated xenografts: An in vitro and preclinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2018; 20(3): 294-299.
- McPherson R, Vickers PG, Slater G.L. Bone Grafting with Coralline Hydroxyapatite. *EC Dent Sci*, 2019; 18: 2413-2423.
- Mihaila SM, Reis RL, Marques AP, Gomes ME. Hydrogels in bone tissue engineering: a multi-parametric approach. In: *GELS HANDBOOK: Fundamentals, Properties and Applications Volume 2: Applications of Hydrogels in Regenerative Medicine*. World Scientific, 2016: 165-197.
- Milinkovic I, Aleksic Z, Jankovic S, Popovic O, Bajic M, Cakic S, Lecovic V. Clinical Application of Autologous Fibroblast Cell Culture in Gingival Recession Treatment. *J Periodontal Res*, 2015; 50(3): 363-370.
- Minetti E, Corbella S, Taschieri S, Canullo L. Tooth as graft material: Histologic study. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2022; 24(4): 488-496.
- Miranda SC, Silva GA, Mendes RM, Abreu FAM, Caliri MV, Alves JB, Goes AM. Mesenchymal stem cells associated with porous chitosan–gelatin scaffold: A potential strategy for alveolar bone regeneration. *J Biomed Mater Res Part A*, 2012; 100(10): 2775-2786.
- Mironov V, Visconti RP, Kasyanov V, Forgacs G, Drake CJ, Markwald RR. Organ printing: tissue spheroids as building blocks. *Biomaterials*, 2009;30(12): 2164-2174.
- Misch CE, Dietsh F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent*, 1993; 2(3): 158-167.
- Misch CM. Autogenous Bone: Is It Still the Gold Standard? *Implant Dent*, 2010; 19(5): 361.

- Mogoşanu GD, Grumezescu AM. Natural and Synthetic Polymers for Wounds and burns Dressing. *Int J Pharm*, 2014; 463(2): 127-136.
- Mohiuddin MM, Singh AK, Corcoran PC, Hoyt RF, Thomas 3rd ML, Lewis BGT, Eckhaus M, Reimann KA, Klymiuk N, Wolf E, Ayares D, Horvath KA. One-year Heterotopic Cardiac Xenograft Survival in a Pig to Baboon Model. *Am J Transpl*, 2014; 14(2): 488-489.
- Moore WR, Graves SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg*, 2001; 71(6): 354-361.
- Morjaria KR, Wilson R, Palmer RM. Bone healing after tooth extraction with or without an intervention: A systematic review of randomized controlled trials. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2014; 16(1): 1-20.
- Morotomi T, Washio A, Kitamura C. Current and Future Options for Dental Pulp Therapy. *Jpn Dental Sci Rev*, 2019; 55(1): 5-11.
- Moy PK, Aghaloo T. Risk factors in bone augmentation procedures. *Periodontol* 2000, 2019; 81(1): 76-90.
- Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol*, 2014; 32(8): 773-785.
- Nakajima Y, Fiorellini JP, Kim DM, Weber HP. Regeneration of standardized mandibular bone defects using expanded polytetrafluoroethylene membrane and various bone fillers. *Int J Periodontics Restor Dent*, 2007; 27(2): 151-159.
- Nancarrow-Lei R, Mafi P, Mafi R, Khan W. A Systemic Review of Adult Mesenchymal Stem Cell Sources and Their Multilineage Differentiation Potential Relevant to Musculoskeletal Tissue Repair and Regeneration. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2017; 12(8): 601-610.
- Nguyen KT, West JL. Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 2002; 23(22): 4307-4314.
- Nibali L, Koidou V, Salamone S, Hamborg T, Allaker R, Ezra R, Zou L, Tsakos G, Gkraniias N, Donos N. Minimally invasive non-surgical vs. surgical approach for periodontal intrabony defects: a randomised controlled trial. *Trails*, 2019; 20(1): 461.
- Nichol JW, Koshy ST, Bae H, Hwang CM, Yamanlar S, Khademhosseini A. Cell-laden microengineered gelatin methacrylate hydrogels. *Biomaterials*, 2010; 31(21): 5536-5544.
- Nie L, Deng Y, Li P, Hou R, Shavandi A, Yang S. Hydroxyethyl Chitosan-Reinforced Polyvinyl Alcohol/Biphasic Calcium Phosphate Hydrogels for Bone Regeneration. *ACS Omega*, 2020; 5(19): 10948-10957.
- Niu H, Li C, Guan Y, Dang Y, Li X, Fan Z, Shen J, Ma L, Guan, J. High oxygen preservation hydrogels to augment cell survival under hypoxic condition. *Acta biomater*, 2020; 105: 56-67.
- Noh K, Thoma DS, Park JC, Lee DW, Shin SY, Lim, HC. A Case Series of Profilometric Changes in Two Implant Placement Protocols at Periodontally Compromised Non-molar Sites. *Sci Rep*, 2021; 11(1): 1714.

- Olde Damink LHH, Dijkstra PJ, Van Luyn MJA, Van Wachem PB, Nieuwenhuis P, Feijen J. Glutaraldehyde as a Cross-Linking Agent for Collagen-Based Biomaterials. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 1995; 6(8): 460-472.
- Oliveira G, Pignaton TB, de Almeida Ferreira CE, Peruzzo LC, Marcantonio E, Jr. New bone formation comparison in sinuses grafted with anorganic bovine bone and β -TCP. *Clin Oral Implants Res*, 2019; 30: 483.
- Omorphos NP, Gao C, Tan SS, Sangha MS. Understanding Angiogenesis and the Role of Angiogenic Growth Factors in the Vascularisation of Engineered Tissues. *Mol Biol Rep*, 2021; 48(1): 941–950.
- Oryan A, Alidadi S, Moshiri A, Maffulli N. Bone regenerative medicine: Classic options, novel strategies, and future directions. *J Orthop Surg Res*, 2014; 9(1): 18.
- Ower P. Minimally-invasive non-surgical periodontal therapy. *Dent Update*, 2013; 40(4): 289-290.
- Ozbolat IT. Bioprinting scale-up tissue and organ constructs for transplantation. *Trends Biotechnol*, 2015; 33(7): 395-400.
- Özkan Y, Akoğlu B, Kulak Özkan Y. Maxillary Sinus Floor Augmentation Using Bovine Bone Grafts With Simultaneous Implant Placement: A 5-Year Prospective Follow-Up Study. *Implant Dent*, 2011; 20(6): 455-459.
- Pan Y, Zhao Y, Kuang R, Liu H, Sun D, Mao T, Jiang K, Yang X, Watanabe N, Mayo KH, Lin Q, Li J. Injectable hydrogel-loaded nano-hydroxyapatite that improves bone regeneration and alveolar ridge promotion. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020; 116, 111158.
- Panduawala CP, Zhan X, Dissanayaka WL, Samaranayake LP, Jin L, Zhang C. In Vivo periodontal Tissue Regeneration by Periodontal Ligament Stem Cells and Endothelial Cells in Three-Dimensional Cell Sheet Constructs. *J Periodontal Res*, 2017; 52(3): 408-418.
- Pardal-Peláez B, Flores-Fraile J, Pardal-Refoyo JL, Montero J. Implant Loss and Crestal Bone Loss in Immediate versus Delayed Load in Edentulous Mandibles: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Prosthet Dent*, 2021; 125(3): 437-444.
- Peltola SM, Melchels FPW, Grijpma DW, Kellomäki M. A review of rapid prototyping techniques for tissue engineering purposes. *Ann Med*, 2008; 40(4): 268-280.
- Peng J, Chen L, Peng K, Chen X, Wu J, He Z, Xiang Z. Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Endothelial Progenitor Cells Co-Culture Enhances Large Segment Bone Defect Repair. *J Biomed Nanotechnol*, 2019; 15(4): 742-755.
- Peroni D, Scambi I, Pasini A, Lisi V, Bifari F, Krampera M, Rigotti G, Sbarbati A, Galiè M. Stem molecular signature of adipose-derived stromal cells. *Exp Cell Res*, 2008; 314(3): 603-615.
- Pikos MA. Block autografts for localized ridge augmentation: Part II. The posterior mandible. *Implant Dent*, 2000; 9(1): 67-75.

- Pilipchuk SP, Plonka AB, Monje A, Taut AD, Lanis A, Kang B, Giannobile WV. Tissue engineering for bone regeneration and osseointegration in the oral cavity. *Dent Mater*, 2015; 31(4): 317-338.
- Pommer B, Zechner W, Watzek G, Palmer R. To Graft or Not to Graft? Evidence-Based Guide to Decision Making in Oral Bone Graft Surgery. *Bone Grafting*, 2012; 1-25.
- Qi C, Deng Y, Xu L, Yang C, Zhu Y, Wang G, Wang Z, Wang L. A sericin/graphene oxide composite scaffold as a biomimetic extracellular matrix for structural and functional repair of calvarial bone. *Theranostics*, 2020; 10(2): 741-756.
- Rai R, Raval R, Khandeparker RV, Chidrawar SK, Khan AA, Ganpat MS. Tissue Engineering: Step Ahead in Maxillofacial Reconstruction. *J. Int. Oral Health*, 2015; 7(9): 138-142.
- Ran J, Jiang P, Liu S, Sun G, Yan P, Shen X, Tong H. Constructing multi-component organic/inorganic composite bacterial cellulose-gelatin/hydroxyapatite double-network scaffold platform for stem cell-mediated bone tissue engineering. *Materials Sci Eng*, 2017; 78: 130-140.
- Rasperini G, Pilipchuk SP, Flanagan CL, Park CH, Pagni G, Hollister SJ, et al. (2015). 3D-printed Bioresorbable Scaffold for Periodontal Repair. *J Dent Res*, 2015; 94(9 Suppl): 153-157.
- Ratnayake JTB, Mucalo M, Dias GJ. Substituted hydroxyapatites for bone regeneration: A review of current trends. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*, 2017; 105(5): 1285-1299.
- Ratnayake JTB, Ross ED, Dias GJ, Shanafelt KM, Taylor SS, Gould ML, Guan G, Cathro PR. Preparation, characterisation and in-vitro biocompatibility study of a bone graft developed from waste bovine teeth for bone regeneration. *Mater Today Commun*, 2020; 22: 100732.
- Redondo LM, García V, Peral B, Verrier A, Becerra J, Sánchez A, García-Sancho J. Repair of Maxillary Cystic Bone Defects with Mesenchymal Stem Cells Seeded on a Cross-Linked Serum Scaffold. *J. Craniomaxillofac Surg*, 2018; 46(2): 222-229.
- Ren B, Chen X, Du S, Ma Y, Chen H, Yuan G, Li L, Xiong D, Tan H, Ling Z, Chen Y, Hu X, Niu X. Injectable polysaccharide hydrogel embedded with hydroxyapatite and calcium carbonate for drug delivery and bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*, 2018; 118(Pt A): 1257-1266.
- Ribeiro M, Fernandes MH, Beppu MM, Monteiro FJ, Ferraz MP. Silk fibroin/nanohydroxyapatite hydrogels for promoted bioactivity and osteoblastic proliferation and differentiation of human bone marrow stromal cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2018; 89: 336-345.
- Roberts TT, Rosenbaum AJ. Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics: The bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing. *Organogenesis*, 2012; 8(4): 114-124.
- Rogers GF, Greene AK. Autogenous bone graft: basic science and clinical implications. *J Craniofacial Surg*, 2012; 23(1): 323-327.

- Sadat-Shojai M, Khorasani M-T, Jamshidi A. 3-Dimensional cell-laden nano-hydroxyapatite/protein hydrogels for bone regeneration applications. *Materials Sci Eng*, 2015; 49: 835-843.
- Saekhor K, Udomsinprasert W, Honsawek S, Tachaboonyakiat W. Preparation of an injectable modified chitosan-based hydrogel approaching for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*, 2019; 123: 167-173.
- Saini M, Singh Y, Arora P, Arora V, Jain K. Implant biomaterials: a comprehensive review. *World J Clin Cases*, 2015; 3(1): 52-57.
- Sakamoto M. Development and evaluation of superporous hydroxyapatite ceramics with triple pore structure as bone tissue scaffold. *J Ceram Soc Jpn*, 2010; 118(1380): 753-757.
- Sakkas A, Wilde F, Heufelder M, Winter K, Schramm A. Autogenous bone grafts in oral implantology—is it still a “gold standard”? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures. *Int j Implant Dentistry*, 2017; 3(1): 23.
- Salama H, Salama M. The role of orthodontic extrusive remodeling in the enhancement of soft and hard tissue profiles before implant placement: a systematic approach to the management of extraction site defects. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 1993; 13(4): 312-333.
- Salama M, Ishikawa T, Salama H, Funato A, Garber D. Advantages of the root submergence technique for pontic site development in esthetic implant therapy. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 2007; 27(6): 521-527.
- Sallent I, Capella-Monsonís H, Procter P, Bozo IY, Deev RV, Zubov D, Vasyliov R, Perale G, Pertici G, Baker J, Gingras P, Bayon Y, Zeugolis DI. The Few Who Made It: Commercially and Clinically Successful Innovative Bone Grafts. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020; 8: 952.
- Sandor GK, Tuovinen VJ, Wolff J, Patrikoski M, Jokinen J, Nieminen E, Mannerström B, Lappalainen OP, Seppänen R, Miettinen S. Adipose stem cell tissue-engineered construct used to treat large anterior mandibular defect: a case report and review of the clinical application of good manufacturing practice-level adipose stem cells for bone regeneration. *J Oral Maxillofac Surg*, 2013; 71(5): 938-950.
- Sanz M, Vignoletti F. Key aspects on the use of bone substitutes for bone regeneration of edentulous ridges. *Dent. Mater*, 2015; 31(6): 640-647.
- Saulnier N, Puglisi MA, Lattanzi W, Castellini L, Pani G, Leone G, Alfieri S, Michetti F, Piscaglia AC, Gasbarrini A. Gene profiling of bone marrow- and adipose tissue-derived stromal cells: a key role of Kruppel-like factor 4 in cell fate regulation. *Cytotherapy*, 2011; 13(3): 329-340.
- Schlund M, Nicot R, Depeyre A, Alkasbi J, Ferri J. Reconstruction of a Large Posttraumatic Mandibular Defect Using Bone Tissue Engineering with Fresh-Frozen Humeral Allograft Seeded with Autologous Bone Marrow Aspirate and Vascularized with a Radial Forearm Flap. *J Craniofac Surg*, 2019; 30(7): 2085-2087.

- Schuurman W, Levett PA, Pot MW, van Weeren PR, Dhert WJA, Hutmacher DW, Melchels FPW, Klein TJ, Malda J. Gelatin-Methacrylamide Hydrogels as Potential Biomaterials for Fabrication of Tissue-Engineered Cartilage Constructs. *Macromol Biosci*, 2013; 13(5): 551-561.
- Shahnaseri S, Sheikhi M, Hashemibeni B, Mousavi SA, Soltani P. Comparison of Autogenous Bone Graft and Tissue-Engineered Bone Graft in Alveolar Cleft Defects in Canine Animal Models Using Digital Radiography. *Indian J Dent Res*, 2020; 31(1): 118-123.
- Shang F, Yu Y, Liu S, Ming L, Zhang Y, Zhou Z, Zhou J, Jin Y. Advancing Application of Mesenchymal Stem Cell-Based Bone Tissue Regeneration. *Bioactive Mater*, 2021; 6 (3): 666-683.
- Shavandi A, Bekhit AEDA, Sun Z, Ali MA. Injectable gel from squid pen chitosan for bone tissue engineering applications. *J Sol Gel Sci Technol*, 2016; 77(3): 675-687.
- Shavandi A, Wilton V, Bekhit AEDA. Synthesis of macro and micro porous hydroxyapatite (HA) structure from waste kina (*Evechinus chloroticus*) shells. *J Taiwan Inst Chem Eng*, 2016; 65: 437-443.
- Sheikh Z, Hamdan N, Abdallah MN, Glogauer M, Grynpas M. Natural and synthetic bone replacement graft materials for dental and maxillofacial applications. *Adv Dent Biomater*, 2019; 347-376.
- Shen Z, Tsao H, LaRue S, Liu R, Kirkpatrick TC, de Souza LC, Letra A, Silva RM. Vascular Endothelial Growth Factor And/or Nerve Growth Factor Treatment Induces Expression of Dentinogenic, Neuronal, and Healing Markers in Stem Cells of the Apical Papilla. *J Endod*, 2021; 47(6): 924-931.
- Shi Z, Zhong Q, Chen Y, Gao J, Pan X, Lian Q, Chen R, Wang P, Wang J, Shi Z, Cheng H. Nanohydroxyapatite, Nanosilicate-Reinforced Injectable, and Biomimetic Gelatin-Methacryloyl Hydrogel for Bone Tissue Engineering. *Int J Nanomedicine*, 2021; Aug 16;16: 5603-5619.
- Siddiqui JA, Partridge NC. Physiological bone remodeling: systemic regulation and growth factor involvement. *Physiology (Bethesda)*, 2016; 31(3): 233-245.
- Simion M, Rocchietta I, Fontana F, Dellavia C. Evaluation of a Resorbable Collagen Matrix Infused with rhPDGF-BB in Peri-Implant Soft Tissue Augmentation: a Preliminary Report with 3.5 Years of Observation. *Int. J. Periodontics Restorative Dent*, 2012; 32(3): 273-282.
- Simske SJ, Ayers RA, Bateman TA. Porous materials for bone engineering. *Mater Sci Forum*, 1997; 250: 151-182.
- Skardal A, Zhang J, McCoard L, Xu X, Oottamasathien S, Prestwich GD. Photocrosslinkable Hyaluronan-Gelatin Hydrogels for Two-Step Bioprinting. *Tissue Eng Part A*, 2010; 16(8): 2675-2685.
- Smiler D, Soltan M, Lee JW. A histomorphogenic analysis of bone grafts augmented with adult stem cells. *Implant Dent*, 2007; 16(1): 42-53.

- Smith EE, Zhang W, Schiele NR, Khademhosseini A, Kuo CK, Yelick PC. Developing a Biomimetic Tooth Bud Model. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017; 11(12): 3326-3336.
- Stavropoulos A, Windisch P, Szendrői-Kiss D, Peter R, Gera I, Sculean A. Clinical and histologic evaluation of granular beta-tricalcium phosphate for the treatment of human intrabony periodontal defects: A Report on Five Cases. *J Periodontol*, 2010; 81(2): 325-334.
- Sudhakar K, Mohanty R, Singh V. Evaluation of donor site morbidity associated with iliac crest bone harvest in oral and maxillofacial, reconstructive surgery. *J Clin Diagnostic Res*, 2017; 11(6): ZC28- ZC33.
- Sugimura-Wakayama Y, Katagiri W, Osugi M, Kawai T, Ogata K, Sakaguchi K, Hibi H. Peripheral Nerve Regeneration by Secretomes of Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth. *Stem Cells Dev*, 2015; 24(22): 2687-2699.
- Suhito IR, Han Y, Min J, Son H, Kim TH. In situ label-free monitoring of human adipose-derived mesenchymal stem cell differentiation into multiple lineages. *Biomaterials*, 2018; 154: 223-233.
- Sun X, Liu C, Shi Y, Li C, Sun L, Hou L, Wang X. The Assessment of Xenogeneic Bone Immunotoxicity and Risk Management Study. *Biomed Eng Online*, 2019; 18(1): 108.
- Suneelkumar C, Datta K, Srinivasan MR, Kumar ST. Biphasic calcium phosphate in periapical surgery. *J Conserv Dent*, 2008; 11: 92-96.
- Tamimi F, Sheikh Z, Barralet J. Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite. *Acta Biomater*, 2012; 8(2): 474-487.
- Tan WL, Wong TL, Wong MC, Lang NP. A systematic review of post-extraction alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *J Clin Oral Implants Res*, 2012; 23(Suppl 5): 1-21.
- Tarnow DP, Eskow RN. Preservation of implant esthetics: soft tissue and restorative considerations. *J Esthet Dent*, 1996; 8(1): 12-19.
- Thein-Han W, Xu HHK. Collagen-calcium Phosphate Cement Scaffolds Seeded with Umbilical Cord Stem Cells for Bone Tissue Engineering. *Tissue Eng Part A*, 2011; 17(23-24): 2943-2954.
- Trappmann B, Gautrot JE, Connelly JT, Strange DGT, Li Y, Oyen ML, Stuart MAC, Boehm H, Li B, Vogel V, Spatz JP, Watt FM, Huck WTS. Extracellular-matrix tethering regulates stem-cell fate. *Nat Mater*, 2012; 11(7): 642-649.
- Troiano G, Zhurakivska K, Lo Muzio L, Laino L, Cicciù M, Lo Russo L. Combination of bone graft and resorbable membrane for alveolar ridge preservation: a systematic review, meta-analysis, and trial sequential analysis. *J. Periodontol*, 2018; 89(1): 46-57.
- Trombelli L, Farina R, Marzola A, Bozzi L, Liljenberg B, Lindhe J. Modeling and remodeling of human extraction sockets. *J Clin Periodontol*, 2008; 35(7): 630-639.

- Tsou YH, Khoneisser J, Huang PC, Xu X. Hydrogel as a bioactive material to regulate stem cell fate. *Bioact Mater*, 2016; 1(1): 39-55.
- Turhani D, Weissenböck M, Watzinger E, Yerit K, Cvikl B, Ewers R, Thurnher D. In vitro study of adherent mandibular osteoblast-like cells on carrier materials. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2005; 34(5): 543-550.
- Van Der Weijden F, Dell'Acqua F, Slot DE. Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: a systematic review. *J Clin Periodontol*, 2009; 36(12):1048-1058.
- Vidal L, Brennan MÁ, Krissian S, De Lima J, Hoornaert A, Rosset P, Fellah BH, Layrolle P. In Situ production of Pre-vascularized Synthetic Bone Grafts for Regenerating Critical-Sized Defects in Rabbits. *Acta Biomater*, 2020; 114: 384-394.
- Vignoletti F, Matesanz P, Rodrigo D, Figuero E, Martin C, Sanz M. Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. *Clin Oral Implants Res*, 2012; 23(Suppl 5): 22-38.
- Vittorini Orgeas G, Clementini M, De Risi V, de Sanctis M. Surgical techniques for alveolar socket preservation: A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2013; 28(4): 1049-1061.
- Vo TN, Ekenseair AK, Spicer PP, Watson BM, Tzouanas SN, Roh TT, Mikos AG. In vitro and in vivo evaluation of self-mineralization and biocompatibility of injectable, dual-gelling hydrogels for bone tissue engineering. *J Controlled Release*, 2015; 205: 25-34.
- Vo TN, Shah SR, Lu S, Tatara AM, Lee EJ, Roh TT, Tabata Y, Mikos AG. Injectable dual-gelling cell-laden composite hydrogels for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2016; 83: 1-11.
- Wang CZ, Chen SM, Chen CH, Wang CK, Wang GJ, Chang JK, Ho ML. The effect of the local delivery of alendronate on human adipose-derived stem cell-based bone regeneration. *Biomaterials*, 2010; 31(33): 8674-8683.
- Wang F, Wu Z, Fan Z, Wu T, Wang J, Zhang C, Wang S. The Cell Re-association-based Whole-Tooth Regeneration Strategies in Large Animal, *Sus scrofa*. *Cell Prolif*, 2018; 51(4); e12479.
- Wang H, Leeuwenburgh SC, Li Y, Jansen JA. The Use of micro- and nanospheres as functional components for bone tissue regeneration. *Tissue Eng Part B Rev*, 2012; 18(1): 24-39.
- Wang Q, Mynar JL, Yoshida M, Lee E, Lee M, Okuro K, Kinbara K, Aida T. High-water-content mouldable hydrogels by mixing clay and a dendritic molecular binder. *Nature*, 2010; 463(7279): 339-343.
- Wang W, Yeung KW. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: a review. *Bioact Mater*, 2017; 2(4): 224-247.
- Wanschitz F, Nell A, Patruta S, Wagner A, Ewers R. Influence of three currently used bone replacing materials on the in vitro proliferation of human peripheral blood mononuclear cells. *Clin Oral Implants Res*, 2005; 16(5): 570-574.

- Wasupalli GK, Verma D. Injectable and thermosensitive nanofibrous hydrogel for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020; 107: 110343.
- Wattanuchariya W, Changkowchai W. Characterization of porous scaffold from chitosan-gelatin/hydroxyapatite for bone grafting. In *Proceedings of the International Multiconference of Engineers and Computer Scientists*, Hong Kong, China, (Vol. 2, pp. 12-14) March 2014.
- Wüst S, Müller RJ, Hofmann S. Controlled positioning of cells in biomaterials-approaches towards 3D tissue printing. *J Funct Biomater*, 2011;2(3): 119-154.
- Xavier JR, Thakur T, Desai P, Jaiswal MK, Sears N, Cosgriff-Hernandez E, Kaunas R, Gaharwar AK. Bioactive nanoengineered hydrogels for bone tissue engineering: a growth-factor-free approach. *ACS Nano*, 2015; 9(3): 3109-3118.
- Xie X, Hu K, Fang D, Shang L, Tran SD, Cerruti M. Graphene and hydroxyapatite self-assemble into homogeneous, free standing nanocomposite hydrogels for bone tissue engineering. *Nanoscale*, 2015; 7(17): 7992-8002.
- Xu HHK, Simon Jr CG. Fast setting calcium phosphate–chitosan scaffold: Mechanical properties and biocompatibility. *Biomaterials*, 2005; 26(12): 1337-1348.
- Xu M, Li J, Liu X, Long S, Shen Y, Li Q, Ren L, Ma D. Fabrication of Vascularized and Scaffold-free Bone Tissue Using Endothelial and Osteogenic Cells Differentiated from Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Cell*, 2019; 61: 21-29.
- Xu P, Xin Y, Zhang Z, Zou X, Xue K, Zhang H, Zhang W, Liu K. Extracellular Vesicles from Adipose-Derived Stem Cells Ameliorate Ultraviolet B-Induced Skin Photoaging by Attenuating Reactive Oxygen Species Production and Inflammation. *Stem Cell Res Ther*, 2020; 11(1): 264.
- Yan J, Li J, Runge MB, Dadsetan M, Chen Q, Lu L, Yaszemski MJ. Cross-linking Characteristics and Mechanical Properties of an Injectable Biomaterial Composed of Polypropylene Fumarate and Polycaprolactone Co-polymer. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2011; 22(4-6): 489-504.
- Yang T, Xie P, Zhenzhen Wu Z, Liao Y, Chen W, Hao Z, Wang Y, Zhu Z, Teng W. The Injectable Woven Bone-Like Hydrogel to Perform Alveolar Ridge Preservation With Adapted Remodeling Performance After Tooth Extraction. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020; 8: 119.
- Yi H, Ur Rehman F, Zhao C, Liu B, He N. Recent advances in nano scaffolds for bone repair, *Bone Res*, 2016; 4: 16050.
- Yu X, Tang X, Gohil SV, Laurencin CT. Biomaterials for bone regenerative engineering. *Adv Healthc Mater*, 2015; 4(9): 1268-1285.
- Yuan Y, Chai Y. Regulatory Mechanisms of Jaw Bone and Tooth Development. *Curr Top Dev Biol*, 2019; 133: 91-118.
- Yue K, Trujillo-de Santiago G, Alvarez MM, Tamayol A, Annabi N, Khademhosseini A. Synthesis, properties, and biomedical applications of gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels. *Biomaterials*, 2015; 73: 254-271.

- Yun JH, Han SH, Choi SH, Lee MH, Lee SJ, Song SU, Oh N. Effects of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells and Platelet-Rich Plasma on Bone Regeneration for Osseointegration of Dental Implants: Preliminary Study in Canine Three-wall Intrabony Defects. *J Biomed Mater Res*, 2014; 102(5): 1021-1030.
- Zhang L, Tang J, Sun L, Zheng T, Pu X, Chen Y, Yang K. Three-dimensional Printed Tissue Engineered Bone for Canine Mandibular Defects. *Genes Dis*, 2020; 7(1): 138-149.
- Zhao R, Yang R, Cooper PR, Khurshid Z, Shavandi A, Ratnayake J. Bone grafts and substitutes in dentistry: A review of current trends and developments. *Molecules*, 2021; 26(10): 3007.
- Zhao W, Li J, Jin K, Liu W, Qiu X, Li C. Fabrication of Functional PLGA-Based Electrospun Scaffolds and Their Applications in Biomedical Engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016; 59: 1181-1194.
- Zhu Z, Yuan ZQ, Huang C, Jin R, Sun D, Yang J, Luo XS. Pre-culture of Adipose-Derived Stem Cells and Heterologous Acellular Dermal Matrix: Paracrine Functions Promote post-implantation Neovascularization and Attenuate Inflammatory Response. *Biomed Mater*, 2019; 14(3): 035002.
- Zuhr O, Rebele SF, Cheung SL, Hürzeler MB. Surgery without papilla incision: tunneling flap procedures in plastic periodontal and implant surgery. *Periodontol 2000*, 2018; 77(1): 123-149.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Ömer ÜLKER
Uyruğu : Türkiye (TC)

EĞİTİM

DERECE

KURUM

MEZUNİYET

Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi (Kök Hücre Bilimleri Anabilim Dalı)	2022
Uzmanlık	Erciyes Üniversitesi (Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı)	2017
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi (Diş Hekimliği)	2012
Lise	Melikgazi Mustafa Eminoğlu Lisesi	2006

İŞ DENEYİMLERİ

YIL

KURUM

GÖREV

2019-Halen	Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	Akademisyen
------------	---	-------------

YABANCI DİL:

İngilizce

İNTİHAL RAPORU

İN-SİTU ENJEKTE EDİLEBİLİR METAKRİLATLANMIŞ JELATİN (Gel-MA)- NANOHİDROKSİAPATİT (nHAp) VE MEZENKİMAL KÖK HÜCRE (MSCs) SİSTEMLERİNİN KEMİK VE YUMUŞAK DOKU REKONSTRÜKSİYONUNUN İN-VİVO DİŞ ÇEKİM SOKETİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 11	% 11	% 3	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr	%2
İnternet Kaynağı		
2	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080	%2
İnternet Kaynağı		
3	katalog.hacettepe.edu.tr	%2
İnternet Kaynağı		
4	dent.erciyes.edu.tr	%1
İnternet Kaynağı		
5	avesis.erciyes.edu.tr	%1
İnternet Kaynağı		
6	www.sigmaaldrich.com	<%1
İnternet Kaynağı		
7	bultenler.ankara.edu.tr	<%1
İnternet Kaynağı		
8	isfaw2018.isfaw.org	<%1
İnternet Kaynağı		