

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANA BİLİM DALI



YÖNLENDİRİLMİŞ KEMİK REJENERASYONUNDA
BİYOBOZUNUR POLİKAPROLAKTON VE POLİGLİKOLİK
ASİT TABAKALARINDAN OLUŞAN MEMBRANIN
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ UZMANLIK TEZİ

BATUHAN AYDIN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Serkan POLAT

BOLU, EKİM 2025

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
Tez Onay Belgesi

Tezin Başlığı : YÖNLENDİRİLMİŞ KEMİK REJENERASYONUNDA
BİYOBÖZÜNÜR POLİKAPROLAKTON VE POLİGLİKOLİK ASİT
TABAKALARINDAN OLUŞAN MEMBRANIN ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Tezin Savunma Tarihi : 09.10.2025

Tezin Danışmanı : Prof. Dr. Serkan POLAT

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Serkan POLAT

Üye : Doç. Dr. Kevser SANCAK

Üye : Doç. Dr. Sadi MEMİŞ

DEKANLIK ONAYI

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ali KELEŞ

DEKAN

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Tez Yazım Kılavuzu ve Şablonuna uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında fakülte dekanlığınca belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulundan 02.10.2024 tarihli 2024/20 etik izin alınmıştır.

BATUHAN AYDIN

ÖZET

YÖNLENDİRİLMİŞ KEMİK REJENERASYONUNDA BİYOBOZUNUR POLİKAPROLAKTON VE POLİGLİKOLİK ASİT TABAKALARINDAN OLUŞAN MEMBRANIN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK PROGRAMI

BATUHAN AYDIN

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ UZMANLIK PROGRAMI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SERKAN POLAT)

BOLU, EKİM - 2025

XV + 123 sayfa

Giriş: Kemik defektlerinin rejenerasyonu tedavi süreçlerinde zorluk teşkil etmektedir. Kemik rejenerasyonu amacıyla çeşitli tedavi yöntemleri tanımlanmış ve etkinlikleri araştırılmıştır. Bu çalışmada, biyobozunur polikaprolakton (PCL) ve poliglikolik asit (PGA) tabakalarından oluşan membranın yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu ile yeni kemik oluşumu üzerindeki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Materyal ve Yöntem: Çalışmada 12 adet Wistar rat kullanıldı. Ratların paryetal kemiklerinde bilateral oluşturulan standart 24 defekt alanı 4 gruba eşit sayıda ve randomize bir şekilde dağıtıldı. Her bir ratın paryetal kemik defekti alanlarına, 3 boyutlu (3B) yazıcı ile üretilen PCL membranlar ve 3B üretilen PCL membranın iç yüzeyinin PGA kaplanmasıyla elde edilen membranlar randomize bir şekilde yerleştirildi. Kontrol grubundaki defektlerde PCL membran kullanıldı. 1. gruptaki defektlerde PCL+PGA membran, insan kaynaklı dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti, at kaynaklı ksenograft ve otolog kan ile kullanıldı. 2. gruptaki defektlerde PCL+PGA membran otolog kan ile kullanıldı. 3. gruptaki defektlerde PCL membran otolog kan ile kullanıldı. Hayvanların yarısına 4 hafta sonra diğer yarısına 8 hafta sonra sakrifikasyon işlemi uygulandı. Histopatolojik incelemeleri ve stereolojik analizleri yapıldı.

Bulgular: Stereolojik incelemelerin sonucunda PCL+PGA membran kullanılan 2. gruptaki yeni kemik miktarı 4. haftada tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulundu ($p<0,001$). Toplam doku miktarı açısından değerlendirildiğinde ise 4. haftada 2. grup tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulundu ($p<0,001$). Sekizinci haftada yeni kemik miktarı açısından karşılaştırıldığında 2. grup, 1. ve 3. gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulunurken ($p<0,001$) kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Sonuç: Bu çalışma kapsamında yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda, PCL'nin PGA ile kaplanmasıyla oluşan membran kombinasyonunun kemik rejenerasyonunun erken döneminde yeni kemik oluşumunu artırdığı bulundu.

ANAHTAR KELİMELELER: Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu, Polikaprolakton, Poliglikolik asit, Biyobozunur membran, Stereoloji

ABSTRACT

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF THE MEMBRANE COMPOSED OF BIODEGRADABLE POLYCAPROLACTONE AND POLYGLYCOLIC ACID LAYERS IN GUIDED BONE REGENERATION SPECIALIZATION THESIS

BATUHAN AYDIN

BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY

FACULTY OF DENTISTRY

DEPARTMENT OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY

(SUPERVISOR: PROF. DR. SERKAN POLAT)

BOLU, OCTOBER 2025

XV + 123 pages

Introduction: Regeneration of bone defects remains a challenge in the treatment process. Various treatment methods for bone regeneration have been identified and their effectiveness investigated. This study aims to evaluate the effectiveness of a membrane composed of biodegradable polycaprolactone (PCL) and polyglycolic acid (PGA) layers on guided bone regeneration (GBR) and its impact on new bone formation.

Materials and Methods: 12 Wistar rats were used in the study. 24 standard bilateral defect areas created on the parietal bones of the rats were equally and randomly distributed into four groups. 3 dimensional (3D) printed PCL membranes and membranes obtained by coating PGA to the inner surface of the 3D printed PCL membrane were randomly placed in the parietal bone defect areas of each rat. PCL membranes were used in the defects in the control group. In the defects in group 1, PCL+PGA membranes were used with human-derived freeze-dried bone graft, equine xenograft and autologous blood. In the defects in group 2, PCL+PGA membranes were used with autologous blood. In the defects in group 3, PCL membranes were used with autologous blood. Half of the animals were sacrificed after 4 weeks, and the other half after 8 weeks. Histopathological examinations and stereological analyses were performed.

Results: As a result of stereological analyses, the new bone and total tissue volume in group 2 (PCL+PGA membrane) at 4 weeks was significantly higher than in all other groups ($p<0.001$). At week 4, the total tissue volume in group 2 was statistically significantly higher than that of all other groups ($p<0,001$). At week 8, new bone volume in group 2 was significantly higher than in groups 1 and 3 ($p<0.001$), whereas no statistically significant difference was observed between group 2 and the control group ($p>0.05$).

Conclusion: In guided bone regeneration, the membrane combination formed by coating PCL with PGA was found to increase new bone formation in the early period of bone regeneration.

KEYWORDS: Guided bone regeneration, Polycaprolactone, Polyglycolic acid, Biodegradable membrane, Stereology

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ	ix
FOTOĞRAF LİSTESİ	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xiii
TEŞEKKÜR	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Genel Bilgilendirme.....	6
1.1.1 Kemik Yapısı.....	6
1.1.1.1 Kemik Dokusunun Makro Morfolojisi	7
1.1.1.1.1 Kortikal Kemik	8
1.1.1.1.2 Trabeküler Kemik	10
1.1.1.2 Kemik Zarları	10
1.1.1.2.1 Periosteum	10
1.1.1.2.2 Endosteum	11
1.1.1.3 Kemik Dokusunun Mikroyapısal Organizasyonu.....	11
1.1.1.3.1 Primer Kemik (Woven Kemik).....	12
1.1.1.3.2 Sekonder Kemik (Lamellar Kemik)	12
1.1.1.4 Kemik Kimyasal Bileşimi ve Matriks Yapısı	12
1.1.1.4.1 Organik Kemik Matriksi	14
1.1.1.4.2 İnorganik Kemik Matriksi	15
1.1.1.4.3 Su	15
1.1.1.5 Kemik Hücreleri.....	15
1.1.1.5.1 Osteoprogenitör Hücreler	16
1.1.1.5.2 Osteoblastlar	16
1.1.1.5.3 Osteoklastlar	17
1.1.1.5.4 Osteositler	18
1.1.1.5.5 Kemik Yüzey Hücreleri	19
1.1.1.6 Kemik Oluşum Mekanizmaları (Osteogenez, Ossifikasyon)....	19
1.1.1.6.1 İntramembranöz Kemikleşme.....	19
1.1.1.6.2 Endokondral Kemikleşme.....	20

1.1.1.7	Kemik Modelasyonu ve Remodelasyonu.....	21
1.1.1.8	Kemik İyileşmesi ve Rejenerasyonu.....	22
1.1.1.8.1	İnflamasyon Aşaması.....	22
1.1.1.8.2	Onarım (Reperasyon) Aşaması.....	23
1.1.1.8.3	Remodelasyon Aşaması.....	23
1.1.2	Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu	24
1.1.2.1	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisinde YKR Uygulamaları.....	25
1.1.2.2	Kemik Greft Materyalleri.....	26
1.1.2.2.1	Otojen Greftler	27
1.1.2.2.2	Allogreftler.....	28
1.1.2.2.3	Ksenogreftler	28
1.1.2.2.4	Alloplastlar.....	29
1.1.2.3	Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunda Kullanılan Membranlar	29
1.1.2.3.1	Biyobozunur Olmayan Membranlar	30
1.1.2.3.2	Biyobozunur Membranlar.....	32
1.1.2.3.2.1	Doğal Biyobozunur Membranlar	32
1.1.2.3.2.2	Sentetik Biyobozunur Membranlar.....	33
1.1.3	Doku Yapıştırıcıları	37
1.1.3.1	Siyanokrilat Doku Yapıştırıcıları	37
1.1.4	3 Boyutlu Yazıcı Sistemleri ile Doku Mühendisliğinde Membran Üretimi	39
2.	MATERYAL ve YÖNTEM.....	42
2.1	Deney Hayvanları, Deney Tasarımı ve Deney Grupları.....	42
2.2	Polikaprolakton ve Poliglikolik Asit Tabakalarından Oluşan Membranın Üretimi	45
2.3	Cerrahi İşlem	50
2.4	Cerrahi İşlem Sonrası Bakım.....	58
2.5	Sakrifikasyon	58
2.6	Histopatolojik İnceleme.....	60
2.7	Stereolojik Analiz	62
2.8	İstatistiksel Değerlendirme	63
3.	BULGULAR	64
3.1	Klinik Bulgular	64
3.2	Histopatolojik Bulgular	64
3.3	Stereolojik Bulgular.....	74
4.	TARTIŞMA	84
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	96
	KAYNAKLAR	97

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. Kemiğin hiyerarşik yapısı	7
Şekil 1.2. Uzun kemiğin yapısı	8
Şekil 1.3. Kortikal kemikte osteonların dizilimi ve osteonun bileşenleri	9
Şekil 1.4. Kemik dokusunun bileşimi: organik-inorganik-su oranları; proteinlerin ECM ve hücrel oranları.....	13
Şekil 3.1. Grup ve zamana göre yeni kemik (matür ve immatür) doku miktarına ait ortanca değerlerin dağılımı.....	76
Şekil 3.2. Grup ve zamana göre matür (lameller) kemik dokusu miktarına ait ortanca değerlerin dağılımı.....	77
Şekil 3.3. Grup ve zamana göre immatür (woven) kemik dokusu miktarına ait ortanca değerlerin dağılımı.....	79
Şekil 3.4. Grup ve zamana göre bağ doku miktarına ait ortanca değerlerin dağılımı	81
Şekil 3.5. Grup ve zamana göre toplam doku miktarına ait ortanca değerlerin dağılımı.....	82

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Deney grupları.....	43
Tablo 2.2. 4. haftada sakrifikasyonu yapılan deney grupları	44
Tablo 2.3. 8. haftada sakrifikasyonu yapılan deney grupları	44
Tablo 2.4. Doku takip prosedürü.....	61
Tablo 3.1. Grup ve zamana göre yeni kemik (matür ve immatür) dokusu miktarlarının karşılaştırılması (mm^3)	74
Tablo 3.2. Grup ve zamana göre matür (lameller) kemik dokusu miktarlarının karşılaştırılması (mm^3)	76
Tablo 3.3. Grup ve zamana göre immatür (woven) kemik dokusu miktarına ait ortanca değerlerin dağılımı (mm^3)	78
Tablo 3.4. Grup ve zamana göre bağ doku miktarlarının karşılaştırılması (mm^3)	79
Tablo 3.5. Grup ve zamana göre toplam doku miktarlarının karşılaştırılması (mm^3)	81
Tablo 3.6. Nicel değişkenlerden elde edilen oranlara ait tanımlayıcı istatistikler	83

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 2.1. Polikaprolakton (PCL)	45
Fotoğraf 2.2. Poliglikolik Asit (PGA).....	45
Fotoğraf 2.3. 3 boyutlu PCL membranların üretiminde kullanılan 3B yazıcı sistemi	46
Fotoğraf 2.4. PCL membranın 3B yazıcı sistemiyle basım aşamaları (A, B, C) ..	47
Fotoğraf 2.5. PCL membranın boyutları. A: Dış çap; B: İç çap; C: Yükseklik ...	47
Fotoğraf 2.6. PGA'nın PCL membranın iç yüzeyine kaplanması	48
Fotoğraf 2.7. PGA ile kaplı PCL membranlarının iç yüzeylerinin şekillendirilmesi	48
Fotoğraf 2.8. A: PCL+PGA membran; B: PCL membran	49
Fotoğraf 2.9. PCL ve PCL+PGA membranların tepe noktalarından delinmesi ...	49
Fotoğraf 2.10. Hidrojen peroksit plazma sterilizatör	49
Fotoğraf 2.11. A: Rat kafa derisinin tıraş edilmesi; B: Cerrahi alan antisepsisi ..	50
Fotoğraf 2.12. Operasyon sahası ve kullanılan aletler	51
Fotoğraf 2.13. Cilt insizyonu	51
Fotoğraf 2.14. Paryetal kemikler.....	52
Fotoğraf 2.15. Sutura sagittalis referans alınarak çelik rond frez ile oluşturulan dekortikasyon alanı (A, B)	52
Fotoğraf 2.16. Paryetal kemiklerde her biri üç adet delik içeren 2 dekortikasyon alanının oluşturulması	53
Fotoğraf 2.17. n-bütül-2-siyanoakrilat içeren doku yapıştırıcısı (Histoacryl, B. Braun, Almanya)	53
Fotoğraf 2.18. Membranların tabanına doku yapıştırıcısının uygulanması	54
Fotoğraf 2.19. Membranların her iki paryetal kemikte dekortikasyon alanlarını içine alacak şekilde doku yapıştırıcısı ile sabitlenmesi, siyah ok: PCL membran, yeşil ok: PCL+PGA membran.	54
Fotoğraf 2.20. 1. Grupta kullanılan FDBA ve ksenogreft	55
Fotoğraf 2.21. 1.Gruptaki PCL+PGA membranın greft karışımları ile doldurulması	55
Fotoğraf 2.22. Kuyruk ucu kesisiyle otolog kan elde edilmesi.....	56
Fotoğraf 2.23. Otolog kanın membranların tepe kısmından defekt alanlarına uygulanması	56
Fotoğraf 2.24. Otolog kan uygulaması yapılmış iki deney grubu.....	57
Fotoğraf 2.25. Membranların tepe deliklerinin doku yapıştırıcısı ile kapatılması	57
Fotoğraf 2.26. Cerrahi sahanın primer kapatılması.....	58
Fotoğraf 2.27. Sakrifikasyonun ardından membran materyallerinin açığa çıkarılması	59
Fotoğraf 2.28. Paryetal kemiklerin membranlar ile iki ayrı parça halinde kalvaryadan ayrılması	59
Fotoğraf 2.29. Rutin histolojik doku takip işlemi öncesi membranların çıkarılması	60
Fotoğraf 2.30. Stereolojik analizlerde, ImageJ programında kullanılan noktalı alan ölçüm cetveli.	62
Fotoğraf 3.1. Membranları örten deride görülen açıklık.....	64

- Fotoğraf 3.2. (a-d)** 4. hafta kontrol grubuna ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler izlenmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasında kalvaryaya kemiğinin kompakt bölümü görülmektedir. **(b, c)** Yeni oluşan immatür kemik dokusu siyah ok ile işaretlenmektedir. **(d)** Büyük büyütmedeki görüntüde osteoblastlar (ok başı) görülmektedir. Masson trikrom boyaması.65
- Fotoğraf 3.3. (a-d)** 4. hafta 1. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler izlenmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasında kalvaryaya kemiğinin kompakt bölümü gözlenmektedir. **(b)** Yeni oluşan immatür kemik (IMb) dokusu görülmektedir. **(c, d)** Büyük büyütmedeki görüntülerde yeni oluşan immatür kemiğin (IMb) etrafındaki osteoblast yoğunluğu dikkat çekmektedir. Ct: bağ doku. Masson trikrom boyaması.66
- Fotoğraf 3.4. (a-d)** 4. hafta 2. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler görülmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasında kalvaryaya kemiğinin kompakt bölümü gözlenmektedir. **(b, c, d)** PCL+PGA ile kaplanan bölgede, bu biyomalzemelere ait rezidüel yapıların (*) varlığı histolojik olarak gözlenmektedir. **(c)** Büyük büyütmedeki görüntüde yeni oluşan kırık doku (Nct) gözlenmektedir. Ct: bağ doku. Masson trikrom boyaması.....67
- Fotoğraf 3.5. (a-d)** 4. hafta 3. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler gözlenmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, PCL uygulanan bölgede bağ doku ve immatür kemik oluşumuna ait yapılar gözlenmektedir. **(b, c)** Görüntülerde bağ doku infiltrasyonu ile immatür kemik ve ekstraselüler matriks oluşumu (ok) fark edilmektedir. **(d)** PCL ile kaplanan bölgede, bu biyomalzemelerin rezidüel yapıları (*) gözlenmektedir. Ct: bağ doku, V: Damar. Masson trikrom boyaması.68
- Fotoğraf 3.6.** Grupların 4. haftadaki örnek histolojik kesitleri69
- Fotoğraf 3.7. (a-d)** 8. hafta kontrol grubuna ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler görülmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, matür kemik alanları ve bağ doku yoğun olarak izlenmektedir. **(b)** Özellikle, matür kemik yapısının alanda belirgin olduğu fark edilmektedir. **(c, d)** Büyük büyütmedeki görüntülerde yeni oluşan kemik dokusu ok ile gösterilmektedir. Ct: bağ doku, Masson trikrom boyaması.70
- Fotoğraf 3.8. (a-d)** 8. hafta 1. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler izlenmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasında kalvaryaya kemiğinin kompakt bölümü görülmektedir. **(b, c)** Alanda doku rejenerasyonu esnasında oluşan boşluklar yaygın olarak izlenmektedir. **(c, d)** Büyük büyütmedeki görüntülerde, bu boşlukların çevresinde yeni oluşan kemik matriksi (ok) dikkat çekmektedir. Ct: bağ doku. Masson trikrom boyaması.....71
- Fotoğraf 3.9. (a-d)** 8. hafta 2. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler izlenmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasında kalvaryaya kemiğinin kompakt bölümü izlenmektedir. **(b, c)** Kemik rejenerasyonu esnasında oluşan boşluklar yoğun olarak görülmektedir. **(d)** Büyük büyütmedeki görüntüde, rejenerasyon esnasında oluşan boşlukların içinde yeni oluşan kemiğe ait matriks (ok) görülmektedir. Cal: Kalvaryaya kemiğinin kompakt kısmı, Ct: bağ doku, V: Damar. Masson trikrom boyaması.72

Fotoğraf 3.10. (a-d) 8. hafta 3. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler görülmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasındaki alanda kalvaryaya kemiğinin kompakt kısmı işaretlenmektedir. **(b, c)** Alanda yoğun matür kemik (Mt) yapısı dikkat çekmektedir. **(c, d)** Büyük büyütmedeki görüntüde, yeni oluşan kemik alanı ve etrafında osteoblast yoğunluğu (ok) fark edilmektedir. Ct: bağ doku. Masson trikrom boyaması.....73

Fotoğraf 3.11. Grupların 8. haftadaki örnek histolojik kesitleri74



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

µm	: Mikrometre
3B	: Üç boyutlu
ark.	: Arkadaşları
BMP	: Kemik morfogenetik proteinleri
BMU	: Temel çok hücreli birim
CAD	: Bilgisayar destekli tasarım
CSF	: Koloni uyarıcı faktörler
DFDBA	: Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti
DLP	: Dijital ışık işleme
EBM	: Elektron ışını ile eritme
ECM	: Ekstraselüler matriks
FDBA	: Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti
FDM	: Eriyik yığma modelleme
FGF	: Fibroblast büyüme faktörleri
GAG	: Glikozaminoglikan
GM-CSF	: Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör
HAp	: Hidroksiapatit
HFIP	: Hekzafloroizopropanol
IFN-γ	: İnterferon-gama
IL-1β	: İnterlökin-1 beta
LIFT	: Lazer uyarımlı ileri transfer
LKA	: Laküna-kanaliküler ağ
MBG	: Mezoporöz biyoaktif cam
M-CSF	: Makrofaj koloni uyarıcı faktör
mm	: Milimetre
MMP-13	: Matriks metalloproteinaz-13
MMP-9	: Matriks metalloproteinaz-9
MSC	: Mezenkimal kök hücre
NCP	: Kolajen olmayan proteinler
nm	: Nanometre
OPG	: Osteoprotegerin
Örn.	: Örnek
PCL	: Polikaprolakton
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PDLA	: Poli-D-laktik asit
PDLLA	: Poli-D,L-laktik asit
PGA	: Poliglikolik asit
PLA	: Polilaktik asit
PLCL	: Poli(laktid-ko-kaprolakton)

PLGA	: Poli(laktik-ko-glikolik asit)
PLLA	: Poli-L-laktik asit
PRF	: Trombositten zengin fibrin
PRP	: Trombositten zengin plazma
PTFE	: Politetrafloroetilen
PTH	: Paratiroid hormonu
RANK	: Reseptör aktivatör nükleer kappa B
RANKL	: Reseptör aktivatör nükleer kappa B ligandı
Runx2	: Runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2
SIBLING	: Küçük integrin bağlayıcı ligand, N-bağı glikoproteinler
SLS	: Seçici lazer sinterleme
STL	: Stereolitografi
TCA	: Trikarboksilik asit
TCP	: Trikalsiyum fosfat
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
Ti	: Titanyum
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü alfa
vb.	: Ve benzeri
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
YKR	: Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca akademik bilgi ve deneyimlerini cömertçe paylaşan, tez dönemimde desteği, bilgileri ve yol göstericiliği için değerli danışman hocam ve anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Serkan POLAT’a,

Uzmanlık eğitim sürecinde çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm mesai arkadaşlarım ve klinik personeline,

Tez sürecimde desteğini esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Cansu DURDU ve Arş. Gör. Ülkühan BULUT’a,

Hayatım boyunca her zaman en büyük destekçim olan, hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve rehberlik eden canım aileme,

Sevgisiyle güçlendirip ışıyla rehberlik eden, her zaman yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım eşim Zehra GÜLEROL AYDIN’a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (2025-TUP-003 proje numarası ile) desteklenmiştir.

1. GİRİŞ

Kemik, vücuttaki çeşitli organları destekleyen ve koruyan sert ve oldukça dinamik bir dokudur. Kemik dokusu kırmızı ve beyaz kan hücresi üretimi için ortam sağlar. Kalsiyum ve fosfor gibi mineral homeostazında önemli bir rol oynar ve iskelet kasları için sağlam bir temel sağlar (Abdel Meguid, Ke, Ji, & El-Hashash, 2018).

Kemik defektleri ve rezorpsiyonları, ağız, diş ve çene cerrahisinde, kraniyal ve ortopedik cerrahide klinik tedavi süreçlerinde büyük zorluk teşkil eder ve küresel bir sağlık sorunudur. Kemik rejenerasyonuna duyulan ihtiyaç rejeneratif ve rehabilitasyon tıbbındaki merkezi klinik sorunlardan biridir. Kemik onarımı, sistemik ve lokal faktörler tarafından düzenlenen ardışık hücresel ve moleküler olaylar yoluyla yeni kemik oluşumuna zemin hazırlayan karmaşık bir süreçtir (Arvidson et al., 2011).

Klinik olarak büyük zorluklara sebep olan çeşitli tipte kemik defektleri bulunmaktadır. Bu da kemik onarım materyallerine olan talebin artmasına neden olmaktadır (Agarwal & García, 2015). Kemik dokusu, travmalar, tümörler, enfeksiyonlar veya kemik hastalıkları nedeniyle de hasar görebilir. Dahası, obezite, egzersiz eksikliği ve iyileşme kapasitesinin azalmasından ciddi şekilde etkilenen yaşlanan bir toplumda kemik bozukluklarının dünya çapında artan görülme sıklığını göz önünde bulundurularak kemik greftlerinin kullanımına alternatif olarak, kemik dokusunun mühendisliği için yeni stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır (Koons, Diba, & Mikos, 2020). Geleneksel otojen ve allojenik kemik greftlerinden, modern polimer materyallere ve doku mühendisliğiyle üretilen kemiklere kadar, ilgili alanlardaki bilimsel ve klinik araştırmalar sürekli olarak ilerlemektedir (Saravanan, Leena, & Selvamurugan, 2016).

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) konsepti, defekt alanına yumuşak doku invazyonunu önlemek için bariyer görevi gören ve kemik rejenerasyon sürecini ‘yönlendirmek’ için bir ‘alan’ oluşturan biyobozunur veya biyobozunur olmayan bir membran kullanılan, kemik defektlerini onarmak veya dental implant tedavisi için alveoler kemiğin ogmentasyonu amacıyla kullanılmaktadır (Gottlow, 1993; Retzepi & Donos, 2010). Kemik greftleri, çökme riskini azaltarak bariyer desteğini artırmak, kemik rejenerasyonu için bir iskele görevi görmek ve artırılan hacmi istenmeyen rezorpsiyonlardan korumak amacıyla

membranlarla birlikte kullanılmıştır (Calciolari et al., 2023; Cordaro, Torsello, Morcavallo, & di Torresanto, 2011).

Otogreftler (hastanın kendi vücudundan alınan doku), allogreftler (aynı türden ancak farklı bireyden alınan doku) ve ksenogreftler (farklı bir türden alınan doku) kemik defektlerinin tedavisi için geleneksel seçeneklerdir (Chan et al., 2006). Otogreftler hala kritik boyuttaki kemik defektlerinin tedavisi için klinik olarak altın standart olarak kabul edilmektedir (Kretlow & Mikos, 2007; Spicer et al., 2012). Bununla birlikte, sınırlı bulunabilirlik, ek ameliyat ihtiyacı, donör saha morbiditesi ve hastaların yaşam kalitesinde azalma gibi komplikasyonlar hala sorun olmaya devam etmektedir (Kretlow & Mikos, 2007; Rogers et al., 2003; Silber et al., 2003). Bu sınırlamalar uygun alternatiflerin araştırılmasına yol açmış ve metaller, seramikler, polimerler ve bunların kompozitleri de dahil olmak üzere çeşitli sentetik alloplastik biyomateryaller ortaya çıkmıştır (Habraken, Wolke, & Jansen, 2007; Kohane & Langer, 2008; Niinomi, 2008; Porter, Ruckh, & Popat, 2009). Mevcut materyallerinin hiçbiri, düşük hasta morbiditesi, kolay kullanım, düşük immünojenite, düşük maliyet ve anjiyojenik potansiyel dahil olmak üzere kemik greft materyali için ideal özelliklerin hepsine birden sahip değildir (Bhatt & Rozental, 2012; Haugen, Lyngstadaas, Rossi, & Perale, 2019).

Membranlar, epitel ve bağ dokusu hücrelerine karşı bir bariyer görevi görebilmeleri ve kemik büyümesi için defekt sahasındaki alanı koruyabilmeleri nedeniyle YKR yaklaşımının temel bir unsurudur (J. Wang et al., 2016). YKR tedavisi, kemik rejenerasyonu amacıyla izole anatomik alan oluşturmak amacıyla yalnızca membranların uygulanmasından, neredeyse daima kemik greft materyalleriyle birlikte uygulanmaya kayan bir tedavi konseptine evrilmiştir (Aprile, Letourneur, & Simon-Yarza, 2020; Dahlin, Linde, Gottlow, & Nyman, 1988; Dimitriou, Mataliotakis, Calori, & Giannoudis, 2012).

Bariyer membranın altındaki defekt sahasının korunması için başka bir teknik kullanılırsa, YKR prosedürleri kemik grefti ile veya kemik grefti olmadan da başarıyla gerçekleştirilebilir. Membran içerisinde meydana gelen rejenerasyon süreci, anjiyogenez ve osteojenik hücrelerin periferden merkeze doğru göç ederek iyi vaskülarize olmuş bir granülasyon dokusu oluşturmasını içerir. Kan pıhtısının ilk organizasyonunu, anjiyogenez ve primer kemik dokusu (woven) birikimi, ardından sekonder kemik dokusu (lamellar) oluşumu ve son olarak kemik büyümesine benzeyen kemik yeniden şekillenmesi (remodelasyon) takip eder

(McAllister & Haghighat, 2007; Schenk, Buser, Hardwick, & Dahlin, 1994). Başarılı bir YKR için dört ilke gereklidir: (1) primer yara kapanması; (2) yeterli kanlanmayı sağlayan anjiyogenez; (3) kemik rejenerasyonuna olanak tanıyacak hacmin sağlanması için alanın korunması; (4) iyileşme süresince fibrin pıhtısı ve yerleştirilen materyalin stabilitesi (Dahlin et al., 1988; Wang & Boyapati, 2006).

YKR'de ideal bir bariyer membranı tanımlamak için beş ana kriter belirlenmiştir: biyouyumluluk, alan koruması, hücre oklüziv fonksiyon, doku entegrasyonu ve kolay kullanım (Aprile et al., 2020; Caballé-Serrano et al., 2018; Dimitriou et al., 2012). YKR uygulamaları için çok sayıda bariyer membran geliştirilmiştir. Bunlar biyobozunur veya biyobozunur olmayan membranlar olarak gruplandırılabilir. Membranların biyomateryal ve fiziksel özellikleri işlevlerini etkiler. Belirli bir materyalin seçimi membranın biyolojik özelliklerine ve tedavi gereksinimlerine dayanmaktadır (Garg, 2011).

Genel olarak biyobozunur olmayan membranlar titanyum meş, politetrafloroetilen (PTFE) ve titanyum takviyeli PTFE membranları içerir. PTFE, yapısına bağlı olarak genişletilmiş PTFE (e-PTFE) ve yoğun PTFE (d-PTFE) olarak da sınıflandırılabilir (J. Zhang et al., 2010). Biyobozunur olmayan membranların klinik kullanımda iki ciddi sınırlaması vardır. Biyobozunur olmayan membranlar çıkarılmaları için ikinci bir cerrahi işleme ihtiyaç duyulması sebebiyle hastalara ek bir cerrahi morbidite verir, tedavinin maliyetini ve süresini artırır (Aurer & Jorgie-Srdjak, 2005). Bir diğer kısıtlama ise bu malzemelerin aşırı sertliğidir. Bu durum yumuşak dokunun ayrılmasına ve sonrasında membranın açığa çıkmasına neden olarak komplikasyonlara yol açabilir (M. Zhang et al., 2022).

Biyobozunur olmayan membranların eksikliklerinin üstesinden gelmek için sentetik ve doğal kaynaklı biyobozunur membranlar geliştirilmiştir (Ren et al., 2022). Doğal biyobozunur membranlar arasında kolajen, kitosan ve jelatin gibi materyaller bulunur (Wieckiewicz, W Boening, Grychowska, & Paradowska-Stolarz, 2017). Biyobozunur membranlar organizma tarafından bozunmaya uğrar ve ikinci bir ameliyatı ortadan kaldırarak hasta morbiditesini azaltır (Chiapasco & Zaniboni, 2009). Ancak öngörülemeyen bozunma, membranın çökmesine neden olabilir. Bu durum, fiziksel bir bariyerin defekt alanını desteklememesi nedeniyle kemik rejenerasyonunun amaçlanan düzeyde olmasını engeller (C. H. Hämmerle & Jung, 2003).

Doğal ve sentetik polimerler, ideal bir membranın tüm gereksinimlerini tek tek karşılayamaz. Doğal membranlar rezorpsiyon sırasında mekanik özelliklerini çok erken kaybeder. Sentetik polimerler, (örneğin, sentetik poliesterler genellikle daha az hidrofiliktir), hücre adezyonu için yeterli bağlanma alanlarından yoksundur ve asidik bozunma ürünleri açığa çıkarabilirler. Yukarıda belirtilen sorunların üstesinden gelmek için, araştırmacılar tarafından bileşen malzemelerin istenen özelliklerini içeren iki veya daha fazla polimer türünün karışımı olan hibrit materyaller tasarlanmıştır (Gupta et al., 2009).

Sentetik biyobozunur materyaller, enzimatik (esteraz, lipaz aracılı hidroliz) veya enzimatik olmayan (suyla otokatalitik hidroliz, asit-baz katalizi, oksidatif parçalanma) ya da her ikisinin birlikte işlediği mekanizmalarla in vivo olarak bozunmaya uğrayarak biyouyumlu ve toksikolojik açıdan güvenli yan ürünler (laktik asit, glikolik asit, 6-hidroksiheksanoik asit vb.) oluşturur. Bu yan ürünler trikarboksilik asit döngüsü ve β -oksidasyon yolları üzerinden, CO_2 ve H_2O 'ya kadar metabolize edilir. Metabolitler renal ve pulmoner yol ile elimine olur (Makadia & Siegel, 2011; Rosato et al., 2022; Woodard & Grunlan, 2018).

YKR'de membran olarak kullanılan bir diğer kategori ise sentetik, biyouyumlu ve biyobozunur polimerlerden olan alifatik poliesterlerdir. YKR'de membran olarak yaygın kullanılan alifatik poliester polimerleri arasında poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) ile poli(α -hidroksi esterler) sınıfındaki polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA) ve bunların kopolimeri poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) yer alır. Bu polimerlerden üretilmiş çeşitli membranlar ve diğer biyomedikal materyaller insan uygulamaları için FDA (Food and Drug Administration; Gıda ve İlaç Dairesi) onayı almışlardır. Moleküler ağırlık, kristallik ve kopolimer oranı ayarlanarak bozunma hızları haftalardan yıllara kadar değişecek şekilde düzenlenebilir (Dawson, Mapili, Erickson, Taqvi, & Roy, 2008; Gentile, Chiono, Tonda-Turo, Ferreira, & Ciardelli, 2011; Rezwan, Chen, Blaker, & Boccaccini, 2006).

Sentetik biyobozunur membranlar, biyouyumlu olarak ve zamanla biyobozunmaya uğrayarak vücudun bunları elimine etmesine izin vererek yeni kemik dokusunun oluşmasına zemin hazırlayacak şekilde tasarlanmıştır (Abtahi, Chen, Shahabi, & Nasiri, 2023). Biyobozunur polimerler, bozunma özellikleri, işlenme kolaylıkları, çeşitli doku türlerini ve ekstraselüler matriksi taklit eden kimyasal ve biyolojik özellikleri nedeniyle biyomedikal uygulamalar için oldukça

kullanışlıdır. Bu da onları biyomedikal uygulamalarda özellikle cazip kılmaktadır (Kirillova et al., 2021).

Alifatik poliestерlerden biri olan polikaprolakton (PCL), tasarlanan geometriye uygun üç boyutlu (3B) membran yapılarına şekillendirilebilen ve konağa implantasyonundan sonra toksik olmayan ürünlere degrade olan, termoplastik özellikli ve yüksek şekillendirilebilirliğe sahip bir polimerdir (Z.-Z. Zhang et al., 2017). Düşük erime sıcaklığı nedeniyle, 3B yazıcı tabanlı eklemeli imalat (*additive manufacturing*) yöntemleriyle yüksek boyutsal çözünürlükte kolayca işlenebilmektedir (Rider et al., 2018). Eklemeli imalat teknikleri, hassas dış şekil, iç morfoloji ve yeniden üretilebilir 3B mimariye sahip karmaşık membranların üretilebilmesi ile geleneksel üretim tekniklerine göre önemli avantajlara sahiptir (Skoog, Goering, & Narayan, 2014).

PCL hidrofobik yapısı nedeniyle nispeten yavaş bozunur, ancak nispeten daha yüksek işlenebilirlik gösterir (Jia, Zhu, & Liu, 2011). PCL'nin yavaş bozunma hızı, olgunlaşan hücreler için daha uzun süre destek sağlamasına olanak tanıyarak daha yoğun doku oluşmasını sağlar (S. H. Park et al., 2012).

PCL'nin hidrofobik yapısı, zayıf ıslanabilirliği ve hücre bağlanma eksikliği doku mühendisliğindeki uygulamalarını sınırlayan dezavantajlarıdır. Bu sorunu gidermek için bir yaklaşım, PCL'yi kolajen, jelatin ve PGA gibi diğer polimerlerle karıştırmaktır (Aghdam et al., 2012; Cipitria, Skelton, Dargaville, Dalton, & Hutmacher, 2011). Polimeri daha hidrofilik, adeziv veya biyouyumlu hale getirmek için fonksiyonel gruplar da eklenebilir ve bu da olumlu hücre tepkilerine olanak tanır (Z. Li & Tan, 2014; Sowmya, Bumgardener, Chennazhi, Nair, & Jayakumar, 2013). PGA sentetik biyobozunur poliestерler arasında en hidrofilik polimerlerden biridir. PCL ve PLA'dan daha hızlı biyobozunuma uğrar. PGA'nın hidrofilik yapısı erken dönem hücre tutunmasını kolaylaştırmaktadır (Braccini et al., 2020; Storti & Lattuada, 2017).

Hayvan çalışmalarında farklı yapısal özellikte 3 boyutlu membranların kullanılmış olmasına rağmen sonuçlarını karşılaştırmak için PCL ve PGA katmanlarından oluşan membran kullanan bir deneysel hayvan çalışmasına literatürde rastlanılmamıştır.

YKR ile kubbe veya küre benzeri membranlarla mevcut iskeletin sınırları üzerinde (vertikal, ekstrakortikal) bir hacim oluşturulması, yumuşak dokuyu dışlayıp osteojenik hücreler için stabil bir ortam sağlayarak anlamlı miktarda yeni

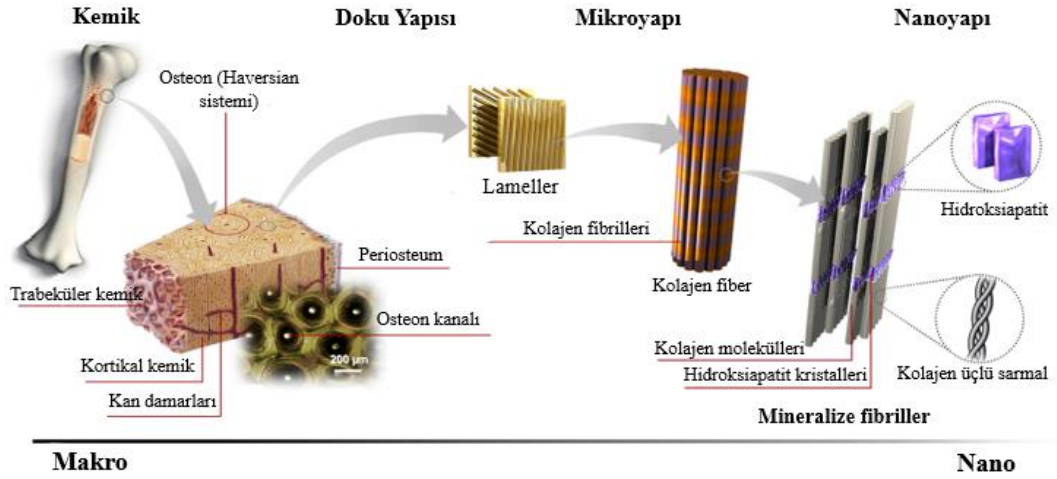
kemik oluşumuna olanak tanıdığı çalışmalarda bildirilmiştir (Kim, Kim, Lee, & Choi, 2018; Kochi et al., 2009; W. Liu et al., 2020; Pons et al., 2020).

Bu çalışmada, deney hayvanı olarak kullanılan Wistar ratların paryetal kemiklerinde vertikal yönde bir hacim oluşturmak amacıyla 3 boyutlu yazıcı sistemiyle oluşturulan kubbe benzeri formdaki biyobozunur PCL membranının, biyomedikal uygulamalarda endişe kaynağı olan hidrofobisitesini paryetal kemiğe bakan iç yüzeyinin hidrofilik biyobozunur PGA polimeri ile kaplanmasıyla oluşturulan membranın YKR yaklaşımı ile yeni kemik oluşumu üzerindeki etkinliğinin histopatolojik ve stereolojik histomorfometrik değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

1.1 Genel Bilgilendirme

1.1.1 Kemiğin Yapısı

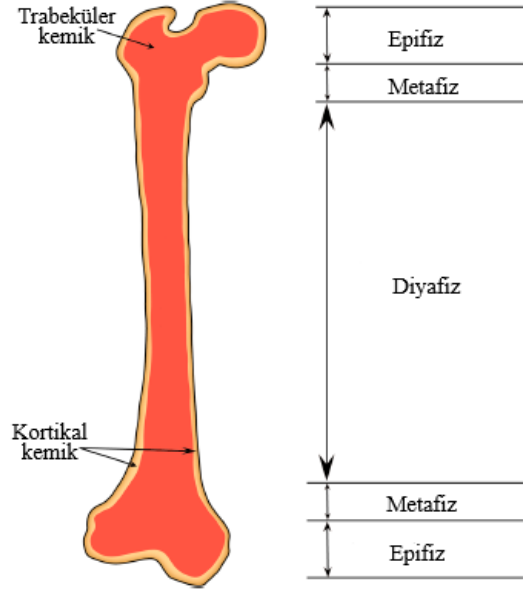
Kemik dokusu, omurgalılar için içsel bir yapısal destek sistemi görevi görür. Mekanik kuvvetlere direnme yeteneği de dahil olmak üzere çeşitli stres faktörlerine uyum sağlamak için büyüme, şekil ve boyut değiştirme mekanizmalarına sahiptir. Ayrıca kemik, inorganik iyonların önemli bir kaynağıdır ve vücudun kalsiyum/fosfat dengesine aktif olarak katılır (Safadi et al., 2009). Kemik, insan vücudunun iskeletini oluşturur ve aynı zamanda motor fonksiyonun, hematopoetik fonksiyonun sürdürülmesinde, iç organların ve sinir sisteminin korunmasında önemli bir rol oynar (Clarke, 2008).



Şekil 1.1. Kemiğin hiyerarşik yapısı (Sadat-Shojai, Khorasani, Dinpanah-Khoshdargi, & Jamshidi, 2013)

1.1.1.1 Kemik Dokusunun Makro Morfolojisi

Genel olarak, insan iskeleti dört kategoriye ayrılmış kemiklerden oluşur: uzun kemikler (femur, tibia ve klavikula gibi), kısa kemikler (karpal ve tarsal kemikler gibi), yassı kemikler (kaburga, kalvaryum kemikleri gibi) ve düzensiz kemikler (mandibula, maksilla, vertebra ve hyoid kemik gibi). Tipik bir yetişkin uzun kemiği şu bölümlere ayrılır: diyafiz olarak bilinen merkezi silindirik bir gövde ve epifiz adı verilen iki geniş uç. Diyafiz, her bir epifize metafiz adı verilen konik bölgeler aracılığıyla bağlanır. Diyafiz esas olarak kortikal kemikten oluşurken, epifiz ve metafiz ağırlıklı olarak ince bir dış kortikal kemik tabakasına sahip trabeküler kemikten oluşur (Cowan, Launico, & Kahai, 2024; Cowin, 2001; Eriksen, Axelrod, & Melsen, 1994). Kısa kemikler yatay ve dikey boyutları yaklaşık olarak eşittir. Esas olarak trabeküler kemikten oluşurlar ve ince bir kortikal kemik tabakasıyla kaplıdır. Yassı kemikler iki kortikal kemik tabakası içinde bir trabeküler kemik tabakasından oluşan kemiklerdir. Düzensiz kemiklerdir yukarıda belirtilen üç tip kemikten hiçbirine uymazlar. Esas olarak trabeküler kemikten oluşurlar ve ince bir kortikal kemik tabakasıyla kaplıdır (Clarke, 2008).



Şekil 1.2. Uzun kemiğin yapısı (Cowin, 2001)

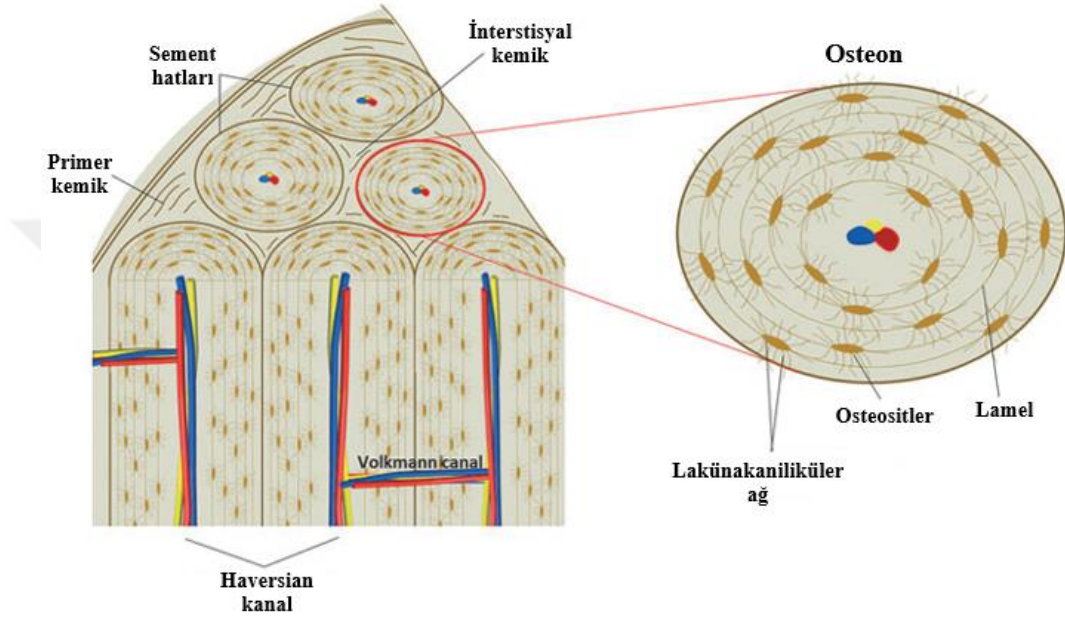
Hepsi makroskopik olarak ayırt edilebilen, mimarileri farklı ancak moleküler bileşimleri benzer olan iki tip kemik dokusundan oluşur (Eriksen et al., 1994). Makroskopik olarak iki tip kemik dokusu tanımlanabilir: kemik kütlesinin %80'ini oluşturan solid kortikal (kompakt) kemik ve geri kalanını oluşturan trabeküler (kansellöz, spongiyöz) kemik (Vico et al., 2017). Kortikal ve trabeküler kemikler, kemik kütlesi dengesinde ve mineral homeostazında önemli bir rol oynayan kemik yeniden şekillenmesinden sorumludurlar (Tolar, Teitelbaum, & Orchard, 2004).

1.1.1.1.1 Kortikal Kemik

Kortikal kemik, kemik ilik boşluğunu çevreleyen yoğun, sert ve kalsifiye kemiği ifade eder. Bu kemik tipinde çok az boşluk bulunur. Yetişkinlerde kortikal kemik, lameller tip kemiğin yoğun kümeleşmelerinden oluşur. Osteonlar, kortikal kemiğin temel yapısal ve işlevsel birimleridir. Kortikal kemik ayrıca vasküler beslenme için Haversian ve Volkmann kanal sistemlerini de içerir. Kortikal kemik, dıştan periosteum ve içten endosteum ile çevrilidir (Chang & Liu, 2022; Safadi et al., 2009).

Kortikal kemikte osteonlar primer ve sekonder olarak sınıflandırılır. Primer osteonlar, kan damarlarının birkaç dairesel lamel ile çevrili olduğu primer kemiğe

bitiştir. Sekonder osteonlar, Haversian sistemleri olarak da bilinen bu sistemler, kemik yeniden şekillenmesi sırasında primer osteonlardan gelişen kortikal kemiğin işlevsel birimleridir. Her sekonder osteon, kan damarlarını, sinirleri ve bağ dokusunu barındıran merkezi kanalın etrafında düzenlenmiş eş merkezli lamellere sahiptir. Bu sistemler, sekonder osteon sınırlarını tanımlayan belirgin sement hatlarıyla birbirlerinden ayrılır (Chang & Liu, 2022; Mohsin, O'Brien, & Lee, 2006).



Şekil 1.3. Kortikal kemikte osteonların dizilimi ve osteonun bileşenleri (Chang & Liu, 2022)

Osteonun yapısal düzeni, merkezi bir Haversian kanalı, onu çevreleyen eş merkezli kemik lamelleri, lameller içinde düzenli olarak yerleşmiş osteositler ve bu hücrelerin gövdeleri ile dendritlerini barındıran laküna-kanaliküler ağdan (LKA) oluşur (Van Tol et al., 2020; Yu, Pacureanu, Olivier, Cloetens, & Peyrin, 2020).

Haversian kanalı, lameller içinde yer alan osteositlere gerekli besinleri ve duyuyu sağlayan bir kan damarı ve sinir lifleri ağı barındırır. Lakünalar, osteositin gövdesini barındırırken, kanaliküller ise osteositlerin uzantılarını içerir. Laküna ve kanaliküller, bir Haversian sistemi etrafında eş merkezli halkalar halinde uzanan laküna-kanaliküler ağı (LKA) oluşturur. Bu uzantılar, osteositlerin birbirleriyle ve kemik yüzeyiyle bağlantı kurarak bir ağ oluşturur. Mekanik stresi algılama ve iletmede önemli roller oynar. LKA'nın yüksek yüzey alanı, osteositlerin dışarıdaki

mekanik stresi hızla algılamasını ve komşu osteositler ve/veya osteoblastlarla iletişim kurmasını sağlar. Ancak bu uzantılar, osteonlar arasındaki sement hatlarını geçmez. Ayrıca, lameller kemiklerin dayanıklılığını ve mekanik yüklere dayanma kapasitesini artırır (Chang & Liu, 2022; Clarke, 2008).

1.1.1.1.2 Trabeküler Kemik

Trabeküler kemik, uzun kemiklerin içini, uzun kemiklerin metafiz bölgesini ve kemiklerin epifiz uçlarını doldurur. Trabeküller, kemik ilik boşluğu için iskele görevi gören, kemiği hafifleten, kan damarları ve kemik iliği için yer sağlayan çubuk ve plaka benzeri elemanlardan bir yapı oluşturur. Trabeküllerin spikülleri genellikle birkaç kemik dokusu lamellerinden oluşur (Safadi et al., 2009). Trabeküler kemik hacminin %20'si kemikten oluşur kalanı ise kemik iliği ve yağla doludur. Trabeküler kemik, mekanik yükleri eklem yüzeyinden kortikal kemiğe aktarır. Trabeküler kemik, kortikal kemiğe kıyasla daha düşük kalsiyum içeriğine ve daha fazla su içeriğine sahiptir. Trabeküler kemiğin kemik iliğine ve kan akışına maruz kalan geniş bir yüzeyi vardır; turnoverı kortikal kemiğe göre daha yüksektir (Parfitt, 2002).

1.1.1.2 Kemik Zarları

Kemik zarları, kemiğin dış ve iç yüzlerini örten iki ince bağ dokusu tabakasıdır: periosteum (dış yüz) ve endosteum (iç yüz). Periosteum eklem kıkırdığıyla kaplı bölgeler ve bazı sesamoid kemik yüzleri dışında tüm dış korteksi sarar. Endosteum ise medüller kaviteyi, trabeküler yüzeyleri, kompakt kemikte Haversian ve Volkmann kanallarının içini döşer. Bu zarlar, kemik vaskülarizasyonu, innervasyonu, onarımı ve yeniden şekillenmesinde kritik rol oynar (Dwek, 2010; Nahian & Chauhan, 2023).

1.1.1.2.1 Periosteum

İki katmandan oluşur: dışta düzensiz kolajen lifli fibröz tabaka ve osteoprogenitör hücrelerce zengin iç kambiyum tabaka. Periost, yoğun damar ağına ve zengin sinir liflerine sahip bir bağ dokusu zarından oluşur. Periostun dış fibröz tabakası, yüzeysel ve derin bölüm olmak üzere iki kısımdan oluşur. Yüzeysel bölümü, hücre içeriği görece düşük, yoğun kolajen demetlerinden oluşan içinde seyrek iğsi fibroblastlar barındıran kolajen ağırlıklı bir yapıya sahiptir. Derin fibröz

kısımda Sharpey lifleri baskındır, kemiğe bu lifler sayesinde sıkıca tutunur. Periosteumun kambiyum tabakası oldukça hücrelidir ve seyrek bir kolajen matriks içinde mezenkimal progenitör hücreler, farklılaşmış osteojenik hücreler, osteoblastlar ve fibroblastlardan oluşur. Periostun zengin damarlanması ve innervasyonu, fraktür iyileşmesinde kallus oluşumuna katkı sağlar (Bahney et al., 2019; Dwek, 2010; C. Li & Fennessy, 2021).

1.1.1.2.2 Endosteum

Genellikle kemik yüzey hücreleri, osteoprogenitörler ve osteoblastlardan oluşan ince bir tabakadır. Korteksin iç yüzünü, medüller kaviteyi, tüm trabeküler yüzeyleri ve osteon kanallarını döşer. Endosteal yüzey, kemik remodelasyonu sırasında rezorpsiyon ve formasyonun gerçekleştiği başlıca alanlardan biridir. Endosteum, periosteumdan belirgin şekilde daha incedir. Endosteum, bulunduğu yere göre üç türe ayrılır: (a) Kortikal endosteum: kemik iliği boşluğunu kaplayan endosteum, (b) osteon endosteum: osteonları kaplayan endosteum, çoğunlukla sinir ve kan damarlarını içerir. (c) Trabeküler endosteum: Kemiğin gelişmekte olan kısmına yakın trabekülleri kaplar (Bahney et al., 2019; Nahian & Chauhan, 2023; Reagan & Rosen, 2016; Tamma & Ribatti, 2017).

1.1.1.3 Kemik Dokusunun Mikroyapısal Organizasyonu

Kemik oluşumu sırasında mezenkimal kök hücrelerin (MSC) yerleşmesi, osteoblastların oluşumu, ekstraselüler matriks (ECM) ve osteoid mineralizasyonu ile terminal olarak farklılaşmış osteositlerin oluşumu kemik oluşumunda önemli rol oynar (X. Wang et al., 2013). Osteoblastlar, embriyonik ve doğum sonrası kemik oluşumunu gerçekleştiren hücrelerdir ve mesenkimal kökenlidir. Osteoblastlar, esas olarak tip I kolajen ve bazı non-kolajen proteinlerden oluşan kemik protein matriksini üretirler. Bu protein matriksi, osteoid olarak adlandırılır ve mineralizasyonun başlaması ve olgun kemik oluşumunun sağlanabilmesi için bir şablon işlevi görür (Kobayashi & Kronenberg, 2005; Morgan, Barnes, & Einhorn, 2008). Kemik dokusu oluşumunda osteoblastlar, kemik matriksinin ana protein bileşeni olan tip I kolajeni 2 temel konformasyonda sentezler ve biriktirir: primer kemik (woven kemik, immatür kemik) ve sekonder kemik (lamellar kemik, matür kemik) (Shapiro, 2008).

1.1.1.3.1 Primer Kemik (Woven Kemik)

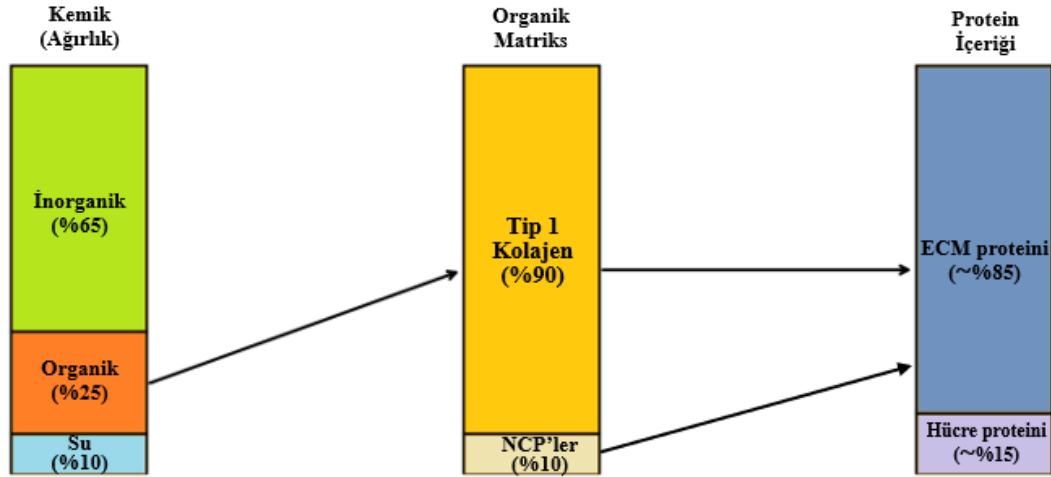
Primer kemik, büyüme sırasında, kırık iyileşmesi sırasında ve yüksek dozda anabolik ajanlara yanıt olarak üretilen hızla oluşan bir dokudur (Buckwalter, Glimcher, Cooper, & Recker, 1995). Primer kemik, histolojik olarak nispeten zayıf organizasyon, düşük mineral yoğunluğu ve yüksek hücre içeriği ile karakterizedir (Mori, Li, & Kawaguchi, 2001). Primer kemik, daha dayanıklı lameller kemiğin sentezlendiği bir iskele veya şablon sağlayarak genel kemik oluşumu üzerinde büyük bir etkiye sahiptir (Shapiro & Wu, 2019).

1.1.1.3.2 Sekonder Kemik (Lamellar Kemik)

Kemik oluşumu, doku düzeyinde ve fetal zaman dilimlerinden itibaren, başlangıçta düzensiz kolajen matriks birikimi, yani primer kemik, ardından paralel bir düzende kolajen matriks birikimi, yani sekonder (lameller) kemik ile karakterize edilir (Shapiro & Wu, 2019). Primer kemikte kolajen fibrilleri rastgele yönlendirilirken, sekonder kemikte paralel diziler halinde kümelenmiştir. Sekonder kemikteki fibriller birbirine ve longitudinal eksene paralel değildir; bunun yerine, bitişik katmanlarda longitudinal ve transvers yönelimler arasında değişirler. Bu da ortogonal bir model olarak adlandırılır. Bu süreçler normal kemik gelişiminde, kemik onarımında ve çeşitli patolojik durumlarda tekrarlanır (Shapiro, 2008).

1.1.1.4 Kemiğin Kimyasal Bileşimi ve Matriks Yapısı

Kemik de tüm biyolojik dokular gibi ECM ile çevrili karakteristik hücre tiplerinden ve ECM'ye entegre edilmiş veya hücreler tarafından üretilen biyolojik olarak aktif moleküllerden oluşur (Healing, 2000). ECM, hücreler tarafından ekstraselüler boşluğa salgılanan hücresel olmayan üç boyutlu bir yapıdır. Her doku tipinin ECM'si gelişim sırasında farklı bir bileşime ve topolojiye sahiptir (Frantz, Stewart, & Weaver, 2010).



Şekil 1.4. Kemik dokusunun bileşimi: organik-inorganik-su oranları; proteinlerin ECM ve hücresel oranları

Üç ana bileşenden oluşur: organik bir matris (çoğunlukla tip I kolajen), inorganik matris (çoğunlukla kalsiyum ve fosfat) ve su. Kemiğin organik kısmının neredeyse tamamı ECM'dir. Hücresel bileşen kemik hacminin küçük bir kısmını oluşturur. Kemik dokusunda hücrelerin (özellikle osteositler, ayrıca osteoblast ve osteoklastlar) toplam doku hacmine katkısı düşüktür. Bazı kaynaklarda bu katkı yaklaşık %10-15 olarak belirtilir. Ancak bu değer, doku tipi (kortikal, trabeküler), yaş ve kullanılan ölçüm yöntemine göre değişebildiği için sabit bir oran olarak görülmemelidir. İnorganik matrisi çevreleyen ve kolajen moleküllerini birbirine bağlayan organik matrisin küçük bir miktarı olan kolajen olmayan proteinler (NCP'ler) (%10) de bulunur. Memeli kemiği yaklaşık %65 ağırlıkta inorganik, %25 ağırlıkta organik ve %10 ağırlıkta sudan oluşur. Hacimsel olarak bu, yaklaşık %33-43 inorganik, %32-44 organik ve %15-25 suya karşılık gelir (El Sayed, Nezwik, & Varacallo, 2017; Florencio-Silva, Sasso, Sasso-Cerri, Simões, & Cerri, 2015; Olszta et al., 2007).

Kemiğin organik matrisi kuru ağırlığın %40'ını oluşturur ve kolajen, proteoglikanlar, glikoproteinler, fosfolipidler ve fosfoproteinlerden oluşur. İnorganik matris kemiğin kuru ağırlığının kalan %60'ını oluşturur ve esas olarak kalsiyum hidroksiapatitten $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2, HAp]$ oluşur. Ultrastrüktürel düzeyde kemik, uygulanan kuvvetlere maksimum direnç gösterecek şekilde düzenlenir.

HAp kristalleri kolajen liflerine paralel olarak düzenlenir (Sela, Amir, Schwartz, & Weinberg, 1987).

Ayrıca kemik ECM'si proinflamatuvar sitokinler ve kemik morfogenetik proteinler (BMP), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve fibroblast büyüme faktörleri (FGF) gibi çeşitli büyüme faktörlerini de içerir (Papadimitropoulos, Scotti, Bourguine, Scherberich, & Martin, 2015).

1.1.1.4.1 Organik Kemik Matriksi

Tip I, III ve V kolajenleri kemiklerdeki organik ECM'nin en bol bulunan bileşenleridir. Temel işlevleri mekanik destek sağlamak ve kemik hücreleri için bir iskele görevi görmektir (Mitsuru Saito & Marumo, 2015). Osteoblastlar organik matriksin ana bileşeni olan tip I kolajeni salgırlar. Tip I kolajen, kemikteki toplam kolajenin %90'ını oluşturur ve kolajen fibrillerini oluşturan üçlü polipeptit sarmalları oluşturur. Bu fibriller, daha yüksek dereceli fibril demetlerini ve liflerini bir araya getirmek için diğer kolajenli ve kolajensiz proteinlerle etkileşime girer (Ricard-Blum, 2011; Varma, Orgel, & Schieber, 2016). COL1A1 ve COL1A2 genleri tarafından kodlanan Tip I kolajen, kemikte önemli yapısal rol oynamasının yanı sıra doku organizasyonuna ve dolayısıyla mekanik özelliklerine de katkıda bulunur (Ricard-Blum, 2011).

Osteoblastlar organik matriksin ana bileşiği olan tip I kolajeni salgırlar ve bu, toplam kemik protein içeriğinin yaklaşık %85-90'ını oluşturur. Tip I kolajen ilk olarak prekürsör prokollajen olarak sentezlenir, daha sonra posttranslasyonel modifikasyonlar ve disülfid bağları tarafından stabilize edilir. Daha sonra ECM'ye sekrete edilir, N- ve C- terminallerinden ayrılır ve doğal üçlü sarmal kolajen elde edilene kadar işlenir. Kemik matriksinin kolajen olmayan protein (NCP) içeriği; proteoglikanları, SIBLING (küçük integrin bağlayıcı ligand, N-bağlantılı glikoproteinler) ailesini (osteopontin, kemik sialoproteini, dentin matriks proteini-1, dentin sialofosfoproteini, matriks ekstraselüler fosfoglikoprotein), γ -karboksiglutamat içeren proteinleri ve serumdan adsorbe olmuş bazı proteinleri kapsar. Kolajen mimarisinde ve kolajenin mekanik özelliklerini etkileyen çapraz bağ oluşumunda rol oynarlar (Alcorta-Sevillano, Macías, Infante, & Rodríguez, 2020; Gorski, 2011; Marumo Saito & Marumo, 2010).

1.1.1.4.2 İnorganik Kemik Matrisi

HAp (hidroksiapatit), kemik dokusundaki başlıca inorganik kristal bileşendir ve kalsiyum fosfatın termodinamik olarak kararlı bir fazıdır. (Fujisawa & Tamura, 2012). Bununla birlikte, kemik dokusundaki apatitik mineral, hidroksil ve fosfat gruplarının yerini alan karbonat iyonlarını da içerir (Morgan et al., 2008). Diğer ikameler: kalsiyum iyonları yerine potasyum, magnezyum, stronsiyum; sodyum ve hidroksil grupları yerine klorür ve florürdür (McCONNELL, 1962). Bu safsızlıklar apatitin kristallliğini azaltır ve bu da çözünürlük gibi belirli özellikleri değiştirebilir. Kemik mineralinin çözünürlüğü mineral homeostazisi ve kemik adaptasyonu için kritik öneme sahiptir (Kaplan et al., 1994; Morgan et al., 2008; Ou-Yang, Paschalis, Mayo, Boskey, & Mendelsohn, 2001).

1.1.1.4.3 Su

Su, kemikte biyomineralizasyon sürecinde ve mekanik özelliklerin artırılmasında önemli bir rol oynayan bir diğer önemli bileşendir. Su çeşitli yapılarda bulunur: vasküler kanallar, osteosit lakünaları ve kanaliküller gibi poröz bölgelerde, lameller arasında, fibrillerin içinde ve üçlü sarmal tropokolajen moleküllerini çevreler. Su ayrıca kolajen fibrillerinde önemli bir yapısal rol oynar. Kolajen fibrilinin hidrasyonu, fibrilin aksiyal yapısını etkilemeden, lateral düzlemdeki bitişik kolajen moleküllerini 0,7 nm kalınlığında bir su tabakasıyla ayırır. Fibrilin bu lateral akışkanlığı, hidroksiapatiti oluşturan prekürsör bileşenlerin fibril içinde yayılmasına izin verir. Mineralizasyon sırasında, fibril içindeki su mineralle yer değiştirir ve bu da kolajen moleküllerinin hareketlerinin kısıtlanmasına neden olur. Bu nedenle su, kolajenin yapısal özelliklerini ve fiziksel özelliklerini artırmasına yardımcı olur (Cameron, Short, & Fullerton, 2007; Ekani-Nkodo & Fygenon, 2003; Fratzl, Fratzl-Zelman, & Klaushofer, 1993; Fullerton & Amurao, 2006; Fullerton et al., 2006; Toroian, Lim, & Price, 2007).

1.1.1.5 Kemik Hücreleri

Kemik, ECM ile sürekli etkileşim halinde olan farklı hücre tiplerinden oluşur (Florencio-Silva et al., 2015). Kemik, hareketsiz görünümüne rağmen, osteoklastlar tarafından rezorbe edilen ve osteoblastlar tarafından yeniden

şekillendirilen dinamik bir dokudur. Osteositlerin kemiği yeniden şekillendirme (remodelasyon) sürecinin mekanosensörleri ve düzenleyicileri olarak rol aldığına dair kanıtlar vardır (Clarke, 2008; Karsenty, Kronenberg, & Settembre, 2009; Teitelbaum, 2007).

1.1.1.5.1 Osteoprogenitör Hücreler

Osteoprogenitor hücreler bölünme ve farklı kemik hücrelerine farklılaşma kapasitesine sahiptir. Mezenkimal kök hücrelerden köken alan osteoprogenitör hücreler, osteoblast soyuna bağlanmış öncül hücrelerdir. Osteojenik uyarılar altında preosteoblast ve ardından osteoblasta farklılaşırlar. Bu hücreler başlıca periosteumun iç (kambiyum) tabakası ile endosteumda yer alır. Büyüme ve onarım sırasında osteoblastlara farklılaşarak kemik oluşumuna katkı verir (Alcorta-Sevillano et al., 2020; Meirelles, Chagastelles, & Nardi, 2006; Nahian & Chauhan, 2023).

1.1.1.5.2 Osteoblastlar

Osteoblastlar, kemik yüzeyinde yer alan küboidal formda hücrelerdir ve kemik oluşturma fonksiyonları ile bilinirler (Capulli, Paone, & Rucci, 2014). Osteoblastlar kemik iliği, endosteum, periosteum ve kemik kanallarında bulunan farklılaşmamış mezenkimal hücrelerden köken alır. Preosteoblastlar olarak da adlandırılan bu hücreler, çevreleyen dokudan veya vasküler sistemden göç edebilir. Mezenkimal hücrelerin osteoblastlara farklılaşması ve çoğalması hem intramembranöz hem de endokondral kemik oluşumu sırasında meydana gelir (Ducy, Schinke, & Karsenty, 2000; JA, 1995). MSC'lerin osteoprogenitör yolağa yönelmesi, belirli genlerin ekspresyonunu gerektirir ve bu süreç, BMP ve Wingless (Wnt) yollarının üyelerinin sentezi gibi adımları içerir (Grigoriadis, Heersche, & Aubin, 1988). Osteoblast oluşumu ve farklılaşması için iki transkripsiyon faktörünün gerekli olduğu gösterilmiştir: runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2 (Runx2) ve Osterix. En erken osteoblastik belirteç olan Runx2, osteoblast soyu boyunca progenitör hücre farklılaşması için gereklidir (Kobayashi & Kronenberg, 2005; Komori et al., 1997).

Fonksiyonel olarak osteoblastlar, osteoid olarak da bilinen kemik matriksinin organik bileşenini büyük ölçüde oluşturan tip I kolajen, proteinler ve polisakkaritlerin üretiminden sorumludur (Holtrop & Hall, 1990). Osteoblastlar

ayrıca matriks veziküllerinin serbestleşmesi, kalsiyum ve fosfat birikimi yoluyla osteoidin mineralizasyonunda da rol oynarlar (Höhling, Barckhaus, Krefting, Quint, & Althoff, 1978; Landis, Song, Leith, McEwen, & McEwen, 1993).

Çok miktarda granüllü endoplazmik retikulum, büyük bir golgi aygıtı ve çok sayıda mitokondriye sahip tipik protein üreten hücrelerdir. Alkalen fosfataz enzim aktivitesi, osteoblastların en erken belirteçlerinden biridir. Osteoblastlar, tip I kollajen ve proteoglikanların üretimine ek olarak osteokalsin, osteopontin, kemik sialoproteini ve osteonektin gibi diğer kollajen dışı proteinleri de üretirler. Osteoblastlar; interlökin-6, interlökin-11, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ve makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) gibi çeşitli sitokinler ve koloni uyarıcı faktörler (CSF) salgılar ve böylece miyelopoezde rol oynarlar. Osteoblastlar ayrıca çok sayıda büyüme faktörü salgılar. Olgun osteoblastlar, kemik metabolizmasını ve mineral homeostazını düzenlemede önemli roller oynayan iki hormon olan paratiroid hormonu (PTH) ve 1,25-dihidroksivitamin D için reseptörlere sahiptir. Osteoblastlar ayrıca osteoklastların farklılaşmasında önemli rol oynayan bir protein olan RANKL'ı (reseptör aktivatör nükleer kappa B ligandı) üretirler (Safadi et al., 2009).

Osteoblastlar, RANKL için bir tuzak reseptör olan osteoprotegerin (OPG) adı verilen bir protein üretebilir. Bu protein RANKL'ın RANK'a bağlanmasını önler ve bunun sonucunda osteoklast farklılaşması ve aktivasyonu inhibe edilir (Boyce, 2013).

1.1.1.5.3 Osteoklastlar

Osteoklastlar, kemik rezorpsiyonu yapan hücrelerdir. Hematopoietik kökenli, oldukça spesifik ve çok çekirdekli fagositik hücrelerdir. Kemik matriksinin demineralizasyonunu ve rezorpsiyonunu kolaylaştıran belirgin özelliklerle karakterize edilir (Teitelbaum, 2000).

Osteoklastlar, oluşumları için iki sitokine ihtiyaç duyarlar: M-CSF ve RANKL. M-CSF, hematopoietik kök hücrelerinin monosit/makrofaj serisine farklılaşması için gerekli olsa da bu öncü hücrelerin çoğalmasını teşvik eder ve ömrünü uzatır. RANKL ise osteoklast farklılaşması, füzyonu ve olgun osteoklastların yaşam döngüsü için önemlidir. RANKL-RANK yolunun kalıtsal eksikliği osteoklastların yokluğuna ve ağır osteopetrozise; M-CSF-CSF1R yolunun eksikliği ise osteoklastların ciddi yetersizliğiyle seyreden osteopetrozise yol açar.

Osteopetrotik fenotipin tipik özellikleri arasında; mermer kemik, diş sürme eksikliği, işlevsel bir kemik iliği boşluğunun oluşmaması nedeniyle ekstramedüller hematopoezis sayılabilir (Dougall et al., 1999; Fuller et al., 1993; Kong, Yoshida, et al., 1999; Mun, Park, & Park-Min, 2020; Teitelbaum, 2000; Xaus et al., 2001; Yasuda et al., 1998; Yoshida et al., 1990).

Osteoklast farklılaşmasını düzenleyen baskın yol RANKL/RANK/OPG yoludur. Bu yol, osteoblastların membranda RANKL sunması ve bu faktörün mononükleer osteoklast öncüllerinin membranındaki RANK reseptörüne bağlanması aracılığıyla osteoklast farklılaşmasının uyarılmasına dayanır (Khosla, 2001).

Kemikteki stromal hücreler, osteoblastlar, osteositler, M-CSF ve RANKL'ın ana üreticileri olmaları nedeniyle osteoklast farklılaşmasının kritik düzenleyicileridir; ancak bağışıklık hücreleri hormon eksikliği veya inflamasyon gibi patolojik durumlarda bunların ekspresyonunu inhibe edebilirler (Kong, Feige, et al., 1999; Nakashima et al., 2011; Onal et al., 2012; Xiong et al., 2011).

1.1.1.5.4 Osteositler

Toplam kemik hücrelerinin %90-95'ini oluşturan osteositler, 25 yıla kadar uzayan yaşam süresine sahip hücrelerdir (Franz-Odenaal, Hall, & Witten, 2006). Kemik oluşumu sırasında mineralize olmamış matriks (osteoid) ile çevrili terminal olarak farklılaşmış osteoblastlardan köken alır (Manolagas & Parfitt, 2010).

Osteoblastların yaklaşık %5-20'si terminal diferansiasyona uğrar ve osteosit haline gelir. Geri kalanlar ya apoptozisle ölür ya da düzleşerek kemik yüzey hücreleri olarak bilinen ve kemiğin yüzeylerini kaplayan hücrelere dönüşür. Osteositogenez süreci sırasında osteoblast morfolojisi, osteositlerin karakteristik özelliği olan yıldız morfolojisine dönüşür (Palumbo, Palazzini, Zaffe, & Marotti, 1990; Piemontese et al., 2016).

Osteositler mekanik kuvvetleri algılar ve kanaliküler sistemleri aracılığıyla kemik anabolik sinyallerini diğer kemik hücrelerine iletirler; bu da osteositleri iskeletteki ana mekanosensör hücre haline getirir (Burger, Klein-Nulend, Van Der Plas, & Nijweide, 1995; Duncan & Turner, 1995). Osteositler, osteoklastların oluşumunu ve aktivitesini düzenleyen proosteoklastojenik sitokin RANKL'nin başlıca kaynaklarından (Xiong et al., 2011).

1.1.1.5.5 Kemik Yüzey Hücreleri

Kemik hücre tiplerinden bir diğeri ise osteoblastlardan farklılaşan hareketsiz, yassılaştırmış ancak anabolik olarak uyarıldıklarında osteoblastlara dönüşebilen kemik yüzey hücreleridir. İyonların ve moleküllerin değişimini düzenlemeye ve remodelasyonu (RANKL/OPG yoluyla) düzenlemeye yardımcı olan yarı geçirgen bir arayüz oluştururlar (Clarke, 2008; J. Y. Lee, Yang, & Kim, 2021; Matic et al., 2016).

1.1.1.6 Kemik Oluşum Mekanizmaları (Osteogenez, Ossifikasyon)

Kemik oluşumu, kolajenöz mezenkimal dokunun kemikle yer değiştirmesiyle başlar. Bu, rastgele organize olmuş kolajen liflerine sahip bir kemik formu olan primer kemiğin oluşumuyla sonuçlanır ve daha sonra düzenli paralel kolajen halkalarına sahip olgun sekonder kemiğe dönüşür. Sekonder kemik daha sonra osteoklastlar ve osteoblastlar tarafından sürekli olarak remodele olur. Kemik oluşumunun mekanizmasına dayanarak, endokondral ve intramembranöz kemikleşme olarak adlandırılan iki bölüme ayrılabilir (Akter & Ibanez, 2016; Cashman & Ginty, 2003; Muscolino, 2006; Vanputte, Regan, & Russo, 2013; H. Yang, 2019).

Kemik oluşumunun fizyolojisi, iki farklı yolun kullanımıyla elde edilir: intramembranöz ve endokondral kemik oluşumu. İntramembranöz kemikleşmede, mezenkimal hücreler yoğunlaşır ve doğrudan kemik oluşturan osteoblastlara farklılaşır. Buna karşılık, endokondral kemikleşmede, mezenkimal hücreler yoğunlaşır ve daha sonra kondrosit haline gelir. Bu kıkırdak kalıbı daha sonra olgun kemiği oluşturan osteoblastların oluşumunu yönlendirir (Karsenty & Wagner, 2002; Kobayashi & Kronenberg, 2005).

1.1.1.6.1 İntramembranöz Kemikleşme

İntramembranöz ossifikasyonda, fibröz mezenkimal bağ dokusu içindeki farklılaşmamış mezenkimal hücreler önce osteoprogenitörlere, sonra osteoblastlara dönüşür. Osteoblastların salgıladığı osteoid mineralize olur ve bir kısmı osteosite farklılaşır. Çevredeki mezenkimal periosta dönüşür, primer kemik zamanla sekonder kemiğe olgunlaşır (Breeland, Sinkler, & Menezes, 2023; Wojnar, 2010).

Fibröz bağ dokusu membranında bir kemikleşme merkezi belirir. Embriyonik iskeletteki mezenkimal hücreler farklılaşmaya başlar. Bu hücrelerden bazıları kılcal damarlara farklılaşırken, diğerleri osteojenik hücreler ve osteoblastlar haline gelir ve daha sonra bir kemikleşme merkezi oluşturur. Kemik matriksi (osteoid) fibröz membranın içinde salgılanır. Osteoblastlar, osteoid doku üretir. Daha sonra osteoid birkaç gün içinde mineralize olur ve sıkışan osteoblastlar osteositlere dönüşür. Primer kemik ve periosteum oluşur. Biriken osteoid, rastgele bir trabeküler ağ oluşturan embriyonik kan damarları arasına serilir. Vaskülerize mezenşim, primer kemiğin dış yüzünde yoğunlaşır ve periosteum haline gelir. Osteositler, kemik boyutundaki artışa doğrudan katkıda bulunma yeteneklerini kaybederler, ancak periosteum yüzeyindeki osteoblastlar, mevcut kemik yüzeyindeki doku katmanını kalınlaştıran daha fazla osteoid doku üretir. Belirgin trabeküllerden oluşan süngerimsi kemik içeride kalır ve vasküler doku kırmızı ilik haline gelir. Kemik matriks mineralizasyonu (osteoid kalsifikasyonu), kemikleri besinlere ve metabolik atıklara karşı nispeten geçirgen olmayan hale getirir. Kemik matriksi kalsifiye olur ve sonunda kemik haline gelir. Periosteum, endosteum, sutura ve periodontal ligament bulunan kemik dokusu, intramembranöz kemik oluşumuna bir örnektir (Cashman & Ginty, 2003; Clarke, 2008; Dennis, Berkland, Bonewald, & Detamore, 2015; Karaplis, 2008; OpenStax, 2013; H. Yang, 2019).

Kraniyal suturalar, bazı yüz kemikleri, mandibulanın bazı kısımları, klavikula ve kafatası kubbesinin yassı kemiklerinin gelişiminden sorumlu süreçtir. Kafatasında intramembranöz kemik oluşumunun en erken kanıtı altıncı prenatal haftada mandibulada görülür (Karaplis, 2008; H. Yang, 2019).

1.1.1.6.2 Endokondral Kemikleşme

Endokondral kemikleşme sırasında, kemikleşecek doku önce eklem ve epifizden ayrılan kıkırdaktan oluşur, perikondriumla çevrelenir ve periosteum oluşur (Karaplis, 2008). Mezenkimal veya prekondrojenik hücreler, kolajen, fibronektin ve proteoglikanları sentezleme yetenekleri bakımından fibroblastlara benzer. Kıkırdak farklılaşma sürecinin başlangıcı, kıkırdak matriksi salgılanmasından önce mezenkimal hücrelerin yoğunlaşmasıyla başlar. Mezenkimal hücreler, proliferen olan ve nihai kemiğin hem şeklini hem de pozisyonunu oluşturacak olan matriks üreten kondroblastlara farklılaşır. Uzun kemikler için embriyonik model, apozisyonel büyümeye uğrayan hiyalin kıkırdaktan oluşur.

Kıkırdak kütlenin şaftı diyafiz haline gelir, epifizler her iki uçta yer alır ve tamamen perikondrium ile çevrelenir (Sandberg, 1991). Oluşan kemiğin merkezi yönünde, kondrositlerin uzun doğrusal sütunları giderek hipertrofiye uğrar, çevredeki kıkırdak rezorbe eder ve geride kıkırdak matriksinin trabeküllerini bırakır, bunlar daha sonra mineralize olur. Kondrositler dejenere olur ve geride birbirine bağlı boşluklar bırakır (Downey & Siegel, 2006; Hermey & Marks, 1996; Sandberg, 1991).

Gelişen endokondral kemiğin çevresi boyunca, perikondrium osteojenik potansiyel geliştirir ve şaftın etrafında periost olarak bilinen ince bir kemik tabakası bırakır. Daha sonra ilkel mezenkimal hücreler ve kan damarları kondrositler dejenere olduktan sonra geriye kalan kemik şaftı içindeki boşlukları istila eder. Bu mezenkim osteoblastlara ve kemik iliği hücrelerine farklılaşır. Daha sonra osteoblastlar kalsifiye kıkırdak kalıntılarının yüzeyi boyunca katmanlaştıkça primer kemik oluşur. Orijinal kıkırdak modelin uçları artık birincil kemikleşme olarak bilinen bu süreçle ayrılmıştır. Eklem yüzeyi boyunca ince bir hiyalin kıkırdak tabakası korunurken, epifizlerde ikincil kemikleşme de meydana gelmektedir. Gelişmekte olan uzun kemiklerin diyafiz ve epifizi arasındaki sınır epifizyal veya büyüme plağıdır. Burası, kıkırdak yerini kemik alana dek, fiziksel olgunluğa kadar devam eden diyafiz ile epifizi bir araya getiren longitudinal kemik büyüme alanıdır (Downey & Siegel, 2006; Hermey & Marks, 1996; Sandberg, 1991; Urist, 1980).

1.1.1.7 Kemik Modelasyonu ve Remodelasyonu

Kemik modelasyonu, belirli bir kemik yüzeyinde osteoblastlar tarafından kemik oluşumu veya osteoklastlar tarafından kemik rezorpsiyonu olarak tanımlanır (Allen & Burr, 2014).

Kemik modelasyonu esas olarak büyüme sırasında gerçekleşir. Kemiğin dış veya periosteal yüzeyinde önceden kemik rezorpsiyonu olmadan kemik oluşumu ile kemik boyutunu artırır. Kemik şeklini genetik yapıya ve mevcut koşullara adaptif bir yanıt olarak değiştirir (Currey, 2002; Haapasalo et al., 2000; Huxley, 1925). Kemik oluşumu olmaksızın kemik rezorpsiyonu da kemik modelasyonudur ve kemiğin iç veya endosteal yüzeyinin üç bileşeninde (endokortikal, intrakortikal ve trabeküler) meydana gelir. Büyüme sırasında kemik iliği boşluğunu, kemiğin

kortikal ve trabeküler mimarisini oluşturur (Hattner, Epker, & Frost, 1965; Seeman, 2009).

Kemik remodelasyonu, aynı yerde ardışık osteoklast aracılı kemik rezorpsiyonunu ve osteoblast aracılı kemik oluşumunu içerir. Bu, kemik matriksinin yenilenmesinin ve küçük defektlerin onarımının gerçekleştiği böylece iskeletin zaman içinde yenilendiği mekanizmadır. Remodelasyon, dört kemik yüzeyinin herhangi birinde meydana gelebilir: periosteal, endosteal, trabeküler ve intrakortikal. İntrakortikal remodelasyon sırasında, osteoklast ve osteoblast grupları matriks boyunca ilerler. Bu hücre grubuna ve ilişkili kan damarlarına ‘temel çok hücreli birim’ (Basic Multicellular Unit: BMU) denir (Allen & Burr, 2014; Robling, Castillo, & Turner, 2006).

1.1.1.8 Kemik İyileşmesi ve Rejenerasyonu

Yaralanma sonrası kemik iyileşmesi karmaşık bir biyolojik ve biyomekanik süreçtir. Kemik iyileşmesi, üç aşama ile karakterize edilebilir: inflamasyon aşaması, reperasyon (onarım) aşaması ve remodelasyon aşaması (Claes, Recknagel, & Ignatius, 2012).

1.1.1.8.1 İnflamasyon Aşaması

Kemik dokusu yaralandığında, defekt bölgesindeki damarların rüptürüyle defekt bölgesinde hematoma oluşur. Hematom içindeki fibrin ağı, geçici bir matriks sağlayarak erken hücrel infiltrasyonda iskele görevi görür. İlk 24-48 saatte nötrofiller baskındır. 2-3. günden itibaren makrofajlar yanıtın başlat düzenleyicileri olur. Makrofajlar ve onların çektiği bağışıklık hücreleri (granülositler, lenfositler, monositler) çok sayıda sitokin ve kemokin salgılayarak inflamasyonu tetikler. Hematoma eşlik eden hipoksi ve hasar kaynaklı sinyaller, makrofajları M1 fenotipine yöneltir. M1 makrofajları TNF- α , IL-1 β , IL-6 gibi proinflamatuvar araçları salgılayarak nötrofiller, monositler/makrofajlar ve lenfositlerin bölgeye göçünü güçlendirir. Eşzamanlı olarak fibroblastlar, MSC’ler ve osteoprogenitörleri toplar. Bu yanıt, anjiyojenik faktörlerin üretimini artırarak anjiyogenezi tetikler. Anjiyogenez ile yeni damarlar defekte invaze oldukça pıhtı, granülasyon dokusuna dönüşür. Oksijenlenmenin artmasıyla makrofajlar M1’den M2’ye kayar; IL-4, IL-10 ve TGF- β gibi anti-inflamatuvar mediyatörler baskınlaşır. Böylece inflamasyon

özölerek süreç onarım (reparasyon) aşamasına ilerler (Crane & Cao, 2014; Loi et al., 2016; Marsell & Einhorn, 2011; Zhu et al., 2021).

1.1.1.8.2 Onarım (Reperasyon) Aşaması

İnflamasyon aşamasını takiben kemikte anabolik ve onarıcı süreçler giderek güçlenir. Bu evrede fibroblastlar, kondrositler ve osteoblastlar baskın hücrelerdir. Granülasyon dokusunda yer alan fibroblastlar, osteoprogenitör hücreler ve MSC'ler, sitokinler ve hipoksik mikro çevrenin etkisiyle proliferer olur, yoğunlaşır ve farklılaşır. Fibroblastlar fibröz matriks salgılayarak dokunun mekanik dayanımını artırır. Erken granülasyonda tip III kolajen zengindir, olgunlaştıkça tip I kolajen baskın hâle gelerek ilerleyen osteoid birikimi ve mineralizasyon için zemin sağlar (Einhorn & Gerstenfeld, 2015; Schindeler, McDonald, Bokko, & Little, 2008; Zhu et al., 2021).

Mekanik stabilite ve gerilim düzeyi, iyileşmede oluşacak dokunun başlıca belirleyicisidir. Stabilize subperiostal alanlarda çoğunlukla intramembranöz ossifikasyon, daha yüksek gerilim ve mikro mobilitenin söz konusu olduğu kansellöz ve interkortikal bölgelerde endokondral ossifikasyon baskın olarak gözlenir (Bahney et al., 2019; Einhorn & Gerstenfeld, 2015).

Endokondral yolda MSC'lerin kondrosite farklılaşması ile avasküler yumuşak kallus oluşur. VEGF ve BMP sinyalleri anjiyogenezi ve mineralizasyonu başlatır. Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ve matriks metalloproteinaz-13 (MMP-13) kıkırdak matriksini degrade eder. Bunu takiben osteoblastların tip I kolajen sentezi artar ve sert kallus oluşur (Stickens et al., 2004; Vu & Werb, 2000).

Intramembranöz kemikleşme periosteumda meydana gelir ve doğrudan sert kallus oluşturur. Periosteal MSC'ler osteoprogenitör hücrelere farklılaşır, bu hücreler çoğalır ve doğrudan primer kemik oluşturan osteoblastlara farklılaşır (Kenkre & Bassett, 2018; Maruyama et al., 2020).

Reperasyon aşaması, genelde ~5.–21. günler arasında yumuşak kallus gelişimiyle başlar ve ~3.–12. haftalar boyunca sert kallusa dönüşerek sürer (Einhorn & Gerstenfeld, 2015; Marsell & Einhorn, 2011).

1.1.1.8.3 Remodelasyon Aşaması

Remodelasyon (yeniden şekillenme) evresi, kemik iyileşmesinin son aşamasıdır. Sert kallusun, primer kemik yapısından sekonder kemik mimarisine

yeniden organizasyonu ve spongiyöz (kansellöz) kemiğin trabeküler ağının mekanik yüklenmeye uyum sağlayacak şekilde yeniden düzenlenmesi ile karakterizedir (Einhorn & Gerstenfeld, 2015; Hadjidakis & II, 2006).

Remodelasyon evresinde osteoklast–osteoblast etkileşimi başlıca M-CSF/CSF1R ve RANKL/RANK/OPG eksenleriyle yürür. M-CSF, osteoblast kökenli hücreler ile kemik iliği mezenkimal stromal hücrelerinden salınır. RANKL’ın fizyolojik başlıca kaynağı osteositlerdir; osteoblast ve kemik yüzey hücreleri de katkı verir. Bu iki ligand, sırasıyla CSF1R ve RANK üzerinden miyeloid öncülerin osteoklasta farklılaşmasını desteklerken, OPG çözünebilir bir “tuzak reseptör” olarak RANKL’ı nötralize edip süreci dengeler (Boyle, Simonet, & Lacey, 2003; Nakashima et al., 2011). Remodelasyon yalnızca tekil yollarla değil, sitokin ve büyüme faktörü ağları ile düzenlenir: interlökinler, IFN- γ , TNF- α , BMP’ler, VEGF ve TGF- β farklı zamanlarda anabolik veya katabolik etkilere sahip olabilir (Bahney et al., 2019; Einhorn & Gerstenfeld, 2015). Geniş hacimli defektlerde biyolojik kapasite yetersiz kalır ve kemik rejenerasyonu ile spontan iyileşme sınırlı olur (Roseti et al., 2017; Zhu et al., 2021).

1.1.2 Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR), kemik greftleri ile veya kemik greftleri olmaksızın bariyer membranların kullanıldığı cerrahi bir işlemdir. YKR ile kemik rejenerasyonu, pluripotent ve osteojenik hücrelerin kemik defekt bölgesine göç etmesine ve kemik oluşumunu engelleyen epitel hücreleri ve fibroblastların dışlanmasına bağlıdır. Çalışmalar, bariyer membran ile konak kemik arasında oluşan kapalı alanın hücre oklüzyonunu sağladığını ve çok yönlü osteojenik hücrelerin göçü için bir alan yarattığını göstermektedir (J. Liu & Kerns, 2014; A. Lundgren, Sennerby, & Lundgren, 1998; A. K. Lundgren, Lundgren, & Taylor, 1998; D. Lundgren, Lundgren, Sennerby, & Nyman, 1995).

YKR tekniği ilk olarak 1988 yılında Dahlin tarafından ortaya atılmıştır; defektli kemiğin rejenerasyonu amacıyla yumuşak dokuyu kemik defektinden mekanik olarak dışarıda tutmak için greft ve bariyer membran uygulamıştır (Dahlin et al., 1988). İyileşmeyi teşvik etmek amacıyla izole bir anatomik bölge oluşturma kavramı ilk olarak, selüloz asetat filtrelerinin sinir ve tendonların rejenerasyonu için deneysel olarak kullanılmasıyla ortaya atıldı (ASHLEY et al., 1959; Campbell, Bassett, Girado, Seymour, & Rossi, 1956). Murray ve ark. köpeklerde femoral

defektlerin üzerine yerleştirilen plastik kafeslerin altında yeni kemik oluştuğunu bildirmişlerdir (Murray, Holden, & Roschlau, 1957). Kraniyofasiyal bölgede, tavşanlarda çene kemiği defektleri ve ratlarda kraniyal defektler üzerine mekanik bariyerlerin yerleştirilmesiyle de başarılı sonuçlar bildirilmiştir (Kahnberg, 1979; Melcher, 1969).

YKR konseptinin teorisi, çeşitli hücrelerin farklı göç hızlarına dayalı olarak bariyer membran yoluyla epitel hücrelerini ve bağ dokusu hücrelerini kemik defekti alanından seçici olarak uzak tutmak; osteoblastların kemik indüksiyonunu ve rejenerasyonunu tamamlamak için kemik defekti alanına girmesine izin vermektir. Bu sırada kemik greft malzemeleri kemik defekt bölgesine iskele olarak yerleştirilerek osteoblast ve osteositlerin yeni kemik oluşturmaya rehberlik eder. Bu yöntem kullanılarak kemik defektinin olduğu bölge otolog kemik ve/veya kemik greftleri ile doldurulduktan sonra bir membran ile kaplanır (Retzepi & Donos, 2010). Başarılı bir YKR'ye ulaşmak için 4 ana prensip tanımlanmıştır: (1) primer kapatma, (2) anjiyogenezis, (3) defekt alanın korunması ve (4) stabilite (Wang & Boyapati, 2006). Bariyer membran altında boşluk bırakmak için başka bir teknik kullanılırsa, YKR prosedürleri kemik grefti ile veya kemik grefti olmadan başarıyla gerçekleştirilebilir (McAllister & Haghighat, 2007).

Membranın altında oluşan kan pıhtısı büyüme faktörlerini (örn. trombosit kaynaklı büyüme faktörü) ve sitokinleri salgılar ve onun yerini alacak olan vasküler granülasyon dokusu için bir prekürsör görevi görür (Schenk et al., 1994; Tsiroidis, Upadhyay, & Giannoudis, 2007).

Membranlar, YKR yaklaşımının önemli bir unsurudur; epitelyal ve bağ dokusu hücrelerine karşı bir bariyer görevi görebilir ve kemik oluşumu için alanı koruyabilirler (Sculean, Nikolidakis, & Schwarz, 2008).

1.1.2.1 Ağız, Diş ve Çene Cerrahisinde YKR Uygulamaları

Kemik defektleri genellikle tümör rezeksiyonu, konjenital malformasyon, travma, kırıklar ve geçirilmiş cerrahi operasyonun yanı sıra osteoporoz veya artrit gibi hastalıklardan kaynaklanır. Kronik dental hastalıklar ve diş kaybı genellikle çenedeki sert dokunun kaybına yol açar. Enfeksiyonlar veya iltihap nedeniyle eksik dişleri olan hastaların, çenenin etkilenen kısmında kemik kayıpları görülebilir. Bu kemik kaybı, hastayı rahatsız etmenin yanı sıra, istenmeyen şekil bozukluklarına neden olabilir. Dental implantların ve diğer dental tedavilerin uygulanmasını

zorlaştırabilir. Dental implantlar diş eksikliklerinden kaynaklanan ağız fonksiyonlarını iyileştirmek için etkili bir tedavi olarak hizmet etse de, birçok hasta implant yerleştirmek için yeterli kemik hacmine sahip değildir (Jimi et al., 2012; Spin-Neto, Marcantonio, Gotfredsen, & Wenzel, 2011). Oral implantolojide, implant alanındaki alveol kemiğinin kalitesi ve hacmi; implant konumunu, birincil stabiliteyi, yumuşak doku şeklini ve tatmin edici bir protez yapılabilmesini etkiler (Bassir, Alhareky, Wangsrimongkol, Jia, & Karimbux, 2018). Ancak birçok hastada alveolar kemik yüksekliği ve genişliği yetersizdir; bu nedenle çene cerrahları, implant tedavisinden önce kemik arttırma işleminin gerekli olduğu durumlarda sıklıkla zorluklarla karşılaşır (Dahlin & Johansson, 2011).

Alveoler kemik yetersizliğini tedavi etmek için onlay ve inley greftleme, serbest vaskülarize otogreftler, distraksiyon osteogenezisi, maksiller sinüs greftleme, kret split ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu gibi farklı teknikler mevcuttur (Aghaloo & Moy, 2007). Alveolar kemik augmentasyonu tedavileri arasında YKR en fazla belgelenen yöntemlerden biridir ve uzun dönem takip çalışmalarında güçlü karşılaştırılabilir kanıt tabanına sahip yöntemdir (Aghaloo & Moy, 2007; Aprile et al., 2020; Dimitriou et al., 2012; C. H. Hämmerle, Jung, & Feloutzis, 2002).

1.1.2.2 Kemik Graft Materyalleri

Kemik grefti, kemik iyileşmesini artıran ve kemik defektinde tek başına veya diğer materyallerle birlikte nakledilen bir doku olarak tanımlanır. Bugüne kadar hem ortopedik hem de maksillofasiyal cerrahide sentetik ve doğal olmak üzere birçok farklı kemik greft materyalleri kullanılmıştır (Cypher & Grossman, 1996; Elsalanty & Genecov, 2009).

Diş hekimliğinde kemik greftleri ve ikamelerinin kullanımı, dental implantolojideki gelişmeler ve kraniyofasiyal kemik defektlerinin onarımına olan ihtiyacın artması nedeniyle son yıllarda belirgin şekilde artmıştır. Kemik defektleri travma, periodontal hastalık, cerrahi eksizyon, enfeksiyon veya konjenital malformasyonlar ve ağız kanserinden kaynaklanabilir (Elsalanty & Genecov, 2009).

Kemik rejenerasyonu için ideal greft materyali aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (Janicki & Schmidmaier, 2011):

1. Osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif özellikler,

2. Neoanjiyogenezis uyarımı,
3. Antijenik, teratojenik veya kanserojen reaksiyonların olmaması,
4. Yeterli miktarda temin edilmesi,
5. Tatmin edici destek ve stabilite,
6. Minimum morbidite ve komplikasyon,
7. Hidrofilik yapı,
8. Kolay kullanım,
9. Düşük maliyet

İdeal bir kemik grefti ise biyouyumlu, rezorbe olabilen, steril ve kullanımı kolay olmalıdır. Mekanik destek sağlamasının yanı sıra osteogenez, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon gibi üç önemli özellik aracılığıyla kemik rejenerasyonunu uyarabilmelidir (W. Wang & Yeung, 2017; Zhao et al., 2021).

Kemik rejenerasyonu üç farklı mekanizma ile gerçekleştirilebilir: osteogenez, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon. Osteogenez, greftin içinde bulunan canlı osteoblastlar ve osteoprogenitör hücrelerin doğrudan yeni kemik dokusu sentezlemesidir. Osteoindüksiyon, bir greft materyalinin farklı biyokimyasal faktörler aracılığıyla konak organizmasını yeni kemik dokusu oluşturmaya teşvik etme özelliğidir. Osteokondüksiyon, uygun bir üç boyutlu alan veya fiziksel matriks alanı sağlayarak osteoblastların ve konak kök hücrelerinin içe doğru büyümesi için bir iskele sağlama yeteneğini ifade eder (Ciszyński, Dominiak, Dominiak, Gedrange, & Hadzik, 2023; Misch & Dietsh, 1993; Zhao et al., 2021).

Kemik greft materyalleri otogreftler, allogreftler, ksenogreftler ve alloplast (sentetik) olarak sınıflandırılabilir. Tüm greft materyalleri bu üç etki mekanizmasından bir veya daha fazlasına sahiptir. Greftlerin etki ettiği mekanizmalar köken ve bileşimleri tarafından belirlenir (J. Liu & Kerns, 2014).

1.1.2.2.1 Otojen Greftler

Otojen kemik grefti, osteogenez, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon yoluyla yeni kemik oluşturur ve kemik rejenerasyon işlemlerinde altın standart kabul edilir. Ancak donör saha morbiditesi, sınırlı miktarda bulunması ve öngörülemeyen greft rezorpsiyonunun olması dezavantajları arasındadır (E Nkenke et al., 2004; Turco et al., 2018).

Ağız, diş ve çene cerrahisinde en sık kullanılan otogreft sahaları arasında ekstraoral olarak: iliak krest, kalvaryum, kosta, tibia ve fibula; intraoral olarak:

mandibular ramus, mandibular simfiz tuber maksilla, koronoid çıkıntı ve zigomatik butres bölgesi gibi çeşitli anatomik donör bölgeler mevcuttur (Carlsen, Gorst-Rasmussen, & Jensen, 2013; E Scheerlinck et al., 2013; Emeka Nkenke & Neukam, 2014; Starch-Jensen, Deluiz, Deb, Bruun, & Tinoco, 2020).

1.1.2.2.2 Allogreftler

Allojenik kemik grefti hem osteoindüktif hem de osteokondüktif özelliklere sahip olabilir. Aynı türden, ancak farklı genotiplere sahip canlı veya kadavra donörlerden elde edilebilir. Taze ve/veya dondurulmuş (fresh-frozen) allojenik kemik, daha fazla osteoindüktif ve mekanik özellikler gösterme eğiliminde olsa da daha kısa kullanılabilirlik süresi, bulaşıcı hastalık riski ve konak immünojenite riskiyle de ilişkilidir (Ciszyński et al., 2023; Roberts & Rosenbaum, 2012).

Allogreft materyalleri: taze, taze dondurulmuş (fresh-frozen) ya da liyofilize (freeze-dried) formlarda bulunabilir. Liyofilize allogreftler işlem tipine göre dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (FDBA) veya demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DFDBA) formlarda sınıflanır. Doku tipine göre kortikal, kansellöz ya da kortikokansellöz kemik dokusu içerebilir. Bunlara ek olarak, allogreftlerin işlenmesi klinikte kullanılabilir farklı türevlerin elde edilmesini sağlamıştır (örn.: otolize edilip antijenleri uzaklaştırılmış allojenik kemik ve kemik kökenli deselülerize ekstrasellüler matriks) (Ciszyński et al., 2023; Gruskin, Doll, Futrell, Schmitz, & Hollinger, 2012; Zhao et al., 2021).

1.1.2.2.3 Ksenogreftler

Ksenogreftler, genetik olarak farklı bir türden elde edilen greftlerdir (Kao & Scott, 2007). Osteokondüktif özellikleri, esas olarak hidroksiapatitten oluşan inorganik yapılarından kaynaklanır. Bu yapı tüm organik bileşenlerin uzaklaştırılmasıyla elde edilir. Ksenogreftler en çok sığır (bovin) ve domuz (porcin) kökenlidir; ek olarak at (ekuin) kaynaklı ürünler de mevcuttur. Ksenojenik greftlerin bir avantajı, hidroksiapatit temelli inorganik yapılarının insan kemik mineraline yakın kimyasal bileşim sunmasıdır. Başlıca sınırlılıkları ise işlemlerle büyük ölçüde azaltılmış olsa da hastalık bulaşma riskine ilişkin endişelerdir (Bucchi et al., 2019; Ferraz, 2023; Zhao et al., 2021).

1.1.2.2.4 Alloplastlar

Alloplastik greftler, canlı bir kaynaktan elde edilmeyen sentetik kemik ikame materyalleridir. Biyoaktif cam, HAp, trikalsiyum fosfat (TCP) ve kalsiyum sülfat gibi kalsiyum ve diğer elementlerin birleştiği çeşitli malzemeler kullanılır (Ashfaq, Kovács, Berkó, & Budai-Szűcs, 2024; Kumar, Vinitha, & Fathima, 2013). Alloplastik greft materyalleri osteogenez ve osteoindüksiyon özelliklerinden yoksun olmakla birlikte, osteokondüksiyon özelliğine sahiptir. Hacim koruma kapasitesiyle boyutsal stabilite sağlar, poröz yapıları hücre infiltrasyonuna ve yeniden şekillenmeye (remodelling) olanak tanırken, donör kökenli hastalık bulaşma riski yoktur (Fukuba, Okada, Nohara, & Iwata, 2021; Titsinides, Agrogiannis, & Karatzas, 2019).

1.1.2.3 Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunda Kullanılan Membranlar

YKR teknikleri kemik rejenerasyonu için neredeyse daima kemik grefti ve diğer kemik ikameleriyle birlikte uygulanmaktadır (Aprile et al., 2020; Dimitriou et al., 2012). Başlangıçta YKR tekniğinin konsepti, kemik rejenerasyonu için izole anatomik alan oluşturmak amacıyla bariyer materyallerinin uygulanmasıydı (Dahlin et al., 1988).

YKR ameliyatından sonraki ilk 24 saat boyunca, yara boşluğu başlangıçta bir kan pıhtısı ile dolar, bu daha sonra nötrofiller ve makrofajlar tarafından emilir ve granülasyon dokusu ile değiştirilir. Granülasyon dokusu, mezenkimal kök hücreler ve kan damarları açısından zengindir. Besin maddelerinin ve hücrelerin bölgeye ulaşmasını sağlayarak osteoidi oluşturur. Minerallerin birikmesi takip eder ve daha sonra etrafında kemik birikmeye devam eden primer kemik oluşur ve bunun sonucunda lameller kemik oluşur. Yeni kemik, YKR'den sonra 4 hafta kadar erken bir sürede oluşmaya başlayabilir ve büyük ölçüde anjiyogeneze dayanır (C. Hämmerle, Schmid, Olah, & Lang, 1996; Schmid et al., 1997).

Membranların birincil rolü, epitel ve bağ dokusu hücrelerini rejenerasyon yapılacak yara bölgesinden dışlamak; çok potansiyelli ve osteojenik hücrelerin serbestçe göç edebileceği alanı yaratmak ve korumaktır (C. H. Hämmerle & Jung, 2003; Linde, Alberius, Dahlin, Bjurstam, & Sundin, 1993). Okluziv bariyerler olarak kullanılan membranlar ilk olarak Hurley ve ark. tarafından spinal füzyonlarda tanımlanmıştır (Hurley, Stinchfield, Bassett, & Lyon, 1959).

YKR'de yerleştirilen bariyer membranlar: (1) yumuşak dokunun defekte çökmesini önleyerek gerekli hacmin korunmasını ve kan pıhtısının stabilizasyonu ile erken anjiyogenezin desteklenmesini sağlar; (2) epitel ve fibroblast gibi osteojenik olmayan hücrelerin girişini dışlayıp osteojenik hücre göçüne olanak tanır; (3) böylece hematomanın düzenli organizasyonu ve yeni kemik oluşumu için korunaklı bir alan oluşturur; (4) ayrıca büyüme faktörlerinin lokal tutulumu ve taşınması için taşıyıcı olarak işlev görebilir (Buser, Urban, Monje, Kunrath, & Dahlin, 2023; Dimitriou et al., 2012).

Tıbbi ve malzeme bilimi ve teknolojisindeki gelişmelerle, özellikle 1990'lı yılların başında doku mühendisliğinin ilerlemesiyle, skafold ve bariyer membran malzemeleri, kök hücreler, sitokinler veya büyüme faktörleri gibi daha fazla unsur YKR tekniklerine dahil edilmeye başlandı (Langer et al., 1995; B. Wang, Feng, Liu, Mi, & Dong, 2022).

YKR membranı olarak kullanılacak fonksiyonel bir ürünün başarılı bir şekilde tasarlanması şu özelliklere bağlıdır: 1) biyouyumluluk, 2) hacim koruma özelliği, 3) epitel ve bağ dokusu hücre göçünü önleme, 4) kolay kullanım ve 5) doku dostu özellik (Caballé-Serrano et al., 2018; Elgali, Omar, Dahlin, & Thomsen, 2017; Omar, Elgali, Dahlin, & Thomsen, 2019).

Klinik uygulamalarda çeşitli işlevlere hizmet etmek üzere çok sayıda bariyer membran geliştirilmiştir. Bunlar biyobozunur veya biyobozunur olmayan membranlar olarak gruplandırılabilir. Membranların biyomateryal özellikleri nihayetinde işlevlerini etkiler, materyalin seçimi membranın biyolojik özelliklerine ve tedavi gereksinimlerine dayanır (Garg, 2011).

1.1.2.3.1 Biyobozunur Olmayan Membranlar

Biyobozunur olmayan membranlar arasında politetrafloroetilen (PTFE) ve titanyum meş bulunur. Bu membranlar biyoyumluluk açısından etkili bir bariyer işlevi sağlar, membranın altındaki alanı yeterli bir süre koruyabilir, performansları daha öngörülebilirdir, uzun vadeli komplikasyon riski daha düşüktür ve klinik olarak yönetimi kolaydır. Yapıları, daha uyarlanabilir ve dokuya uyumlu bir alternatif olması halinde porozitelerindeki değişikliklerle çeşitlendirilebilir ve birden fazla tasarım ticari olarak mevcuttur (De Macedo, De Macedo, & Monteiro, 2008; Garg, 2011; J. Zhang et al., 2010).

Ancak, biyobozunur olmayan membranlar çeşitli dezavantajlara sahiptir. Sertlikleri yumuşak dokuda ekspozu neden olabilir ve bu da membranın açığa çıkmasına ve ardından enfeksiyona yol açabilir (Almutairi, 2018; Ghensi et al., 2017). Ek olarak, biyobozunur olmayan membranları çıkarmak için ikinci bir ameliyat gerekir, bu da hasta konforunu azaltır ve daha yüksek ekonomik yüke neden olur (Chiapasco & Zaniboni, 2009; McAllister & Haghighat, 2007).

PTFE, kimyasal ve biyolojik olarak inert, enzimatik ve mikrobiyolojik aktivitelere karşı dayanıklı bir polimerdir (Marouf & El-Guindi, 2000).

Genişletilmiş politetrafloroetilen (e-PTFE): PTFE'nin yüksek gerilme mukavemetine tabi tutulması ve ardından sinterlenmesi ile malzeme yapısında 5 ila 20 mikron arasında poroziteler olacak şekilde sentezlenir (J. Liu & Kerns, 2014). e-PTFE membranların yapısı, açık bir mikro yapı (100-300 µm porözite) ve tıkayıcı bir yapı (<8 µm porözite) olmak üzere iki farklı bölümden oluşur. Poröz mikro yapı, kolajen fibrillerinin büyümesini teşvik ederek membran stabilitesini artırır ve porozitelerden besin difüzyonuna izin verir; bu da ilk iyileşme döneminde daha fazla yeni kemik oluşumunu uyarır. Buna karşılık, tıkayıcı kısım sıvılara karşı nispeten geçirimsizdir ve yumuşak doku hücrelerinin kemik büyümesi alanına göçünü tamamen engeller (Gutta, Baker, Bartolucci, & Louis, 2009; A. K. Lundgren et al., 1998; Rakhmatia, Ayukawa, Furuhashi, & Koyano, 2013; Zellin & Linde, 1996).

Yoğun politetrafloroetilen (d-PTFE): Yoğun politetrafloroetilen (d-PTFE) membranlar, genişletilmiş politetrafloroetilen membranlardaki komplikasyonların üstesinden gelmek için 1993 yılında tanıtıldı (Madhuri, 2016). d-PTFE membranın yüksek yoğunluğu ve küçük porözite boyutu (0,2 µm) nedeniyle, kemik ogmentasyon bölgesine bakteriyel infiltrasyonu ortadan kaldırılır ve bu da alttaki greft materyalini ve/veya implantı açığa çıkmaktan korur (Carbonell et al., 2014; Gutta et al., 2009; Ronda, Rebaudi, Torelli, & Stacchi, 2014).

Titanyum takviyeli politetrafloroetilen (Ti-PTFE): Titanyum takviyeli politetrafloroetilen membranlar, titanyumun genişletilmiş veya yoğun politetrafloroetilen ile takviye edilmesiyle yapılır. Titanyumun PTFE'ye dahil edilmesi ile korozyona dayanıklı, biyouyumlu ve yüksek mukavemetli bir malzeme sunar. Böylece, mekanik stabilizeyi artırır, boşluklu yapıyı ve büyük defektlerde alanın devamlılığını korur. Bariyer membranların çökmesini önler. Ti-PTFE membranların faydaları olmasına rağmen, çalışmalar takviyesiz PTFE

membranların korunan geniş alanda kan pıhtılarını stabilize edebildikleri için daha avantajlı olduğunu göstermiştir (Cucchi & Ghensi, 2014; Windisch, Orban, Salvi, Sculean, & Molnar, 2021).

PTFE membranların, kolajen üretimini ve glikozaminoglikan (GAG) birikimini azalttığı gösterilmiştir; bu da biyobozunur olmayan membranların yumuşak doku kapanmasına yardımcı olmadığını ve üstteki dokunun iyileşmesini yavaşlatabileceğini göstermektedir (Locci et al., 1997).

Titanyum (Ti) Meş Membran: Titanyum meş membranlar 1969 yılında geliştirilmiştir. Sertlik, elastikiyet, aşınma direnci, şekil verilebilirlik ve hafiflikle birlikte yüksek mukavemet gibi mekanik özelliklere sahiptirler. Üstün mekanik özelliklere sahip oldukları için daha büyük kemik defektlerinde kullanılabilirler. Düşük yoğunluğu ve daha yüksek elastikiyeti nedeniyle, kolayca bükülebilir ve defektin istenen şekline uyarlanabilir (Rakhmatia et al., 2013). Birçok avantajı olmasına rağmen, bu membranların bazı dezavantajları vardır, örneğin sertliklerinin artması nedeniyle, membranın keskin uçları nedeniyle dişeti dokusu perforasyonu nedeniyle membranın ağız boşluğuna ekspoz olma olasılığı daha yüksektir. Ayrıca, bu membranların çıkarılması için ikincil cerrahi gereklidir (Jin Li et al., 2021).

Genellikle mini vidaların kullanımına, biyobozunur olmayan membranların ekstra stabilizasyonu için ihtiyaç duyulur (Soldatos et al., 2017).

1.1.2.3.2 Biyobozunur Membranlar

Biyobozunur olmayan bariyer membranların dezavantajlarının üstesinden gelmek için biyolojik olarak parçalanabilir niteliklere sahip bariyer membranlar geliştirilmiştir. Biyobozunur membranların avantajları ise çıkarılması için ekstra bir cerrahi prosedür gerekmemesi sebebiyle maliyet, zaman ve komplikasyonların azalmasıdır. Bu membranlar çoğunlukla ya doğal kolajenden ya da sentetik olarak alifatik poliestерlerden üretilmektedir (Jo & Oh, 2018).

1.1.2.3.2.1 Doğal Biyobozunur Membranlar

Kolajen Membran: Kolajen membran düşük antijenite, yüksek biyouyumluluk ve mükemmel hücre afinitesi avantajlarına sahiptir. Ancak saf kolajen fiziksel özelliklerinin yetersizliği nedeniyle kullanım zorluğu dezavantajına sahiptir ve hızlı bir şekilde bozulur (Chu, Deng, Sun, Qu, & Man, 2017; S.-W. Lee & Kim, 2014; Verissimo et al., 2015). İnsan, domuz veya sığırın epidermis, dermis,

tendon veya perikardından elde edilir. Kolajen tipleri arasında Tip I veya Tip III, ticari olarak mevcut doğal biyobozunur membranların çoğunun ana bileşenidir. Tip I kolajen, kalsifiye organik kemiğin ECM'sinde %90, bağ dokusunda %80 ve vücutta bulunan toplam proteinlerin %25'ini oluşturarak tüm kolajenler arasında en bol bulunanı olduğu için geniş bir uygulama alanına sahiptir (Bunyaratavej & Wang, 2001).

Jelatin Membran: Jelatin, kısmen denatüre kolajenden elde edilen çözünür bir proteindir. Kolay bulunabilirliği, kullanım kolaylığı ve düşük maliyeti nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Hücre adezyonu, büyüme stimülasyonu, yapışkanlık, esneklik, üstün biyouyumluluk ve maliyet etkinliği gibi olumlu özellikleri doku rejenerasyonu için umut verici bir biyomateryal haline getirmektedir. Bununla birlikte, jelatin düşük mekanik mukavemete sahiptir (Isik, Hasirci, Tezcaner, & Kiziltay, 2020; S. Zhang et al., 2009).

Kitosan Membran: Kitosan, kimyasal olarak katyonik bir alkalın lineer polisakkarittir. Kitin deasetilasyonu yoluyla üretilir ve uygun bozunma hızı, hemostatik yeteneği, yara iyileşmesi potansiyeli, antijenik olmaması, ıslak koşullarda esnekliği, antimikrobiyal aktivitesi, yüksek biyouyumluluğu ve maliyet verimliliği nedeniyle üstün bir materyaldir. Kimyasal çapraz bağlama, mekanik mukavemetini artırmak ve bozunma oranını azaltmak için etkili bir yaklaşımdır (Amin et al., 2022; S. B. Qasim, Najeeb, Delaine-Smith, Rawlinson, & Rehman, 2017; C. Xu, Lei, Meng, Wang, & Song, 2012).

İpek Fibroin Membran: İpek fibroin genellikle örümceklerden veya ipek böceklerinden elde edilen doğal bir proteindir. Oksijen ve su geçirgenliği, daha az inflamatuvar reaksiyon, iyi biyouyumluluk ve biyobozunurluk özelliklerine sahiptir. Bu nedenle, periodontal ve kemik rejeneratif uygulamalar için aday bir materyal olarak kabul edilmiştir (Amin et al., 2022; Geão et al., 2019).

1.1.2.3.2.2 Sentetik Biyobozunur Membranlar

Polikaprolakton (PCL), poliglikolik asit (PGA) ve polilaktik asit (PLA); bu polimerlerin kopolimerleri [örneğin; poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) ve poli(laktid-ko-kaprolakton) (PLCL)] gibi biyobozunur olan alifatik poliestерler de bariyer membran olarak kullanılmaktadır (Abe et al., 2020; Annunziata, Nastri, Cecoro, & Guida, 2017; Geurs et al., 2008; Z. Wang et al., 2019). Polimer bozunumu, ana zincir bağlarının kopmasıyla sonuçlanan ve daha kısa oligomerler,

monomerler ve/veya diğer düşük moleköl ağırlıklı bozunma ürünleri üreten kimyasal reaksiyon olarak tanımlanmaktadır (Göpferich, 1996).

Sentetik biyobozunur materyaller, enzimatik veya enzimatik olmayan ya da her ikisinin birlikte işlediği mekanizmalarla in vivo olarak bozunuma uğrayarak biyoyouumlu ve toksikolojik açıdan güvenli yan ürünler oluşturur. Bu yan ürünler trikarboksilik asit döngüsü ve β -oksidasyon yolları üzerinden, CO_2 ve H_2O 'ya kadar metabolize edilir. Metabolitler renal ve pulmoner yol ile elimine olur (Rosato et al., 2022; Woodard & Grunlan, 2018). İdeal bir biyobozunur membran materyalinde, yeni kemiğin membrana doğru rejenere olmasıyla doğal olarak bir altyapı oluşturur. Başlangıçtaki destekleyici membran bozunur, mekanik stres ve gerilim yeni doku yapısına aktarılır (Athanasίου, Agrawal, Barber, & Burkhart, 1998). Kopolimerleri ve karışımları FDA tarafından klinik kullanım için onaylanmış olup, toksik olmayan doğal metabolitlere hidrolize edilerek normal fizyolojik süreçlerle vücuttan atılmaktadır (Kai, Liow, & Loh, 2014; Xing, Han, Shin, & Kang, 2011). Bu nedenle, sentetik ve doğal bazlı polimer kullanan kompozit malzemeler, biyolojik performanslarını iyileştirmek için giderek daha fazla geliştirilmekte ve tasarlanmaktadır (V. Correlo et al., 2009; V. M. Correlo et al., 2005).

Poliglolik asit: PGA, yüksek erime noktasına (220-225 °C) ve yaklaşık 35-40 °C'lik cam geçiş sıcaklığına sahip, oldukça kristalin (%45-55) bir polimerdir (Nakafuku & Yoshimura, 2004; Soni et al., 2010). En yaygın sentez yöntemi, oligomerlerden hazırlanan bir tür siklik diester monomer olan glükolidlerin halka açılma polimerizasyonudur. 255 °C'de düşük termal kararlılık nedeniyle, işleme sırasında kantitatif ayrışma meydana gelebilir ve çeşitli malzeme özellikleri etkilenebilir (Gautier, Fuertes, Cassagnau, Pascault, & Fleury, 2009). PGA, farklı PGA/PLA oranına sahip PLA ve PLGA'ya kıyasla daha hızlı bozunma oranına ve daha yüksek mekanik özelliklere sahiptir. PGA, yüksek kristalinitesi nedeniyle birçok çözücünde çözünmez ancak hekzafloroizopropanol (HFIP) gibi yüksek florlu çözücülerde 45.000 g/mol molar kütleye kadar çözünür (Budak, Sogut, & Aydemir Sezer, 2020; Middleton & Tipton, 2000). PGA, PLA'ya benzer bir yapıya sahiptir ancak daha yüksek ısıl bozulma sıcaklığına, daha yüksek mekanik özelliklere, özellikle yüksek gaz bariyer özelliklerine sahiptir (Jem & Tan, 2020). PGA'nın kopma uzaması %10'dan ve çentik darbe dayanımı 4 kJ/m²'den daha düşüktür. Bu içsel kırılma, PGA'nın daha geniş bir uygulama alanı bulmasının önündeki en

büyük engeldir. PGA'nın kırılabilirliği, elastomerik polimerler veya akrilik darbe modifiye edicilerle karıştırılarak iyileştirilebilir (Niu et al., 2021). PGA'nın bozunma ürünlerinin eliminasyonu iki fizyolojik yolu izleyebilir: trikarboksilik asit döngüsünden (TCA) geçtikten sonra karbondioksit ve su olarak atılırlar ya da renal yolla atılırlar (P. A. Gunatillake & Adhikari, 2003). PGA, su alımıyla başlayan hidrolitik bozunmaya uğrar; bunu polimer zincirindeki ester bağlarının rastgele kopması izler. Bozunma ilerledikçe oluşan karboksilik uç grupları asit kataliziyle hidrolizi hızlandırır ve süreç otokatalitik bir karakter kazanır (Göpferich, 1996).

Polilaktik asit: PLA, yüksek biyobozunurluğa, biyouyumluluğa ve iyi mekanik özelliklere sahip bir termoplastiktir (Auras, Harte, & Selke, 2004). Polilaktik asit bir poli α -hidroksi esterdir ve farklı uygulamalar için çeşitli sınıflarda üretilen çok amaçlı biyolojik olarak parçalanabilir bir polimerdir. Laktik asit kiral bir moleküldür ve farklı izomerlere sahiptir. Polilaktik asit, bu polimerin saf poli-L-laktik asit (PLLA), saf poli-D-laktik asit (PDLA) ve poli-D,L-laktik asit (PDLLA) gibi farklı sınıflarına aittir (Griffith, 2000). Alifatik polimerler arasında PLA, termal plastisite, yeterli mekanik özellikler ve biyouyumluluk nedeniyle biyobozunur membran uygulamalarında kullanılır (Asano, Matsuno, Tabata, & Satoh, 2013; Casalini, Rossi, Castrovinci, & Perale, 2019; Gentile et al., 2011).

Polikaprolakton: PCL, ham petrolden üretilen sentetik biyobozunur bir poliesterdir. Suya, yağa, çözücüye ve kloro karşı iyi bir dirence sahiptir. PCL, hidrofobik, yarı kristalin bir polimerdir. -60 °C'lik bir cam geçiş sıcaklığına (T_g) ve 59 ile 64 °C arasında değişen bir erime noktasına sahiptir ve bu, PCL'nin nispeten düşük sıcaklıklarda kolay şekillendirilebilirliğini sağlayan kristal yapısı tarafından belirlenir. PCL numunelerinin sayısal ortalama molekül ağırlığı genellikle 3000 ila 90.000 g/mol arasında değişebilir ve molekül ağırlığına göre derecelendirilebilir. Kristalinitesi, artan moleküler ağırlıkla birlikte azalma eğilimindedir. PCL'nin iyi çözünürlüğü, düşük erime noktası ve yüksek karışım uyumluluğu, biyomedikal alandaki potansiyel uygulamalarına yönelik kapsamlı araştırmaları teşvik etmiştir (P. Gunatillake, Mayadunne, & Adhikari, 2006; Temtem, Casimiro, Mano, & Aguiar-Ricardo, 2008; Woodruff & Hutmacher, 2010). PCL'nin başlangıç termal bozunma sıcaklığının yaklaşık 300 °C olduğu belirtilmiştir (Thangavel, Kandasamy, Rathanasamy, & Dhairiyasamy, 2024). PCL yüksek kristalinite gösterir ve oldukça hidrofobiktir, bu nedenle daha düşük biyobozunuma sahiptir. Bu nedenle PCL, uzun bozunma süreleri gerektiren uygulamalar için iyi bir

materyaldır. PCL'nin diğer sentetik biyopolimerlere kıyasla yavaş bozunma oranları nedeniyle uzun vadeli implante edilebilir materyaller olarak kullanıldığı bilinmektedir (Meng, Zheng, Li, & Zheng, 2010; Taghizadeh & Favis, 2013).

PCL'nin bozunumu PLA'ya benzer şekilde ester bağlarının hidrolizi yoluyla ilerler. Ester bağlarının bozunması hücrel lipazlar ve esterazlar tarafından katalize edilebilir. PLA ve diğer yarı kristal polimerler gibi, PCL'nin bozunması da amorf segmentlerinde gerçekleşir. Genel olarak, PCL in vivo olarak yavaş bozunma süresine sahiptir. Yavaş bozunma oranlarına yol açan faktörler yüksek kristalinite ve ester bağlarına su erişimini engelleyen düşük su alımıdır (Bedell, Navara, Du, Zhang, & Mikos, 2020; G. I. Peterson, Dobrynin, & Becker, 2017).

PCL, siklik monomer ϵ -kaprolaktonun halka açma polimerizasyonu ile hazırlanır. Polimerizasyonu katalize etmek için kalay oktoat gibi katalizörler kullanılır ve polimerin moleküler ağırlığını kontrol etmek için de kullanılabilen başlatıcı olarak düşük moleküler ağırlıklı alkoller kullanılabilir (In't Veld et al., 1997; Storey & Taylor, 1998). Homopolimer PCL'nin toplam bozunma süresi 2-4 yıldır (P. A. Gunatillake & Adhikari, 2003; Middleton & Tipton, 2000). Bozunma oranı, diğer laktonlar veya glikolidler/laktidlerle kopolimerizasyon yoluyla değiştirilebilir (Chasin & Langer, 1990).

PCL, kemik ve kıkırdak doku mühendisliği için skafold ve membran olarak kullanıldığı gibi farklı biyomedikal uygulamalarda da kullanılmıştır. Mekanik özellikleri iyileştirmek için PCL diğer polimerlerle karıştırılmış veya kopolimerize edilmiştir (Chavalitpanya & Phattanarudee, 2013). Nispeten düşük erime noktası nedeniyle, PCL geleneksel prosedürlerle kolayca işlenebilir. Bu nedenle, PCL daha sert malzemelerle (partiküller veya fiberler) kolayca doldurulabilir ve eritme teknikleriyle işlenebilir (Mano, Sousa, Boesel, Neves, & Reis, 2004). PCL ayrıca, bozunma kinetiğini etkileyebilen diğer polimerlerle uyumlu karışımlar oluşturma yeteneğine de sahiptir. PCL'nin bu uygulamalara yönelik avantajları arasında, uyarlanabilir bozunma kinetiği, mekanik özellikler, doku büyümesine elverişli uygun gözenek boyutları sağlayan şekillendirme, üretim kolaylığı ve matrikslerinde bulunan ilaçların kontrollü dağıtımı yer almaktadır (Woodruff & Hutmacher, 2010).

Sentezlenen polimer membranlar, doku iyileşmesine uygun membranlar elde etmek için uygun hidrofobikliğe ve uygun biyobozunma oranlarına sahip olmalıdır. PCL, iyi mekanik ve bozunma özelliklerine, ayarlanabilir mikro yapıya sahip, yarı kristal, hidrofobik ve biyolojik olarak parçalanabilir bir poliesterdir.

Klinik uygulamada yaygın olarak kullanılan bir YKR membran materyalidir (D. Wang et al., 2023; Wissing, Bonito, Bouten, & Smits, 2017).

1.1.3 Doku Yapıştırıcıları

Doku yapıştırıcıları, yüzeylere uygulandığında dokuları birbirine bağlayabilen ve uygulanan yükleri bir dokudan diğerine aktararak ayrılmayı önleyen materyallerdir (Mehdizadeh & Yang, 2013). Doku yapıştırıcıları, yara kapanmasında ve iyileşmesinde, ilaç iletimi, tıbbi cihaz implantasyonu, doku mühendisliği, dental ve kemik uygulamaları dahil olmak üzere çeşitli klinik uygulama alanlarında giderek artan ölçüde kullanılmaktadır (Duarte, Coelho, Bordado, Cidade, & Gil, 2012; Ge & Chen, 2020). Doku yapıştırıcılarının dikişlere göre daha az travmatik olması, hızlı kullanılabilmesi, kolay uygulanabilmesi ve çok yönlü kullanılabilmesi gibi birçok avantajı bulunmaktadır (Annabi et al., 2017).

Doku yapıştırıcılarının farklı klinik gereksinimleri karşılamak için farklı yapılarda doku yapıştırıcıları geliştirilmiştir. Günümüzde kullanılan doku yapıştırıcıları üç gruba ayrılabilir: (1) doğal doku yapıştırıcıları, (2) sentetik ve yarı sentetik doku yapıştırıcıları ve (3) biyomimetik doku yapıştırıcıları (Duarte et al., 2012). Siyanoakrilatlar, albümin, glutaraldehit, polietilen glikol (PEG) polimerleri ve fibrin yapıştırıcısı doku yapıştırıcısı olarak kullanılan materyallerdendir (Ge & Chen, 2020).

Doku yapıştırıcıların başlıca sınırlılıkları arasında, daha büyük boşlukları ve defektleri doldurmak için uygun olmamaları (Shirzaei Sani et al., 2019), bir dereceye kadar biyoyumluluk ve biyobozunurluk gösterebilir de, doku yenilenmesi için gerekli olan çeşitli hücresel aktiviteleri desteklemek üzere özel olarak tasarlanmamışlardır ve yan etkileri mevcuttur. Örneğin, fibrin yapıştırıcılar viral veya enfeksiyon komplikasyonlarına neden olabilir. Ayrıca genellikle yeterli yapışma gücüne sahip değildirler (Spotnitz, 2014).

1.1.3.1 Siyanoakrilat Doku Yapıştırıcıları

Siyanoakrilatlar, siyanoasetat ile formaldehitin kondenzasyonu sonucu oluşan bileşiklerdir; ilk kez 1949'da sentezlenmiş ve o tarihten bu yana yara kapatılmasında doku yapıştırıcısı olarak kullanılmıştır (Mehdizadeh & Yang, 2013; Y. H. Park, Son, Han, & Kim, 2023). Siyanoakrilatlar, zincirlerinin uzunluğuna ve karmaşıklığına bağlı olarak çeşitli formlarda mevcuttur; bunlar arasında metil, etil,

n-bütül, izoamil, izohekzil ve oktil siyanoakrilatlar bulunur (Inal, Yılmaz, Nisbet, & Güvenç, 2006). Siyanoakrilat yapıştırıcılar, anyonların, özellikle de hidroksil iyonlarının varlığında polimerleşir. Su veya nem ile temas ettiğinde ekzotermik polimerizasyona uğrayarak sıkı bir yapışkan bağ oluşturur. Siyanoakrilatın yan zincirindeki alkil gruplarının sayısı birden (metil siyanoakrilat), ikiye (etil), dörde (bütül) ve beşe (izoamil) kadar artırılabilir, ancak genellikle sekizden (oktil siyanoakrilat) fazla olmaz (Sagar, Prasad, Lalitha, & Ranganath, 2015).

1980’lerde Avrupa ve Kanada’da cilt insizyonlarının kapatılmasında n-bütül-2-siyanoakrilat temelli yapıştırıcılar klinik kullanıma girmiştir. FDA, 1998 yılında 2-oktil-2-siyanoakrilat bazlı ilk topikal cilt yapıştırıcısını onaylamıştır. Siyanoakrilat ailesinden bir diğer mevcut tıbbi yapıştırıcı, FDA tarafından topikal cilt kesilerinin kapatılması için onaylanan n-bütül-2-siyanoakrilat esasludur (Mehdizadeh & Yang, 2013; Quinn, 2005).

Siyanoakrilat polimerler dokuda hidroliz ile parçalanır ve formaldehit ile siyanoasetat gibi ürünler açığa çıkar; alkil zinciri uzadıkça (oktil > bütül > etil) bozunma yavaşlar ve doku irritasyonu azalır (Pascual et al., 2016). Bu uzun zincirli akrilatlar daha yavaş bir oranda bozunduğundan, bozunma ürünlerinin daha güvenli bir şekilde metabolize edilmesine izin vererek daha az inflamatuvar yanıtı neden olur (Sagar et al., 2015).

Siyanoakrilat yapıştırıcılar, hızlı ve etkili yapıştırıcı özelliklere sahip sentetik nitelikte doku yapıştırıcılarıdır. Tıp ve endüstride yaygın olarak kullanılır (Bao, Gao, Sun, Nian, & Xian, 2020; Seewald et al., 2002). Siyanoakrilat yapıştırıcı, oktil-siyanoakrilat veya butil-siyanoakrilat formunda güncel klinik kullanımda olan bir dizi doku yapıştırıcısını kapsar (Machin, Liu, Coupland, Davies, & Thapar, 2019). Siyanoakrilat yapıştırıcıların, yara kapatılmasından fıtık onarımında meş fiksasyonuna kadar çok çeşitli klinik uygulamaları vardır (M. S. Kumar et al., 2013; Sanders & Waydia, 2014). Maksillofasiyal alanda, siyanoakrilatların, oroantral ilişkilerin kapatılması, rejeneratif oral cerrahide greft materyallerinin adezyonunda kullanılması, lokal hemostatik ajan olarak kullanılması ve gömülü mandibular üçüncü molar çekimi sonrası cerrahi sahanın kapatılması gibi çeşitli uygulama alanları belgelenmiştir (Al-Belasy & Amer, 2003; Choi et al., 2006; Oladega, James, & Adeyemo, 2019; Rezende et al., 2015).

Siyanoakrilat yapıştırıcının, cerrahi saha enfeksiyonlarında yaygın patojenler olan gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal özelliklere sahip

olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Bhende, Rothenburger, Spangler, & Dito, 2002; Singer, Mohammad, Tortora, Thode Jr, & McClain, 2000).

Polimerizasyon reaksiyonu yaklaşık 10-15 saniye sürer. Siyanoakrilatlar biyolojik olarak parçalanabilir ve uygulama alanından uzaklaştırılması polimer bozunması ve uygulandığı yüzeyden dökülmesiyle gerçekleşir. Uygulamadan sonra deriden topikal olarak atılması yaklaşık 7-10 gün sürer (Bhatia, 2010; Sagar et al., 2015).

1.1.4 3 Boyutlu Yazıcı Sistemleri ile Doku Mühendisliğinde Membran Üretimi

Doku mühendisliği, biyomedikal uygulamalar için işlevsel membranlar, skafoldlar ve yapay dokular üretmek amacıyla yaşam bilimleri, malzeme mühendisliği ve modellemeyi birleştiren multidisipliner bir alandır (M. Qasim, Haq, Kang, & Kim, 2019). 3 boyutlu (3B) yazıcı teknolojisi, detaylı 3B yapıların oluşturulmasına olanak tanıyan yüksek hassasiyette membran ve skafold üretimine olanak tanır (Peltola, Melchels, Grijpma, & Kellomäki, 2008).

Skafold, doku mühendisliğinde hücrelerin tutunmasına, çoğalmasına ve farklılaşmasına imkân veren, ECM'yi yapısal ve kimyasal olarak taklit eden, 3 boyutlu bir biyomateryal taşıyıcıdır. Doku oluşumu sırasında mekanik destek sağlar; besin ve oksijen difüzyonuna izin verir (Hollister, 2005; O'brien, 2011).

İlk olarak 1980'lerde model yapımı ve hızlı prototipleme (rapid prototyping) gibi son derece özel ihtiyaçları karşılamak amacıyla ortaya çıkan eklemeli imalat (additive manufacturing) veya 3 boyutlu baskı, bilgisayar destekli tasarım (computer-aided design, CAD) ve hızlı üretim için çok yönlü bir teknoloji platformu olarak ortaya çıkmıştır (Ligon, Liska, Stampfl, Gurr, & Mülhaupt, 2017).

Biyomedikal araştırmaları desteklemek amacıyla çeşitli yazıcı tipleri geliştirilmiştir: mürekkep püskürtmeli (inkjet), mikroekstrüzyon, lazer uyarımlı ileri transfer (laser-induced forward transfer, LIFT), dijital ışık işleme (digital light processing, DLP), stereolitografi, seçici lazer sinterleme (selective laser sintering, SLS), eriyik yığma modelleme (fused deposition modeling, FDM) ve elektron ışını ile ergitme (electron beam melting, EBM). Her birinin kendine özgü güçlü ve zayıf yönleri vardır. Bu yazıcılar genel olarak ekstrüzyon, ışıkla kütleme, damlacık temelli ve ergitme sınıflarına ayrılabilir (Z. Gu, Fu, Lin, & He, 2020; Willson & Atala, 2022).

Daha çok 3 boyutlu (3B) baskı olarak bilinen eklemeli imalat, genel olarak “eksiltici ve biçimlendirici üretim metodolojilerinin aksine, genellikle katman katman 3 boyutlu model verilerinden parçalar yapmak için malzemeleri birleştirme süreci” olarak tanımlanmaktadır (Din, 2021). 3B baskı için en umut verici uygulamalardan biri, tomografik görüntülerin (X-ray, MRI, vb.) hasta için özel olarak şekillendirilmiş nesneler yazdırmak için kullanılabileceği kişiselleştirilmiş tıp alanıdır. Kullanım alanları arasında cerrahi planlama, protez yapımı, diş hekimliği uygulamaları ve doku mühendisliği uygulamaları vardır (Ligon et al., 2017; Ratheesh et al., 2017; Santos, Almeida, & Bártolo, 2013; Shafiee & Atala, 2017).

3 boyutlu baskıda, bilgisayar destekli tasarım (CAD) ile sanal 3 boyutlu modeller fiziksel nesnelere dönüştürülür. Nesneler CAD, 3 boyutlu tarama veya tomografi verilerinin dijital katmanlamasına dayalı olarak katman katman oluşturulur. Bu CAD araçları aracılığıyla ve kullanıcının deneyimine dayanarak, ürünlerin 3B modeli oluşturulabilir. CAD tarafından 3B olarak oluşturulan modeller, 3 boyutlu yazıcı tarafından uygulanabilecek bir formatta hazırlanmalıdır. Dilimleme (slicing) yazılımı, 3B CAD modelini seçilen katman kalınlığına göre katmanlara ayırır ve her katman için makine komutlarını oluşturur; böylece eklemeli imalat (3B yazıcı) sisteminin uygulayabileceği katmanlı modellere dönüştürülür (Huang & Singamneni, 2015). 3B yazıcı tarafından ekstrüde edilecek malzeme miktarı ve 3B modeli oluşturmanın alacağı zaman belirlenir ve bilgiler yazıcının kolayca uygulayabileceği bir G-kod dosyasında oluşturulur (Song, Yang, Liu, & Deng, 2018).

Eriyik yığma modelleme (Fused deposition modelling, FDM) tekniği hammadde olarak polimerleri kullanır. Polimerler genellikle eriyene kadar ısıtıldıktan sonra 3B yazıcının nozulundan (baskı ucu) ekstrüde edilir. Nozul, G-kod talimatlarına göre ekstrüde edilmiş polimeri baskı tablası üzerinde biriktirmek için üç eksen (x, y ve z) hareket edebilir (Mwema, Akinlabi, Mwema, & Akinlabi, 2020). Materyal ekstrüzyon eklemeli imalat tekniği olarak sınıflandırılan FDM süreci, polimer bazlı malzemeler için uygun bir 3B baskı tekniğidir ve çeşitli endüstrilerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Dey & Yodo, 2019; W.-c. Lee, Wei, & Chung, 2014). FDM işlemi, ekstrüzyon başlığının x ve y eksenlerinde çalıştırılması ve platformun her yeni katman oluşumu için z ekseninde alçalmasıyla nesneleri şekillendirir. Başlık, yarı sıvı haldeki termoplastik polimeri ultra ince

katmanlar halinde hassas bir şekilde yerine yerleştirir. Ekstrüde edilen malzeme katılır ve önceki katmana yapışır (Peltola et al., 2008).

3B baskının en önemli avantajlarından biri, karmaşık yapılar ve özelleştirilmiş ürünleri yüksek hassasiyetle üretebilme kapasitesidir. Bu sayede, tasarımcılara ve cerrahlara tasarımları optimize etme ve hastaya özel implantlar ve yüksek işlevselliğe sahip tamamlayıcı cerrahi aletler oluşturma konusunda önemli bir esneklik sağlar (Raja et al., 2023; Willson & Atala, 2022).

Oral ve maksillofasiyal bölgede 3B olarak üretilen hastaya özel implantlar, cerrahi kılavuzlar, splintler, rejeneratif 3B modeller ve membranlar, kemik rejenerasyonu, kemik rekonstrüksiyonu, ortognatik cerrahi, temporomandibular eklem tedavisi ve birçok tedavi alanında kullanılmak üzere genişlemiştir (Annino Jr et al., 2022; X. Wang et al., 2024).

Güncel 3B baskı teknolojileri, YKR tedavisi amacıyla eklemeli imalat ilkelerine göre üretilmiş 3B yazdırılabilir biyomateryal kullanarak, kişiye özel biyobozunur ve biyobozunur olmayan 3B membranların tasarlanıp ve üretilmesine olanak tanır (Alexander et al., 2021; Bertran Faus et al., 2022; Ivanovski, Staples, Arora, Vaquette, & Alayan, 2024).

2. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'nun 02.10.2024 tarihli ve 2024/20 karar numarası ile etik onay almıştır. Bu tez çalışması Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (2025-TUP-003 proje numarası ile) desteklenmiştir.

Çalışmada kullanılan ratlar Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Hayvanlara uygulanan operasyon, operasyon sonrası bakım ve sakrifikasyon işlemleri Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan elde edilen doku örneklerinin histopatolojik ve stereolojik histomorfometrik incelemeleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

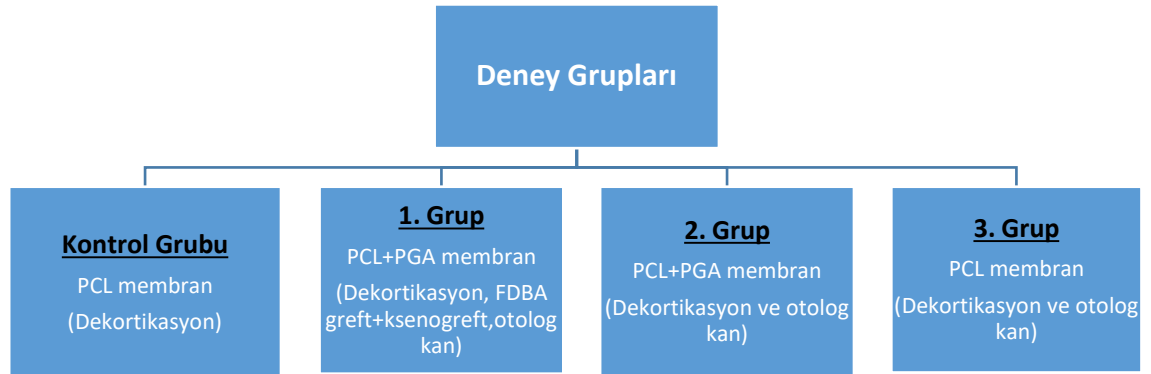
2.1 Deney Hayvanları, Deney Tasarımı ve Deney Grupları

Çalışmaya 12 adet, 2-4 aylık, 200-250 gram (ortalama 234 gram), Wistar dişi rat dahil edilmiştir. Deney hayvanlarının genel sağlık durumlarının onayı Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde görevli veteriner hekim tarafından alındı. Deney hayvanlarının temini, operasyon öncesi ve sonrası bakımları Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde sağlandı.

Çalışmada kullanılan ratlar 12 saat gündüz/12 saat gece döngüsünde tutuldu. Suyu ve standart laboratuvar diyetine ad libitum olarak erişimleri sağlandı. Hayvanların bulundukları ortam 19-21 C° sıcaklık ve %45-55 nem olacak şekilde ayarlandı.

Çalışmada 12 adet rat ve ratların paryetal sağ ve sol kemiklerinde bilateral olarak oluşturulan toplam 24 defekt alanı kullanıldı. Çalışmada 3 deney grubu ve 1 kontrol grubu olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu. Oluşturulan defekt alanlarının her biri, bir deney grubuna karşılık gelecek şekilde planlandı. Her hayvanda sağ ve sol olmak üzere 2 adet paryetal defekt alanı oluşturuldu ve bu defektler 4 deney grubundan iki farklı gruba randomize olarak atandı. Deney gruplarının tablosu şu şekildedir (Tablo 2.1):

Tablo 2.1. Deney grupları



Rat kalvaryasındaki defektler deney gruplarına randomize bir şekilde dağıtıldı. Bilgisayar ortamında deney hayvanlarının sağ ve sol paryetal kemiklerine karşılık gelen 1’den 24’e kadar sayılar atandıktan sonra 4 gruba (n=6/grup) rastgele olarak atandı. Randomizasyon işlemi, Python (v3.12.6) programlama dili kullanılarak, çevrim içi entegre geliştirme ortamı olan Replit (<https://replit.com/>) üzerinde gerçekleştirildi. Her hayvanda oluşturulan iki paryetal defekt alanı, iki farklı deney grubuna karşılık gelecek şekilde oluşturuldu. Deney hayvanları, kemik rejenerasyon sürecinin farklı evrelerini değerlendirmek amacıyla iki sakrifikasyon zamanına (postoperatif 4. ve 8. hafta) randomize ve eşit sayıda olacak şekilde dağıtıldı.

4.haftada sakrifikasyonu yapılan ratlar: R1a, R1b, R1c, R1d, R1e, R1f (Tablo 2.2);

8.haftada sakrifikasyonu yapılan ratlar: R2a, R2b, R2c, R2d, R2e, R2f (Tablo 2.3) şeklinde tabloda belirtilmiştir.

Tablo 2.2. 4. haftada sakrifikasyonu yapılan deney grupları

4.HAFTA	Sağ Paryetal	Sol Paryetal
R1a	Kontrol	1.Grup
R1b	Kontrol	2.Grup
R1c	1.Grup	2.Grup
R1d	1.Grup	3.Grup
R1e	3.Grup	2.Grup
R1f	3.Grup	Kontrol

Tablo 2.3. 8. haftada sakrifikasyonu yapılan deney grupları

8.HAFTA	Sağ Paryetal	Sol Paryetal
R2a	Kontrol	3.Grup
R2b	1.Grup	3.Grup
R2c	3.Grup	2.Grup
R2d	Kontrol	2.Grup
R2e	1.Grup	Kontrol
R2f	2.Grup	1.Grup

Her deney grubu her iki zamanda da eşit sayıda defekt (n=3) ile temsil edilmiştir. İlk gruptaki ratlar (n=6), postoperatif 4. haftada; ikinci gruptaki ratlar (n=6) ise postoperatif 8. haftada sakrifiye edildi. Tüm operasyonlar steril koşullar altında ve cerrahi prensiplere uygun şekilde gerçekleştirildi.

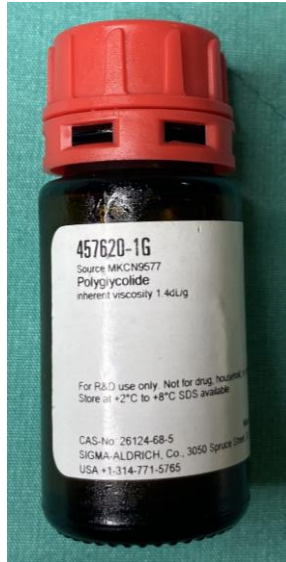
Operasyon öncesinde her hayvana ve her defekt bölgesine grup bilgisini içermeyen birbirinden farklı bir kimlik numarası atandı. Numara-grup eşleştirmesi körleme amacıyla ayrı bir listede tutuldu. Kayıt ve randomizasyon yalnızca bu sayılarla yapıldı. Histopatolojik ve stereolojik histomorfometrik değerlendirme için tüm doku örnekleri ikinci bir kod seti ile yeniden etiketlenerek teslim edildi. Ölçümler tamamlandıktan sonra kodlar açıldı.

2.2 Polikaprolakton ve Poliglikolik Asit Tabakalarından Oluşan Membranın Üretimi

Bu çalışmada biyobozunur ve biyouyumlu polikaprolakton (PCL; $M_n = 80,000$ g/mol; Sigma-Aldrich, Birleşik Krallık) (Fotoğraf 2.1) ve poliglikolik asit (PGA; inherent viskozite: 1.4 dL/g; MFI: 0.4–0.7 g/10 dk, 190 °C; Sigma-Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri) kullanıldı (Fotoğraf 2.2).



Fotoğraf 2.1. Polikaprolakton (PCL)



Fotoğraf 2.2. Poliglikolik Asit (PGA)

Kubbe formundaki polikaprolakton membran tasarımının (dış çap: 6 mm, iç çap: 4 mm, dış yükseklik: 4 mm ve iç yükseklik: 3 mm) 3B modellemesi SOLIDWORKS (Dassault Systèmes, Windows 11) ile oluşturuldu. Hazırlanan 3B model, STL (Stereolitografi) formatına dönüştürüldü. STL dosyaları, açık kaynaklı PrusaSlicer v2.9.3 (Prusa Research, Windows 11) ile dilimlenerek (*slicing*) G kodu (*G-code*) üretildi. Dilimleme yazılımıyla belirlenen baskı parametreleriyle G kodu formatında bir dosya üretildi. Oluşturulan G kodu dosyası 3B yazıcı sistemine cihaz kontrolü ve baskı sürecinin yönetimi için kullanılan AxoSuite yazılımı (Axolotl Biosystems, Türkiye) aracılığıyla Axo A1 Bioprinter (Axolotl Biosystems, Türkiye) cihazına aktarıldı. 3B PCL membranların üretiminde FDM yöntemi kullanıldı. Üretim laboratuvar ortamında ve sabit parametrelerle gerçekleştirildi (Fotoğraf 2.3).



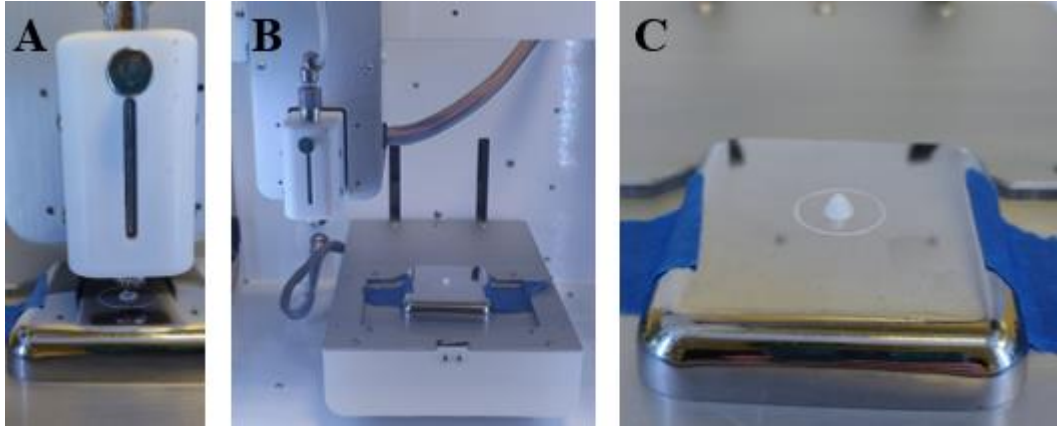
Fotoğraf 2.3. 3 boyutlu PCL membranların üretiminde kullanılan 3B yazıcı sistemi

3B kubbe formundaki PCL membranın basım parametreleri; baskı sıcaklığı: 180 °C; basınç 18 psi; nozul: 300 mikron; baskı hızı: 1 mm/sn; katman kalınlığı: 0,2 mm; baskı yoğunluğu (*infill*) oranı: %100 olarak belirlendi.

Yazdırma tablasına, metal bir düzlem yapıştırma bantları ile sabitlendi. Yazdırma tablasının seviyesi yazıcıya kalibre edildi. Polikaprolakton granülleri 3B yazıcının depolama haznesine yerleştirildi. PCL, yazıcının hotend kısmında eritilmek üzere ısıtıldıktan sonra yazıcıya baskıyı başlatma talimatı verildi.

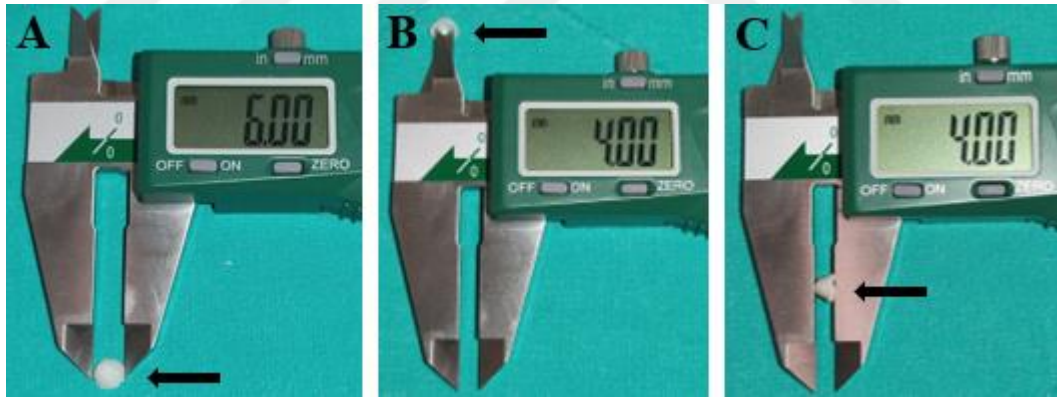
Baskı tablasında kalibre edilen seviyeden başlayarak nozula itilen erimiş haldeki PCL'nin, baskı yüzeyine aktarımı gerçekleştirildi. Baskı kafası X ve Y düzleminde hareket ederek, yatay yöndeki katmanın bitimini takiben Z düzleminde yukarı yönde bir katman kalınlığı kadar (0,2 mm) çıkarak bir sonraki katmanın üretimine devam eder. Baskı sırasında katmanların hızlı sertleşmesi ve PCL

katmanlarının çökmemesi amacıyla soğutucu fan ile soğutuldu. Bu işleme model tamamen oluşuna kadar devam edildi. Baskı işlemi tamamlandıktan sonra üretilen kubbe formundaki PCL baskı yatağından çıkarıldı (Fotoğraf 2.4).



Fotoğraf 2.4. PCL membranının 3B yazıcı sistemiyle basım aşamaları (A, B, C)

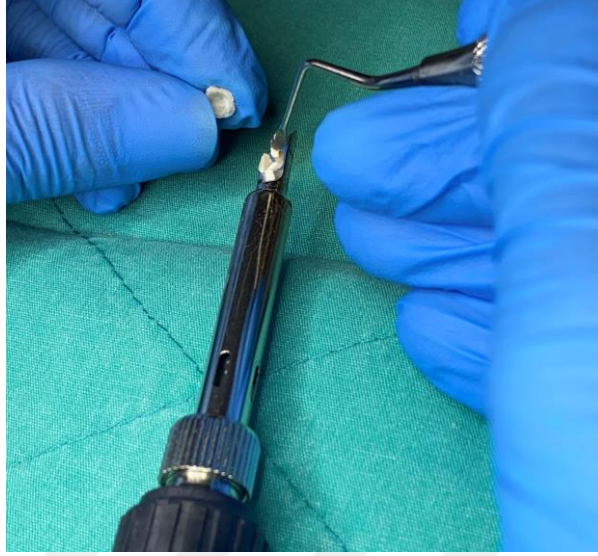
Baskı işlemi tamamlanan PCL membranların hedeflenen boyut ölçütleri, dijital kaliper (INSIZE 1108-150; INSIZE Co., Ltd., Suzhou, Çin) kullanılarak ölçüldü (Fotoğraf 2.5).



Fotoğraf 2.5. PCL membranının boyutları. A: Dış çap; B: İç çap; C: Yükseklik

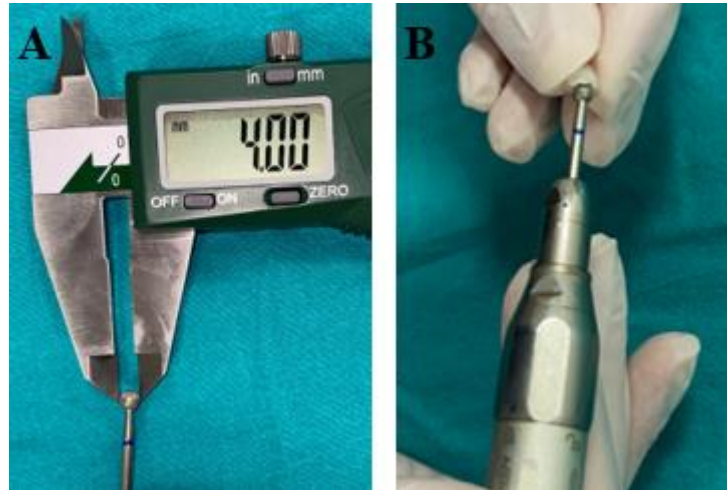
Üretilen 24 adet 3B PCL membranının 12 tanesinin iç yüzeyi PGA ile kaplandı. PCL'nin iç yüzeyine PGA'nın kaplanması eriterek kaplama yöntemi benimsendi. PGA'nın erime (220-225 °C) ve termal bozunma (~255 °C) sıcaklıkları göz önüne alınarak ısıtma işleminde 240 °C'nin üzerine çıkılmadı. Isıl işlemden dijital LCD ekranlı ve sıcaklık ayarlı 80 W'lık kalem tipi havya (SolinpaTech, Model LCDSet2/ST-80, Çin) kullanıldı. Sıcaklık, dijital arayüzden °C cinsinden belirlendi. PCL membranların iç yüzeyi uygun bir el aleti yardımıyla eriyik haldeki

PGA ile kaplandı. El aletinin ucunun eriyik haldeki PGA'nın yapışmaması için eriyik haldeki PGA ile aynı sıcaklıkta olmasına dikkat edildi (Fotoğraf 2.6).

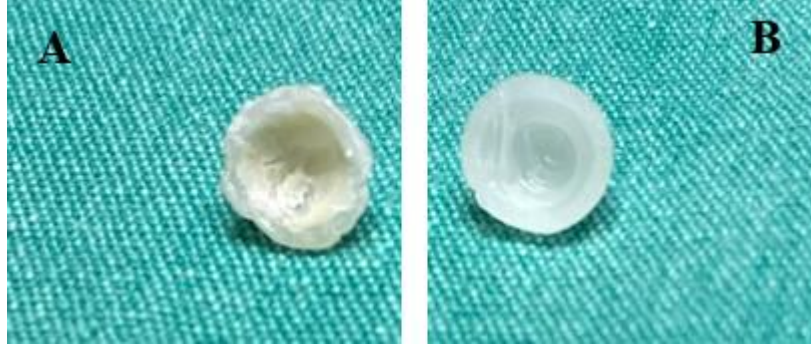


Fotoğraf 2.6. PGA'nın PCL membranının iç yüzeyine kaplanması

PGA kaplı iç yüzeylerin homojen bir hacme sahip olması amacıyla 4 mm çapındaki elmas rond frez ile PCL membranının iç yüzeyi şekillendirildi (Fotoğraf 2.7 ve 2.8).

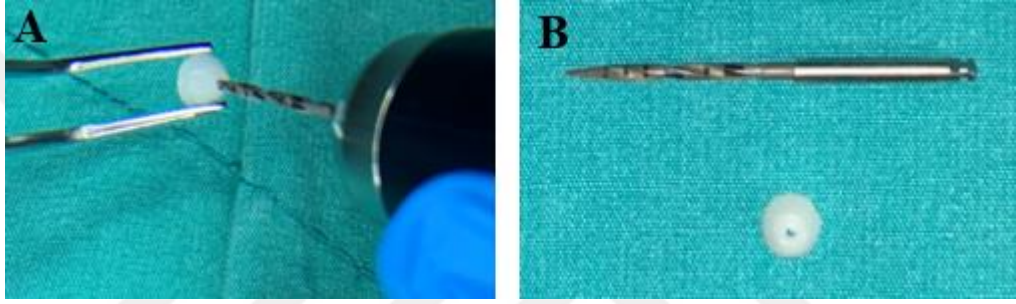


Fotoğraf 2.7. PGA ile kaplı PCL membranlarının iç yüzeylerinin şekillendirilmesi



Fotoğraf 2.8. A: PCL+PGA membran; B: PCL membran

Ardından 24 adet kubbe formundaki PCL ve PCL+PGA membranın tepe noktasından yaklaşık 1,5 mm çapında frezle delik oluşturuldu (Fotoğraf 2.9).



Fotoğraf 2.9. PCL ve PCL+PGA membranların tepe noktalarından delinmesi

Üretilen membranların sterilizasyonu gaz hidrojen peroksit plazma sterilizatöründe (LK/MJG-100, Laoken Medical, Chengdu, Çin) standart döngü ile (38 dakika, 45-55 °C), %58-60 H₂O₂ buharı ve plazma fazıyla sağlandı (Fotoğraf 2.10).

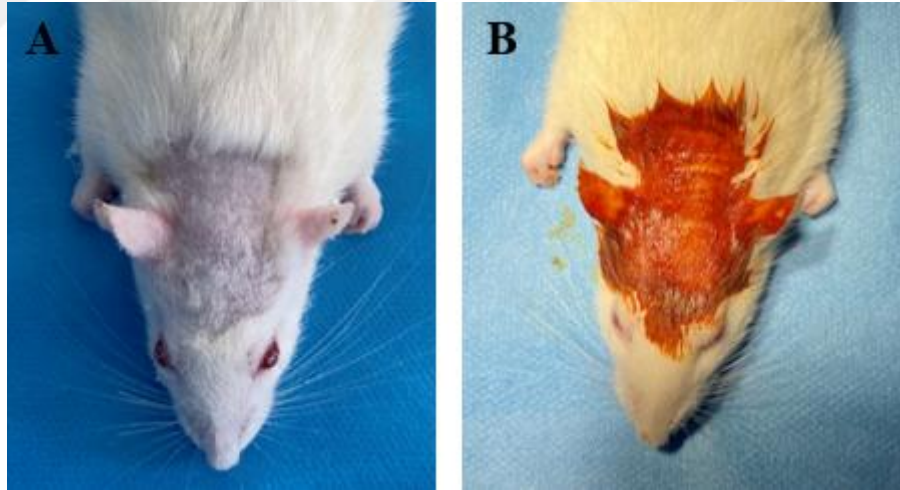


Fotoğraf 2.10. Hidrojen peroksit plazma sterilizatör

2.3 Cerrahi İşlem

Tüm operasyonlar steril koşullar altında ve cerrahi prensiplere uygun şekilde gerçekleştirildi. Sterilizasyon prosedürü, kullanılan cerrahi aletleri, operasyon alanını sınırlayan cerrahi örtüyü, cerrahi önlük ve eldiven kullanımını da içermektedir. Tüm cerrahi işlemler Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi operasyon odasında gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanlarında, 90 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketasol %10, VetViva Richter GmbH, Avusturya) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Xylazin Bio %2, Bioveta, Çekya) kas içi enjeksiyon yoluyla verilerek genel anestezi sağlandı. Anestezide uygulama bölgesi olarak m. quadriceps femoris tercih edildi. Anestezi seviyesinin değerlendirilmesi için cilt ve parmak sıkıştırma refleksleri ile test edildi. Reflekslerin olmaması anestezinin derin olduğunu gösterdi. Çene ve iskelet kaslarının tonusu takip edilerek kas gevşemesi varlığı tespit edildi.

Anestezi işleminden sonra ratların kafa derisinin dorsal yüzeyi tıraş edildi ve ardından cerrahi alanın antisepsisi amacıyla %10 povidon iyot solüsyonu (Batikon®, Adeka İlaç, Türkiye) kullanıldı (Fotoğraf 2.11).

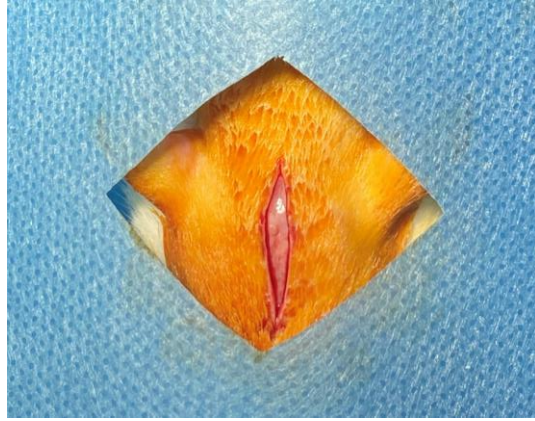


Fotoğraf 2.11. A: Rat kafa derisinin tıraş edilmesi; **B:** Cerrahi alan antisepsisi

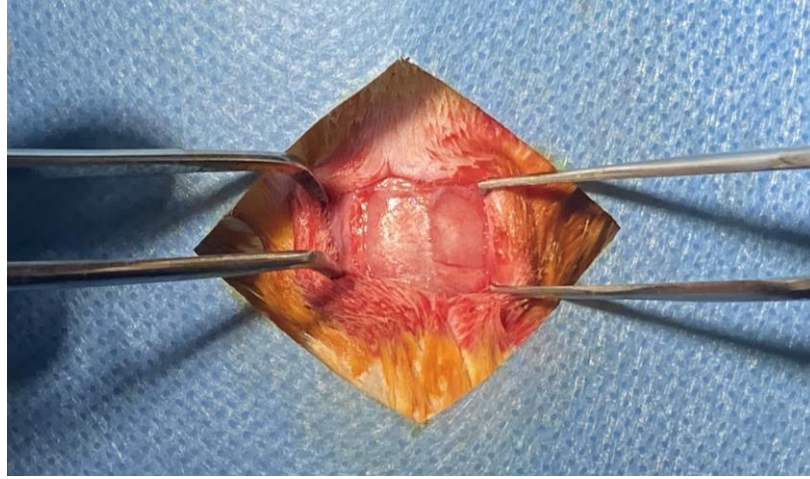
Steril örtü kullanılarak cerrahi alan ve operasyon sahası izole edildi (Fotoğraf 2.12). Kalvaryumda orta hattı takiben yaklaşık 2 santimetre uzunluğunda cilt insizyonu yapıldı (Fotoğraf 2.13). Cilt altı dokular ve periosteum dikkatlice diseke edildi. Sagittal, koronal ve lambdoid suturalar belirlendikten sonra paryetal kemik yapıları açığa çıkarıldı (Fotoğraf 2.14).



Fotoğraf 2.12. Operasyon sahası ve kullanılan aletler

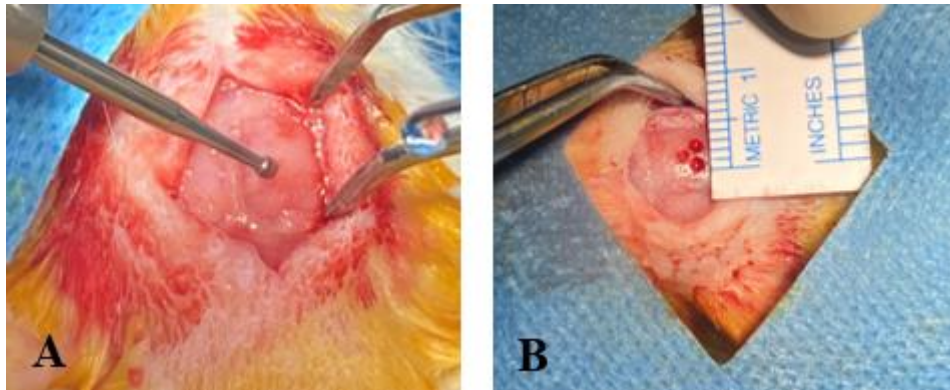


Fotoğraf 2.13. Cilt insizyonu

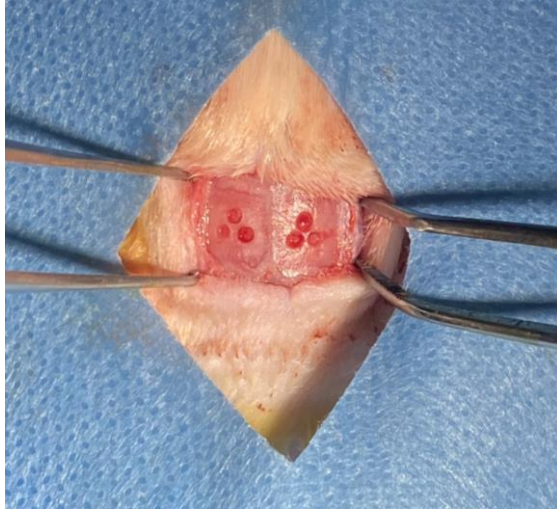


Fotoğraf 2.14. Paryetal kemikler

Membranların altında kanlanmayı sağlamak amacıyla, sutura sagittalis referans alınarak çapı yaklaşık 1 milimetre olan çelik rond frez ile her bölgede üç adet delik içerecek şekilde toplam 2 dekortikasyon alanı oluşturuldu (Fotoğraf 2.16). Dekortikasyon işlemi steril salinle sürekli irrigasyon altında ve düşük hızlı el aleti kullanılarak gerçekleştirildi. Her dekortikasyon alanının çapı 4 milimetreyi geçmeyecek şekilde oluşturuldu (Fotoğraf 2.15). Sutura sagittalis hattı, doğal osteojenik aktivitesi ve superior sagittal sinüs yapısına yakınlığı nedeniyle defekt tasarımına dahil edilmedi. Cerrahi işlem sırasında dura mater'in sağlam kalmasına dikkat edildi.



Fotoğraf 2.15. Sutura sagittalis referans alınarak çelik rond frez ile oluşturulan dekortikasyon alanı (A, B)

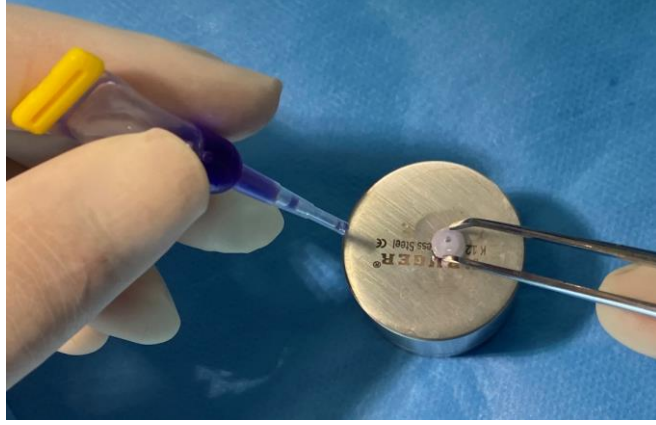


Fotoğraf 2.16. Paryetal kemiklerde her biri üç adet delik içeren 2 dekortikasyon alanının oluşturulması

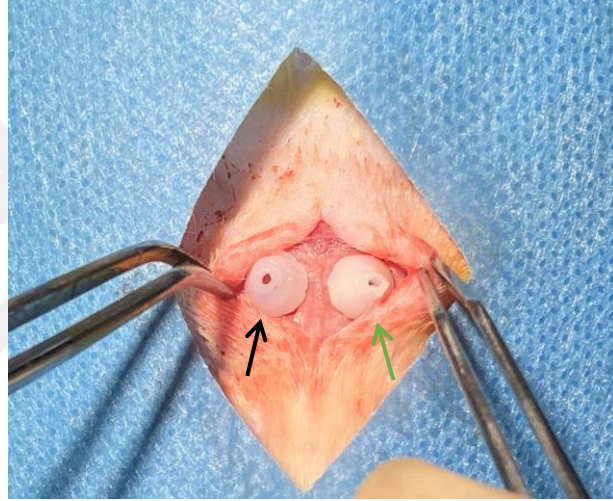
Membranlar, rat kalvaryalarının her iki paryetal kemiğinde oluşturulan dekortikasyon alanlarını içine alacak şekilde n-bütül-2-siyanoakrilat içeren doku yapıştırıcısı (Histoacryl, B. Braun, Almanya) kullanılarak sabitlendi (Fotoğraf 2.17, 2.18 ve 2.19).



Fotoğraf 2.17. n-bütül-2-siyanoakrilat içeren doku yapıştırıcısı (Histoacryl, B. Braun, Almanya)



Fotoğraf 2.18. Membranların tabanına doku yapıştırıcısının uygulanması



Fotoğraf 2.19. Membranların her iki paryetal kemikte dekortikasyon alanlarını içine alacak şekilde doku yapıştırıcısı ile sabitlenmesi, siyah ok: PCL membran, yeşil ok: PCL+PGA membran.

4 farklı deney grubunun 3'ünde, paryetal kemiklerin dekortikasyonu sonrası membranların defekt bölgelerini içine alacak şekilde doku yapıştırıcısı ile sabitlenmesinden sonra hayvanların kuyruğundan alınan otolog kan membranların içine dolduruldu.

Kontrol grubunda, PCL membranın altında sadece dekortikasyon sonrası kemik içi kanama sağlandı ardından doku yapıştırıcısı ile PCL membran sabitlendi.

1. Grupta, paryetal kemiğin dekortikasyonu sonrası dış tabakası PCL ve iç tabakası PGA ile kaplı olan membranın içi 1:1 oranında kortikal kansellöz insan kaynaklı kemik grefti (FDBA Kortikal Kansellöz Toz, Stembio, Türkiye) ve at

kaynaklı ksenogreft (Maggi Biotechnology, İtalya) karışımı küret yardımı ile doldurulduktan sonra kemiğe sabitlendi (Fotoğraf 2.20 ve Fotoğraf 2.21).



Fotoğraf 2.20. 1. Grupta kullanılan FDBA ve ksenogreft



Fotoğraf 2.21. 1. Gruptaki PCL+PGA membranının greft karışımları ile doldurulması

2. Grupta, dış tabakası PCL ve iç tabakası PGA ile kaplı olan membran paryetal kemiğin dekortikasyonu sonrası kemiğe sabitlendi.

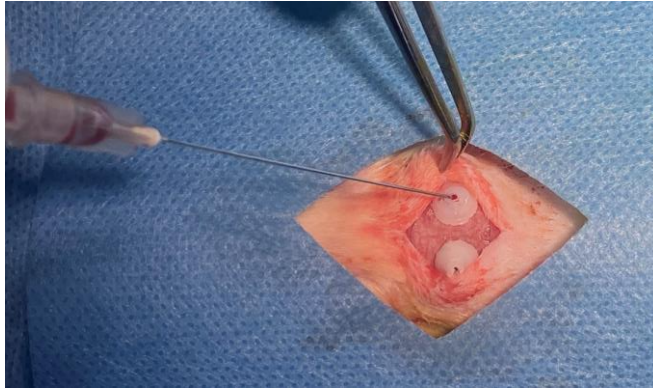
3. Grupta, PCL membran paryetal kemiğin dekortikasyonu sonrası sabitlendi.

1., 2. ve 3. deney gruplarının hepsinde hayvanın kuyruğundan alınan otolog kan, membranların paryetal kemiğe doku yapıştırıcısı ile sabitlenmesinden sonra membranların içine dolduruldu.

Ratların kuyrukları kan alma işlemi öncesi antisepsi amacıyla %10 povidon iyot solüsyonu uygulandı. Otolog kan temini amacıyla kuyruk ucu kesisi yöntemi uygulandı. Hayvanların kuyruk ucunun distalinden yaklaşık 2 mm'lik bir segment steril makas yardımıyla kesildi. Açığa çıkan kan, uygun kalınlıkta steril enjektör kullanılarak doğrudan çekildi ve ardından membranların tepe kısmından defekt alanlarına enjekte edildi (Fotoğraf 2.22, 2.23 ve 2.24). Kan alımı sonrasında hemostaz için bölgeye steril gazlı bezle bası uygulandı.



Fotoğraf 2.22. Kuyruk ucu kesisiyle otolog kan elde edilmesi

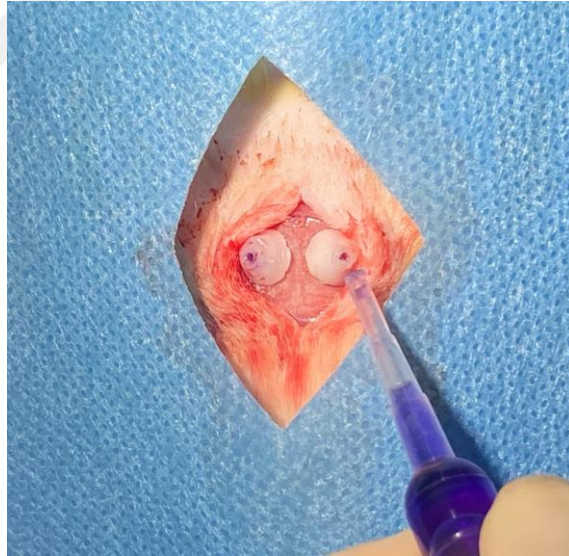


Fotoğraf 2.23. Otolog kanın membranların tepe kısmından defekt alanlarına uygulanması



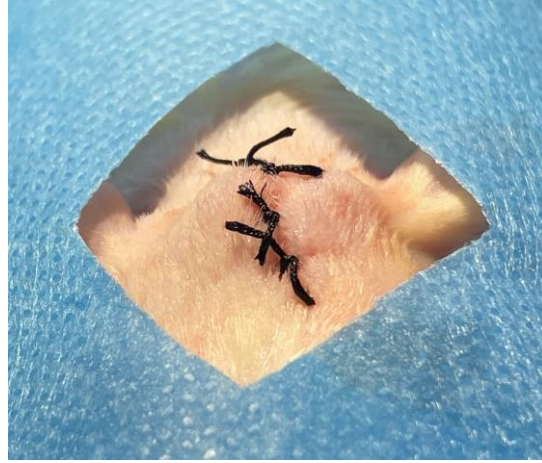
Fotoğraf 2.24. Otolog kan uygulaması yapılmış iki deney grubu

Otolog kan enjeksiyonu amacıyla membranların tepe bölgesinde oluşturulan delikler, n-bütül-2-siyanoakrilat içeren doku yapıştırıcısı ile kapatılarak yumuşak dokunun yeni kemik oluşturulması amaçlanan bölgeye invazyonunun önlenmesi hedeflendi (Fotoğraf 2.25).



Fotoğraf 2.25. Membranların tepe deliklerinin doku yapıştırıcısı ile kapatılması

Kafatası cildi ve cilt altı dokular uygulanan membran materyallerinin tamamen örtülmesini sağlamak amacıyla, 3/0 ipek sütur materyali ile primer olarak kapatıldı (Fotoğraf 2.26). Süturasyon sonrası insizyon çevresi steril izotonik sodyum klorür (%0,9 NaCl) ile nazikçe temizlendi. Fazla kan ve pıhtı steril gazlı bez ile silinerek uzaklaştırıldı.



Fotoğraf 2.26. Cerrahi sahanın primer kapatılması

2.4 Cerrahi İşlem Sonrası Bakım

Ratların yeme ve suya erişimleri, operasyondan hemen sonra ve tüm deney süresi boyunca ad libitum olarak sağlandı. Postoperatif dönemde enfeksiyonu önlemek amacıyla anestezi sonrası ve postoperatif dönemde kas içi yolla 10 mg/kg enrofloksasin (Enrocure %10, 100 mg/mL; Teknovet İlaç San. ve Tic. A.Ş., Türkiye) günde iki kez, 3 gün süreyle uygulandı. Analjezi sağlamak amacıyla kas içi yolla 10 mg/kg metamizol sodyum (Dolarjin, 500 mg/mL; Alivira, Türkiye) günde iki kez, 3 gün süreyle uygulandı. İritasyonu azaltmak için enrofloksasin ve metamizol sodyum enjeksiyonluk çözeltileri steril izotonik sodyum klorür (%0,9 NaCl) ile 1:10 seyreltilerek uygulandı.

2.5 Sakrifikasyon

Ratların ilk grubu (n=6) postoperatif 4. haftada; ikinci grup (n=6) ise postoperatif 8. haftada sakrifiye edildi. Sakrifikasyonun ardından, hayvanların kafatası cildine orta hat boyunca insizyon uygulandı. Her bir ratın kalvaryum bölgesi dikkatlice diseke edildi. Anteroposterior yönde frontal kemikten oksipital kemiğe, mediolateral yönde bilateral temporoparyetal suturlar arasında uzanan kalvaryal kemik yapı ve ilişkili periosteal yapılar diseke edildi. Membran materyalleri tamamen açığa çıkarıldı (Fotoğraf 2.27).



Fotoğraf 2.27. Sakrifikasyonun ardından membran materyallerinin açığa çıkarılması

Oluşturulan defektleri ve membranları içeren paryetal kemikler, serum fizyolojik irrigasyonu eşliğinde çelik rond frez kullanılarak dikkatlice kesildi. Kesilen kemik dokusu, periost elevatörü yardımıyla sagittal suturun daha az dirençli yapısından faydalanılarak kalvaryadan iki ayrı parça halinde ayrıldı ve çıkarıldı (Fotoğraf 2.28).



Fotoğraf 2.28. Paryetal kemiklerin membranlar ile iki ayrı parça halinde kalvaryadan ayrılması

Sakrifikasyon sonrası diseke edilen paryetal kemik dokuları, farklı saklama kaplarında hayvan kimlik numaraları ve defekt/taf ayrımı belirtilerek %4'lük formaldehit solüsyonlarına fiksasyon amacıyla koyuldu.

2.6 Histopatolojik İnceleme

Parafin blokların elde edilmesi

Cerrahi prosedürler tamamlandıktan sonra dokular eksize edilerek %4'lük formaldehit solüsyonu içinde 10 gün bekletilerek fiksasyon süreci tamamlandı. Fiksasyon sürecini takiben dokular, bir gece akan musluk suyunda yıkandıktan sonra hızlı dekalsifikasyon solüsyonunda (Bes Lab., Türkiye, Lot no: 052024.004) dekalsifiye edildi. Membranlar dekalsifikasyon işlemi sonrası, dokulardan serbestleştirildikten sonra tek parça hâlinde uzaklaştırıldı (Fotoğraf 2.29).



Fotoğraf 2.29. Rutin histolojik doku takip işlemi öncesi membranların çıkarılması

Dekalsifiye edilen dokular, doku takip cihazında (Thermo Shandon Citadel, 2000, ABD) rutin doku takip prosedürlerine tabi tutuldu. Doku takibi sonrası L demirlere dokular kör kodlanarak gömüldü. Rutin doku takip prosedürü aşağıdaki gibi verilmiştir (Tablo 2.4):

Tablo 2.4. Doku takip prosedürü

Solüsyon	Süre
%70'lik alkol	1 saat
%80'lik alkol	1 gece
%96'lık alkol	1 saat
%96'lık alkol	1 saat
%100 (absolü) alkol	1 saat
%100 (absolü) alkol	1 saat
Ksilen	40 dakika
Ksilen	40 dakika
Ksilen	40 dakika
Parafin (58°C)	1 saat 30 dakika
Parafin (58°C)	1 saat 30 dakika

Kesitlerin elde edilmesi

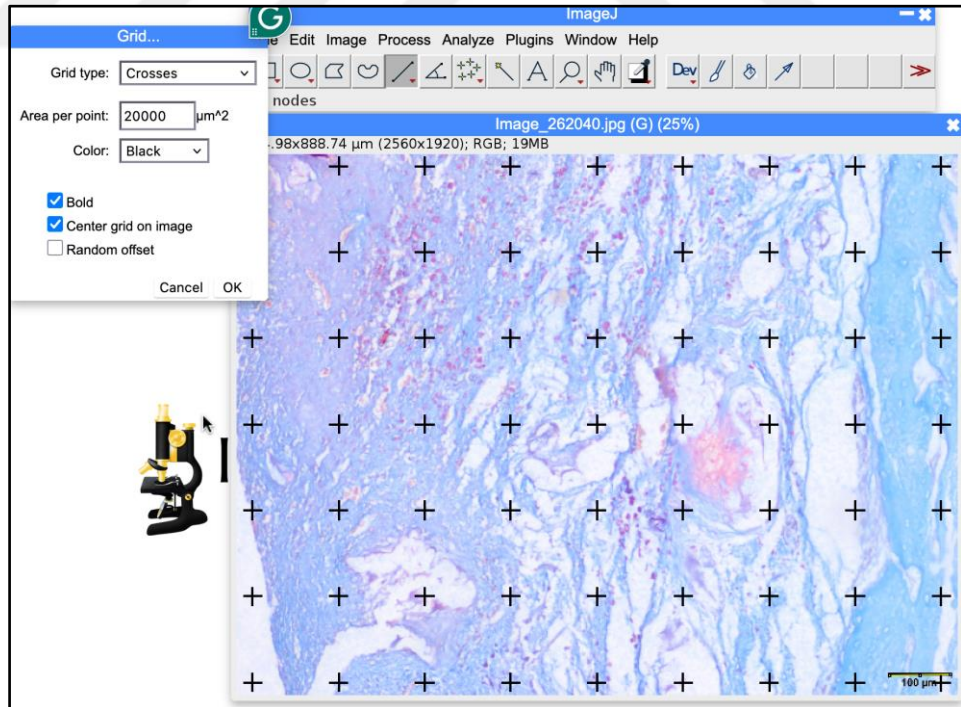
Parafin bloklara gömülü dokulardan sistematik rasgele örnekleme kuralı göz önünde bulundurularak 5 µm kalınlığında seri kesitler (örnekleme oranı: 1/30) mikrotom aracılığıyla (Leica RM2245, Leica, Nussloch, Almanya) alınarak, bir gece etüvde deparafinizasyon için bekletildi. Daha sonra ksilenle deparafinize edilen ve ardından dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilen kesitler, histopatolojik ve stereolojik analizler için üçlü boyama (Masson trikrom) ile boyandı. Bu boyama yönteminde, çekirdek yapısı Weigert's hematoxylin ile siyah-kahverengi renkte, sitoplazma ise Biebrich scarlet-asit fuksin ile kırmızı renkte, kollajenler ve bağ doku ise anilin mavisi ile boyanmaktadır. Boyama sonrasında, asetik asit ile boyanın sabitlenmesi, dereceli alkol serileri ile dehidrasyon ve ksilenle şeffaflaştırma sağlanmaktadır. Boyanan kesitler entellan ile kapatıldıktan sonra, bilgisayar destekli cellSens Entry mikroskop yazılım programı (Olympus, Center Valley, PA, ABD) kullanılarak kamera ataçmanlı ışık mikroskopunda (Olympus, BX43, Center Valley, PA, ABD) farklı (x4, x10, x20, x40) büyütmelerde seri kesitlerden resimler çekildi.

2.7 Stereolojik Analiz

Dokuya ait seri kesitlerden elde edilen farklı büyütmedeki görüntülerde histopatolojik değerlendirme yapılırken, x10'luk büyütmeye ait seri görüntüler üzerinde ise Cavalieri prensibi ile noktalı alan ölçüm cetveli kullanılarak Image J programında (Image Processing and Analysis in Java, NIH, USA) hacim analizi yapıldı (Fotoğraf 2.30). Uygun sayıda kesit ve uygun dağılımda nokta sayısı kullanılarak matür kemik (lameller kemik), immatür kemik (woven kemik), bağ doku ve toplam doku elde edildi. Her bir parametrenin toplam hacme oranları hesaplanarak hacim fraksiyonları elde edildi. Noktalı alan ölçüm cetvelindeki tek bir noktanın temsil ettiği alan $20.000 \mu\text{m}^2$ olarak hesaplandı. Tüm stereolojik değerlendirmelerde hata katsayısı (HK) değerinin %5'ten küçük olması ve değişim katsayısının (DK) %20'den küçük olması göz önünde bulunduruldu. Hacim hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanıldı:

$$V = \Sigma P \times (a/p) \times t$$

Bu formülde, toplam nokta sayısı “ ΣP ” ile, her noktanın temsil ettiği yüzey alanı “ a/p ” ile, kesit kalınlığı ise “ t ” ile gösterilmektedir. Hacim değeri ise “ V ” ile gösterilmektedir.



Fotoğraf 2.30. Stereolojik analizlerde, ImageJ programında kullanılan noktalı alan ölçüm cetveli.

2.8 İstatistiksel Değerlendirme

Veriler Jamovi 2.3.28 (The jamovi project, Sydney, Avustralya, 2025) programı kullanılarak analiz edildi. Normal dağılım Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Grup ve zamana göre normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin karşılaştırılmasında Walrus paketi kullanılarak Robust ANOVA ile incelendi. Nicel değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum – maksimum) ve ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. nem düzeyi $p<0,05$ olarak verildi.



3. BULGULAR

3.1 Klinik Bulgular

Tüm ratlar cerrahi prosedürlerden sağ çıktı ve iyileşmeleri sorunsuz gerçekleşti. Cerrahi bölgeler başlangıçta kendiliğinden iyileşmiş olsa da operasyondan yaklaşık 3 hafta sonra 5 adet ratın kalvaryasında bulunan membranların üzerindeki deride ekspoz fark edildi. Bu durum 3 ratta (1. gruptan iki, 2. gruptan iki, 3. grup ve kontrol grubundan birer membran) membranların kendiliğinden tamamen açığa çıkmasına ve ilerleyen süreçte kalvaryadan tamamen düşmesine neden oldu. 2 ratta (1. gruptan iki, 2. grup ve 3. gruptan birer membran) ise membranların bir kısmının kendiliğinden açığa çıkmasına sebep oldu (Fotoğraf 3.1). Deney süresi boyunca açığa çıkan membranların bir kısmının ratların kalvaryalarından düşmesi sebebiyle çalışmaya 3 adet rat daha dahil edildi.

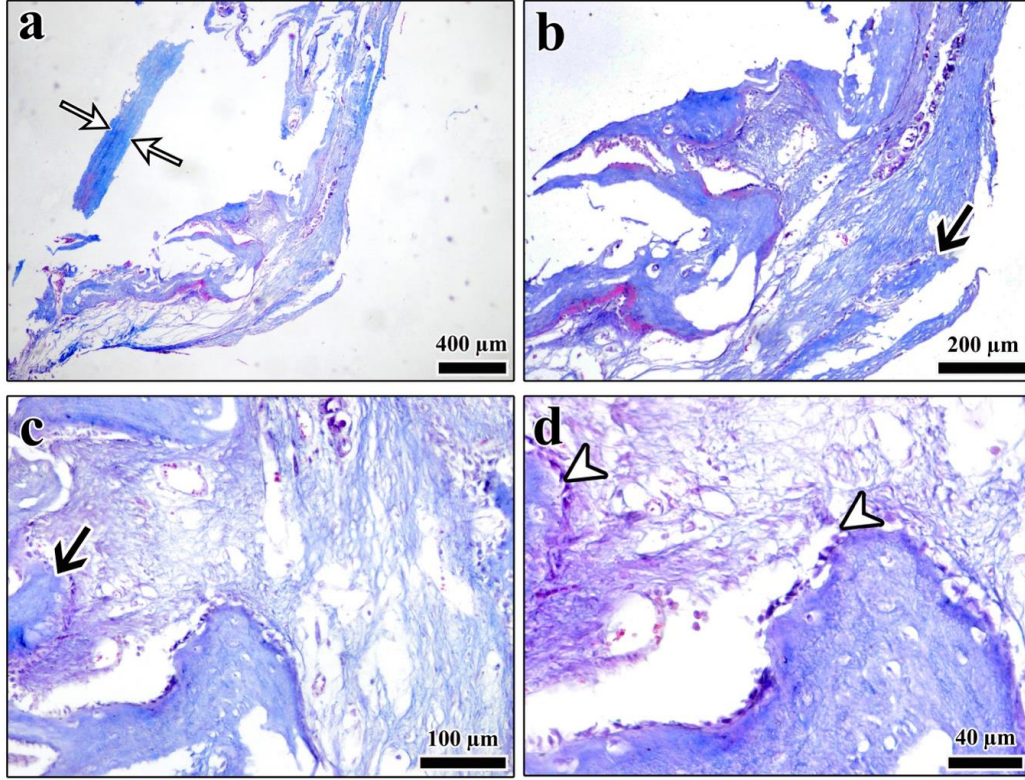


Fotoğraf 3.1. Membranları örten deride görülen açıklık

3.2 Histopatolojik Bulgular

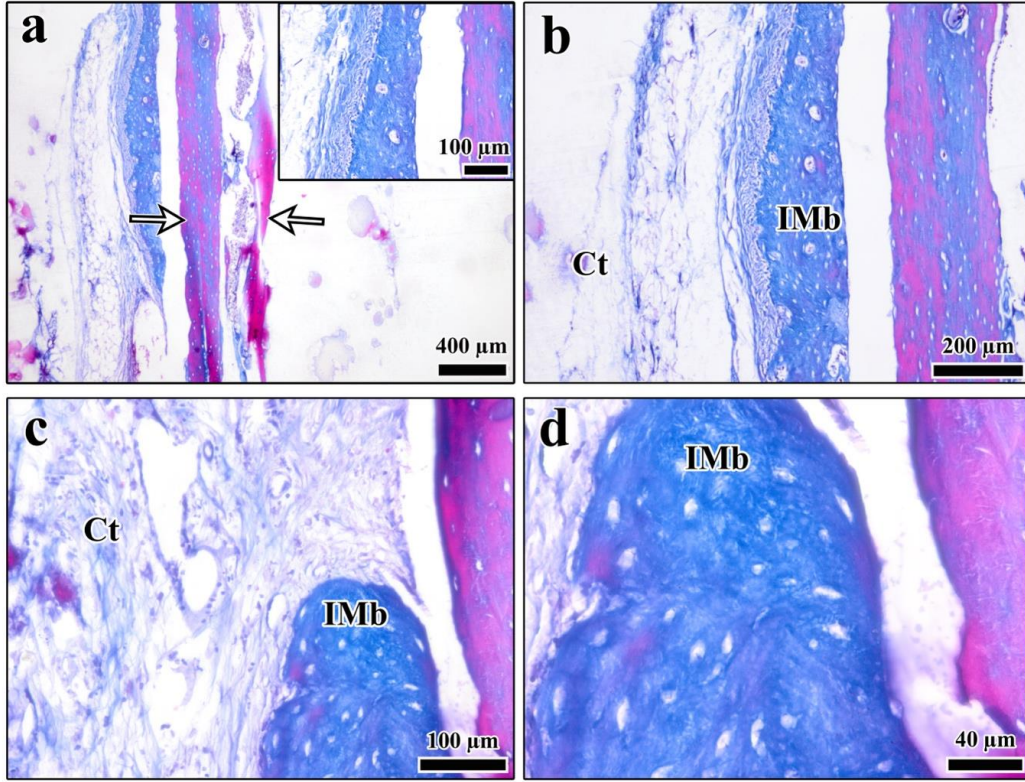
Tüm gruplara ait Masson trikrom ile boyanan kesitlerden elde edilen histolojik görüntüler incelendiğinde;

4. hafta kontrol grubunda, dekortikasyon bölgesinde, yeni oluşan kemik dokusu ve etrafındaki osteoblastlar görülmektedir (Fotoğraf 3.2).



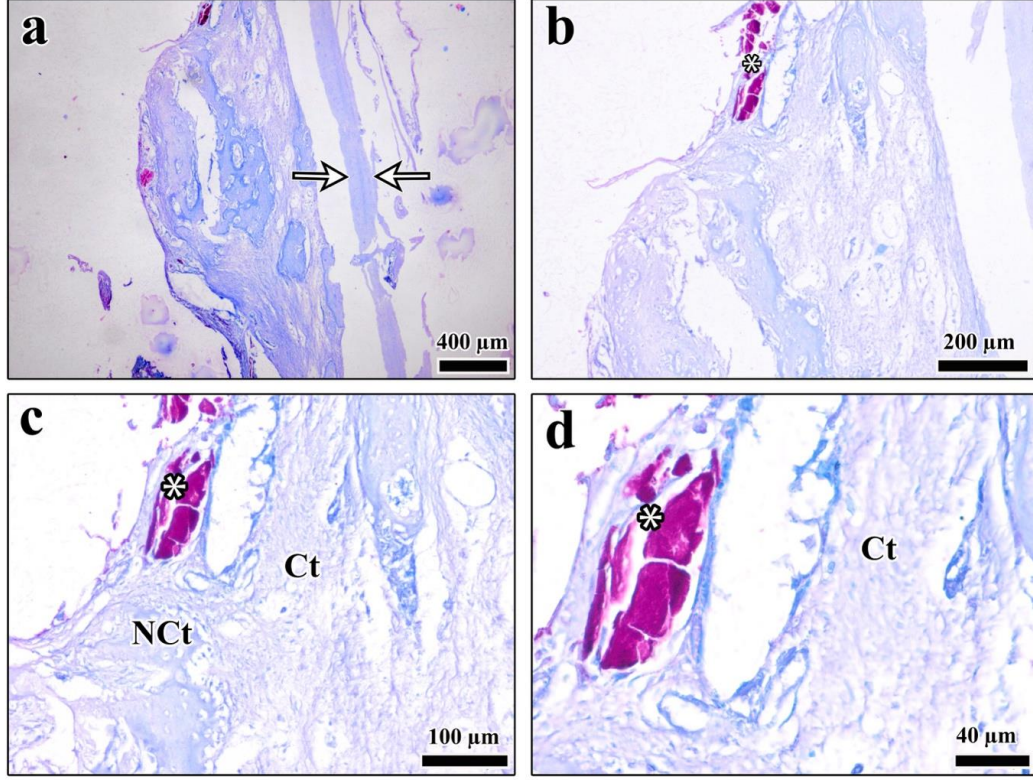
Fotoğraf 3.2. (a-d) 4. hafta kontrol grubuna ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler izlenmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasında kalvaryaya kemiğinin kompakt bölümü görülmektedir. **(b, c)** Yeni oluşan immatür kemik dokusu siyah ok ile işaretlenmektedir. **(d)** Büyük büyütmedeki görüntüde osteoblastlar (ok başı) görülmektedir. Masson trikrom boyaması.

4. hafta 1. gruba ait farklı büyütmede elde edilen görüntülerde immatür kemik yapısının ve bağ dokusunda infiltrasyon alanlarının belirgin olduğu görüldü (Fotoğraf 3.3).



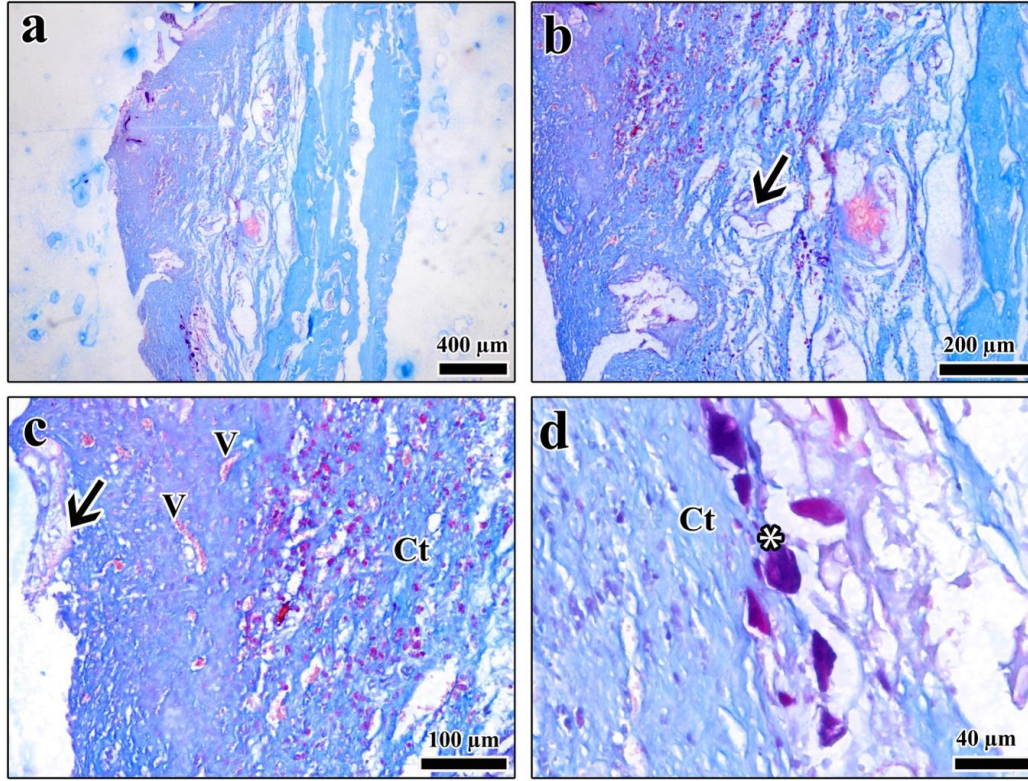
Fotoğraf 3.3. (a-d) 4. hafta 1. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler izlenmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasında kalvaryaya kemiğinin kompakt bölümü gözlenmektedir. **(b)** Yeni oluşan immatür kemik (IMb) dokusu görülmektedir. **(c, d)** Büyük büyütmedeki görüntülerde yeni oluşan immatür kemiğin (IMb) etrafındaki osteoblast yoğunluğu dikkat çekmektedir. Ct: bağ doku. Masson trikrom boyaması.

4. hafta 2. gruba ait görüntülerde, yeni oluşan kıkırdak doku matrikslerine rastlanmaktaydı. Bağ doku infiltrasyon alanları, PCL ve PGA biyomalzemelerine ait rezidüel yapıların varlığı gözlenmekteydi (Fotoğraf 3.4).

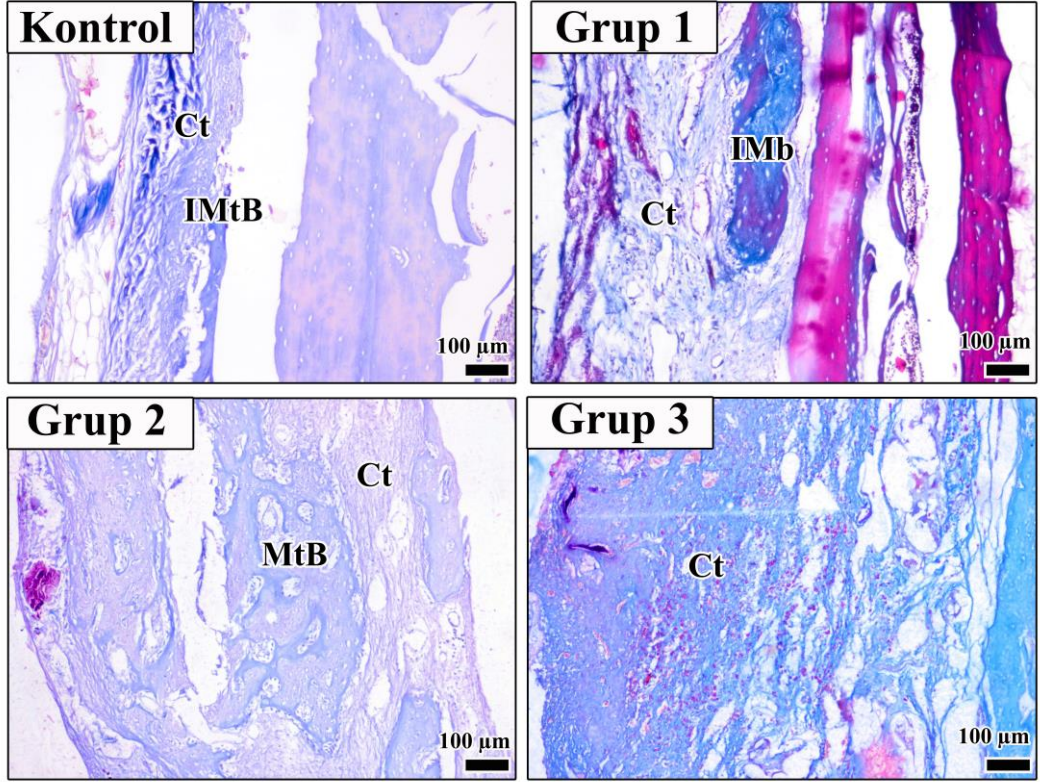


Fotoğraf 3.4. (a-d) 4. hafta 2. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler görülmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasında kalvaryaya kemiğinin kompakt bölümü gözlenmektedir. **(b, c, d)** PCL+PGA ile kaplanan bölgede, bu biyomalzemelere ait rezidüel yapıların (*) varlığı histolojik olarak gözlenmektedir. **(c)** Büyük büyütmedeki görüntüde yeni oluşan kıkırdak doku (NCt) gözlenmektedir. Ct: bağ doku. Masson trikrom boyaması.

4. hafta 3. gruba ait görüntülerde yoğun bağ doku infiltrasyon alanları ve fazla sayıda kan damarının olduğu izlendi. İmmatür kemik ve ekstraselüler matriks oluşumuna ilişkin görüntüler büyük büyütmede izlendi. Doku genelinde, PCL'den kaynaklanan rezidüel cisimlerin varlığı dikkat çekmekteydi (Fotoğraf 3.5).

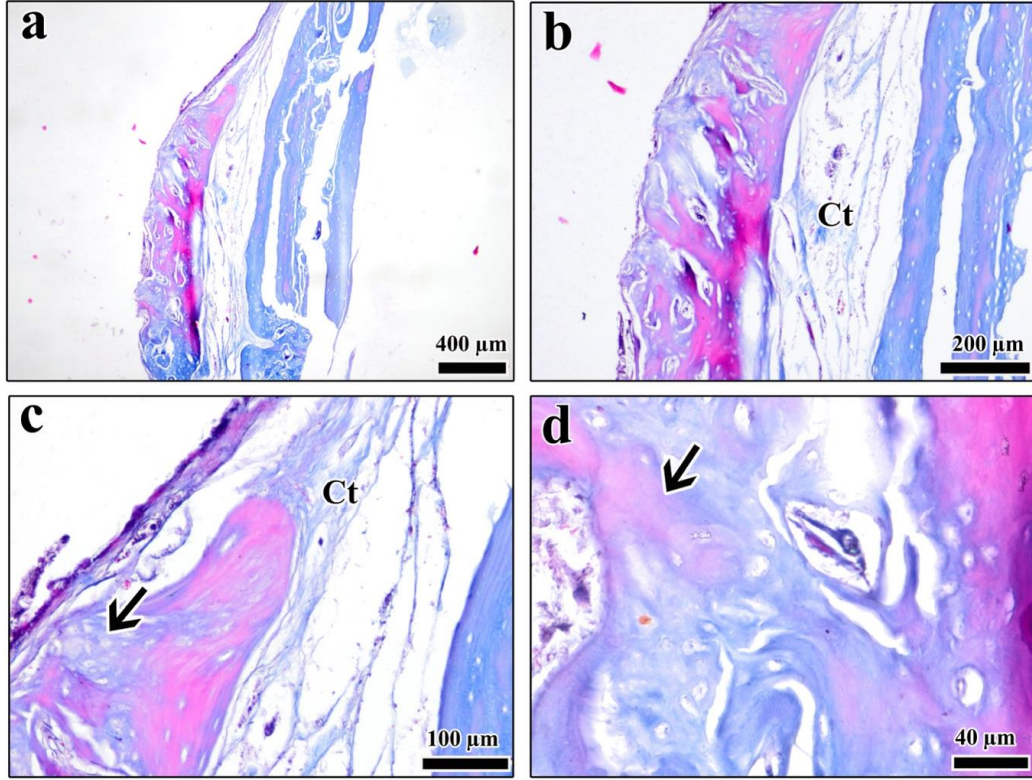


Fotoğraf 3.5. (a-d) 4. hafta 3. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler gözlenmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, PCL uygulanan bölgede bağ doku ve immatür kemik oluşumuna ait yapılar gözlenmektedir. **(b, c)** Görüntülerde bağ doku infiltrasyonu ile immatür kemik ve ekstraselüler matriks oluşumu (ok) fark edilmektedir. **(d)** PCL ile kaplanan bölgede, bu biyomalzemelerin rezidüel yapıları (*) gözlenmektedir. Ct: bağ doku, V: Damar. Masson trikrom boyaması.



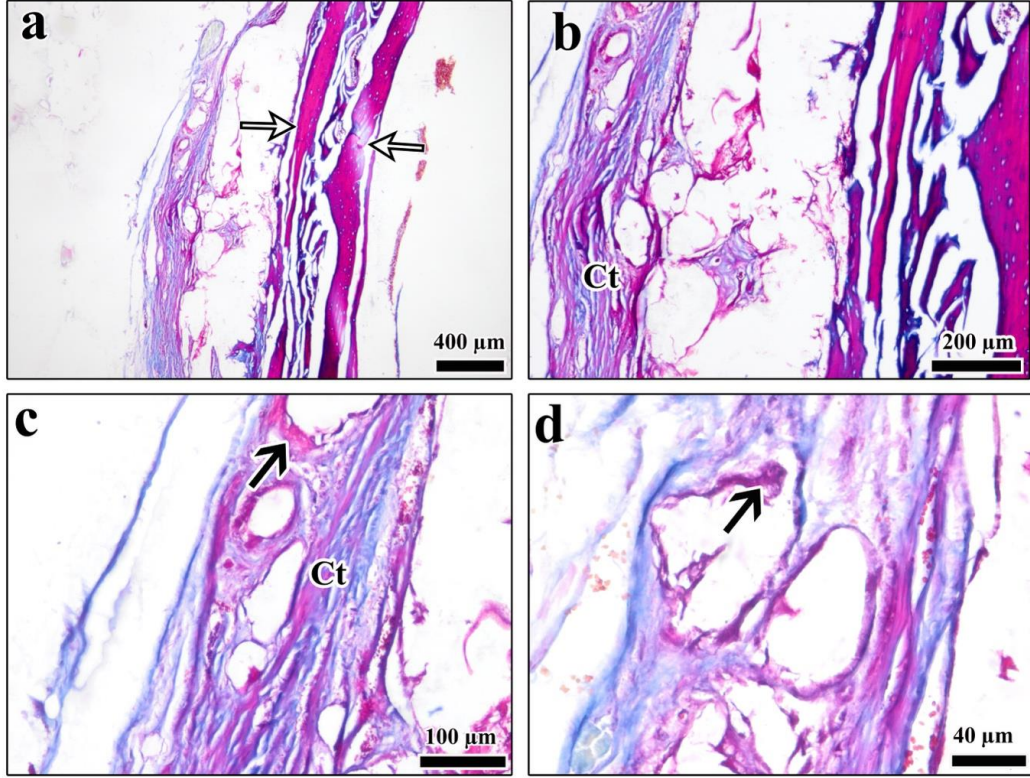
Fotoğraf 3.6. Grupların 4. haftadaki örnek histolojik kesitleri

8. hafta kontrol grubunda matür kemik alanının yoğunluğu görülmektedir (Fotoğraf 3.7).



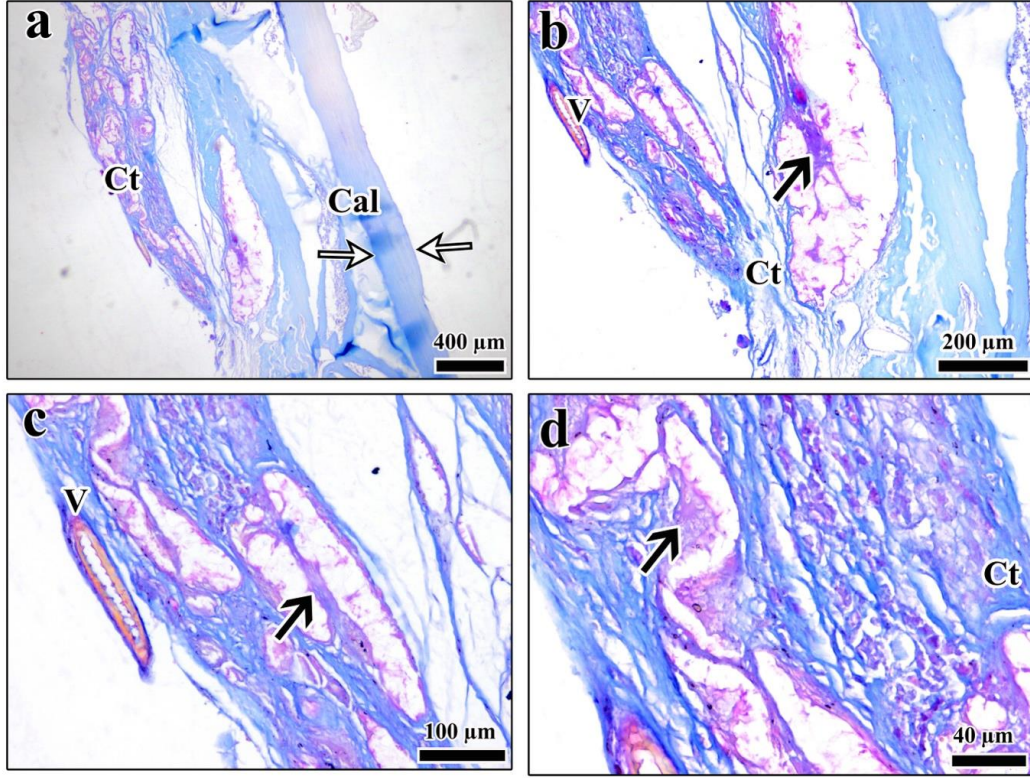
Fotoğraf 3.7. (a-d) 8. hafta kontrol grubuna ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler görülmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, matür kemik alanları ve bağ doku yoğun olarak izlenmektedir. **(b)** Özellikle, matür kemik yapısının alanda belirgin olduğu fark edilmektedir. **(c, d)** Büyük büyütmedeki görüntülerde yeni oluşan kemik dokusu ok ile gösterilmektedir. Ct: bağ doku, Masson trikrom boyaması.

Bununla birlikte, 8. hafta 1. gruba ait kesitlerde, doku rejenerasyonu esnasında oluşan boşluklar yaygın olarak gözlenmekteydi. Bu boşlukların çevresinde yeni oluşan kemik matriksinin varlığı belirgindi (Fotoğraf 3.8).



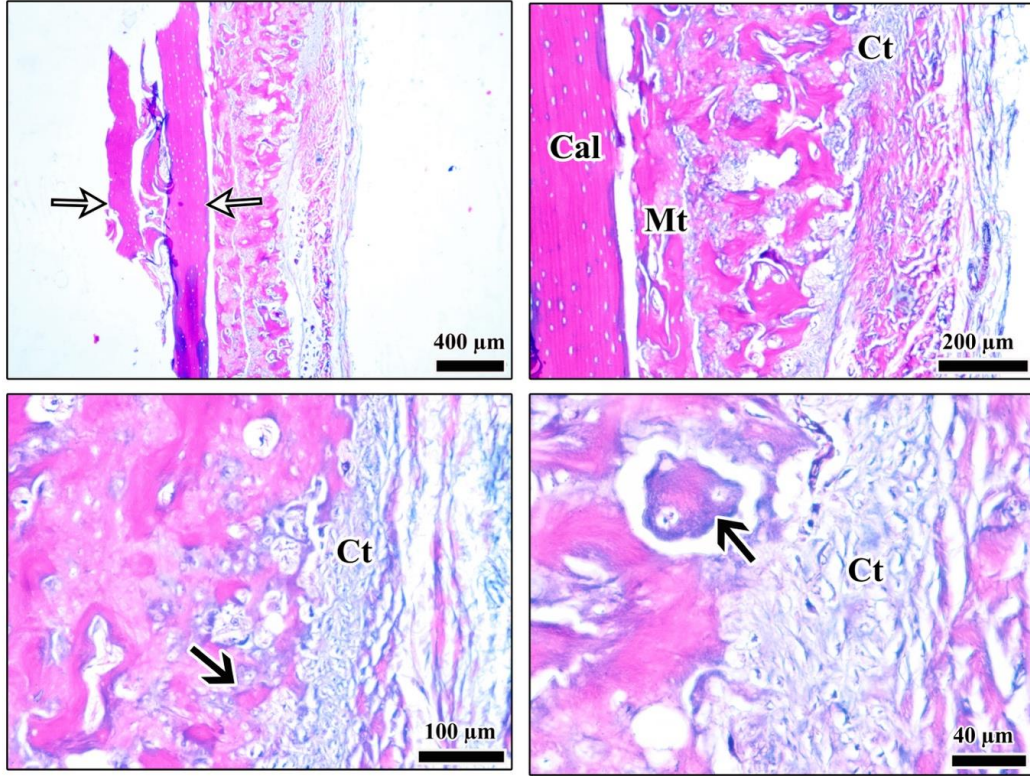
Fotoğraf 3.8. (a-d) 8. hafta 1. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler izlenmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasında kalvaryaya kemiğinin kompakt bölümü görülmektedir. **(b, c)** Alanda doku rejenerasyonu esnasında oluşan boşluklar yaygın olarak izlenmektedir. **(c, d)** Büyük büyütmedeki görüntülerde, bu boşlukların çevresinde yeni oluşan kemik matriksi (ok) dikkat çekmektedir. Ct: bağ doku. Masson trikrom boyaması.

8. hafta 2. gruba ait kesitlerde yoğun şekilde izlenen boşlukların doku rejenerasyonunun ve remodelasyonunun bir kanıtı olduğu düşünülmektedir. Bu boşlukların içerisinde immatür kemik matriksine rastlandı (Fotoğraf 3.9).

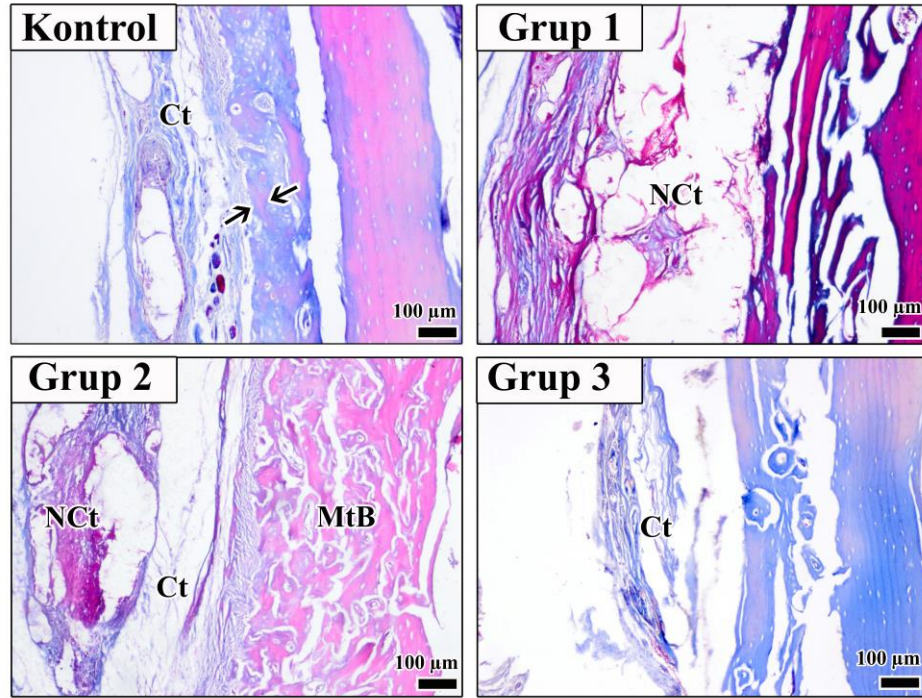


Fotoğraf 3.9. (a-d) 8. hafta 2. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler izlenmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasında kalvaryaya kemiğinin kompakt bölümü izlenmektedir. **(b, c)** Kemik rejenerasyonu esnasında oluşan boşluklar yoğun olarak görülmektedir. **(d)** Büyük büyütmedeki görüntüde, rejenerasyon esnasında oluşan boşlukların içinde yeni oluşan kemiğe ait matriks (ok) görülmektedir. Cal: Kalvaryaya kemiğinin kompakt kısmı, Ct: bağ doku, V: Damar. Masson trikrom boyaması.

8. hafta 3. grupta ise matür kemik yapısının etrafında yeni oluşan immatür kemik dokusu izlendi (Fotoğraf 3.10).



Fotoğraf 3.10. (a-d) 8. hafta 3. gruba ait farklı büyütmedeki histolojik görüntüler görülmektedir. **(a)** Genel büyütmedeki görüntüde, iki beyaz ok arasındaki alanda kalvaryaya kemiğinin kompakt kısmı işaretlenmektedir. **(b, c)** Alanda yoğun matür kemik (Mt) yapısı dikkat çekmektedir. **(c, d)** Büyük büyütmedeki görüntüde, yeni oluşan kemik alanı ve etrafında osteoblast yoğunluğu (ok) fark edilmektedir. Ct: bağ doku. Masson trikrom boyaması.



Fotoğraf 3.11. Grupların 8. haftadaki örnek histolojik kesitleri

3.3 Stereolojik Bulgular

Tablo 3.1. Grup ve zamana göre yeni kemik (matür ve immatür) dokusu miktarlarının karşılaştırılması (mm^3)

Grup	Zaman		Toplam		Test İstatistiği	p
	4. Hafta	8. Hafta				
Kontrol Grubu	3,564 (2,226 - 6,318) ^A	7,692 (4,824 - 10,02) ^{BC}	5,571 (2,226 - 10,02) ^{ab}	Grup	13,80	<0,001
1. Grup	4,134 (3,906 - 4,206) ^A	5,244 (2,862 - 7,032) ^{AC}	4,17 (2,862 - 7,032) ^a	Zaman	7,47	0,006
2. Grup	7,974 (5,04 - 9,114) ^{BC}	7,146 (6,474 - 7,359) ^B	7,253 (5,04 - 9,114) ^b	Grup x Zaman	189,72	<0,001
3. Grup	4,272 (3,894 - 5,058) ^A	4,644 (3,6 - 4,746) ^A	4,458 (3,6 - 5,058) ^a			
Toplam	4,239 (2,226 - 9,114)	5,859 (2,862 - 10,02)				

^x Robust ANOVA; ^{a-b}: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur; ^{A-C}: Aynı harfe sahip etkileşimlere göre aralarında bir fark yoktur. Karşılaştırma yöntemi olarak medyan kullanılmıştır. Ortanca (minimum – maksimum)

Zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre ortalanca yeni kemik dokusu miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,001$). Kontrol grubu için ortalanca yeni kemik dokusu miktarı $5,571 \text{ mm}^3$, 1. grup için $4,17 \text{ mm}^3$, 2. grup için $7,253 \text{ mm}^3$ ve 3. grup için $4,458 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir. 2. grup ile kontrol grubu arasında fark yok iken 2. grup diğer gruplardan farklıdır (Tablo 3.1).

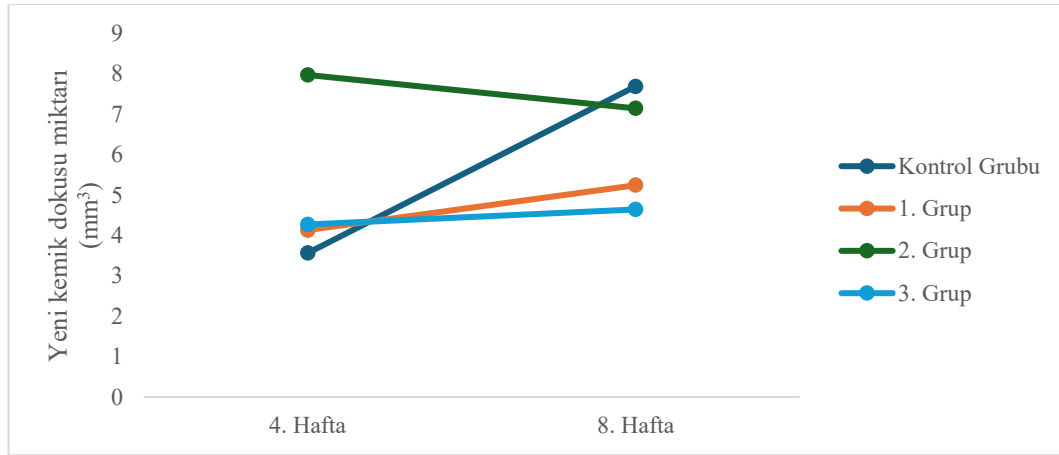
Grup gözetmeksizin zaman değişkenine göre ortalama yeni kemik dokusu miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p=0,006$). 4. Hafta için ortalama yeni kemik hacmi değeri $4,239 \text{ mm}^3$ iken 8. hafta için $5,859 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir (Tablo 3.1).

Grup x zaman etkileşimine göre ortalama yeni kemik dokusu değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Kontrol grubu için 4. hafta ortalama değer $3,564 \text{ mm}^3$ iken kontrol grubu için 8. hafta ortalama değer $7,692 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir. 1. grup için 4. hafta ortalama değer $4,134 \text{ mm}^3$ iken 1. grup için 8. hafta ortalama değer $5,244 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir. 2. grup için 4. hafta ortalama değer $7,974 \text{ mm}^3$ iken 2. grup için 8. hafta ortalama değer $7,146 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir. 3. grup için 4. hafta ortalama değer $4,272 \text{ mm}^3$ iken 3. grup için 8. hafta ortalama değer $4,644 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir (Tablo 3.1).

Kontrol grubu içerisinde zamanlara göre anlamlı fark vardır. 1. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur. 2. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur. 3. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur.

4. hafta içerisinde gruplara göre anlamlı fark vardır. 2. grup ile diğer gruplar arasında anlamlı fark vardır (Tablo 3.1).

8. hafta içerisinde kontrol grubu ile 3. grup arasında anlamlı fark vardır. Kontrol grubu ile 1. grup ve 2. grup arasında anlamlı fark yoktur. 1. grup ile 2. grup arasında anlamlı fark var iken 1. grup ile 3. grup arasında anlamlı fark yoktur. 2. grup ile 3. grup arasında anlamlı fark vardır (Tablo 3.1). Karşılaştırmalara ait harflendirmeler tablo içerisinde verilmiştir.



Şekil 3.1. Grup ve zamana göre yeni kemik (matür ve immatür) doku miktarına ait ortalama değerlerin dağılımı

Tablo 3.2. Grup ve zamana göre matür (lameller) kemik dokusu miktarlarının karşılaştırılması (mm³)

Grup	Zaman		Toplam		Test İstatistiği	p ^x
	4. Hafta	8. Hafta				
Kontrol Grubu	1,272 (1,158 - 5,034) ^{ACD}	5,856 (4,206 - 8,478) ^B	4,62 (1,158 - 8,478)	Grup	4,43	0,004
1. Grup	2,82 (1,86 - 2,85) ^C	3,57 (2,268 - 6,162) ^{ABC}	2,835 (1,86 - 6,162)	Zaman	8,05	0,005
2. Grup	6,402 (2,34 - 7,422) ^{AB}	4,824 (4,26 - 5,244) ^{BD}	5,034 (2,34 - 7,422)	Grup x Zaman	54,25	<0,001
3. Grup	2,988 (2,466 - 4,17) ^{AC}	4,17 (3,066 - 4,182) ^A	3,618 (2,466 - 4,182)			
Toplam	2,835 (1,158 - 7,422)	4,233 (2,268 - 8,478)				

^x Robust ANOVA; ^{A-D}: Aynı harfe sahip etkileşimlere göre aralarında bir fark yoktur. Karşılaştırma yöntemi olarak medyan kullanılmıştır. Ortanca (minimum – maksimum)

Zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre ortalama matür kemik dokusu miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır (p=0,004). Kontrol grubu için ortalama matür kemik dokusu miktarı 4,62 mm³, 1. grup için 2,835 mm³, 2. grup için 5,034 mm³ ve 3. grup için 3,618 mm³ olarak elde edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalarda ise istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (Tablo 3.2).

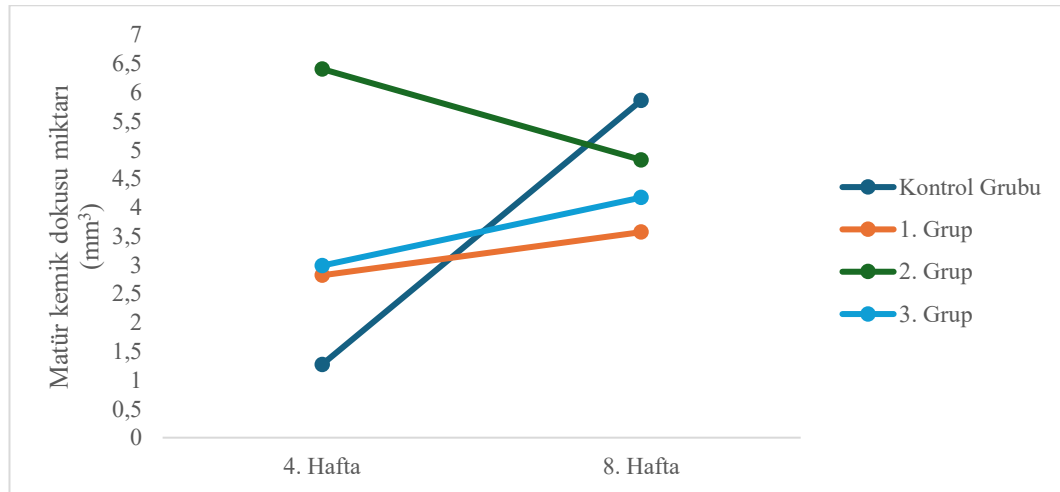
Grup gözetmeksizin zaman değişkenine göre ortalama matür kemik dokusu miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır (p=0,005). 4. hafta için ortalama matür kemik dokusu miktarı 2,835 mm³ iken 8. hafta için 4,233 mm³ olarak elde edilmiştir (Tablo 3.2).

Grup x zaman etkileşimine göre ortalama matür kemik dokusu miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Kontrol grubu için 4. hafta ortalama değer $1,272 \text{ mm}^3$ iken kontrol grubu için 8. hafta ortalama değer $5,856 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir. 1. grup için 4. hafta ortalama değer $2,82 \text{ mm}^3$ iken 1. grup için 8. hafta ortalama değer $3,57 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir. 2. grup için 4. hafta ortalama değer $6,402 \text{ mm}^3$ iken 2. grup için 8. hafta ortalama değer $4,824 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir. 3. grup için 4. hafta ortalama değer $2,988 \text{ mm}^3$ iken 3. grup için 8. hafta ortalama değer $4,17 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir (Tablo 3.2).

Kontrol grubu içerisinde zamanlara göre anlamlı fark vardır. 1. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur. 2. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur. 3. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur (Tablo 3.2).

4. hafta içerisinde gruplara göre anlamlı fark incelendiğinde, 1. grup ile 2. grup arasında anlamlı fark vardır. Kontrol grubu, 1. grup ve 3. grup arasında ise anlamlı fark yoktur (Tablo 3.2).

8. hafta içerisinde gruplara göre fark incelendiğinde, kontrol grubu, 1. grup ve 2. grup arasında anlamlı fark yoktur. 3. grup ile 1. grup arasında anlamlı fark yok iken; 3. grup, kontrol grubu ve 2. gruptan anlamlı olarak farklıdır (Tablo 3.2). Karşılaştırmalara ait harflendirmeler tablo içerisinde verilmiştir.



Şekil 3.2. Grup ve zamana göre matür (lameller) kemik dokusu miktarına ait ortalama değerlerin dağılımı

Tablo 3.3. Grup ve zamana göre immatür (woven) kemik dokusu miktarına ait ortanca değerlerin dağılımı (mm³)

Grup	Zaman		Toplam		Test İstatistiği	p
	4. Hafta	8. Hafta				
Kontrol Grubu	1,284 (0,954 - 2,406) ^{BCD}	1,542 (0,618 - 1,836) ^{BCD}	1,413 (0,618 - 2,406) ^{ab}	Grup	8,724	<0,001
1. Grup	1,386 (1,284 - 2,046) ^{BCD}	0,87 (0,594 - 1,674) ^D	1,335 (0,594 - 2,046) ^a	Zaman	0,364	0,546
2. Grup	1,692 (1,572 - 2,7) ^C	2,322 (1,23 - 3,099) ^{BC}	2,007 (1,23 - 3,099) ^b	Grup x Zaman	51,952	<0,001
3. Grup	1,284 (0,888 - 1,428) ^{BD}	0,534 (0,474 - 0,564) ^A	0,726 (0,474 - 1,428) ^a			
Toplam	1,407 (0,888 - 2,7)	1,05 (0,474 - 3,099)				

^x Robust ANOVA; ^{a-b}: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur; ^{A-D}: Aynı harfe sahip etkileşimlere göre aralarında bir fark yoktur. Karşılaştırma yöntemi olarak medyan kullanılmıştır. Ortanca (minimum – maksimum)

Zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre ortanca immatür kemik dokusu miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Kontrol grubu için ortanca immatür kemik dokusu miktarı 1,413 mm³, 1. grup için 1,335 mm³, 2. grup için 2,007 mm³ ve 3. grup için 0,726 mm³ olarak elde edilmiştir. 2.grup ile hem 1.grup hem de 3.grup arasında anlamlı fark vardır. Diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktur (Tablo 3.3).

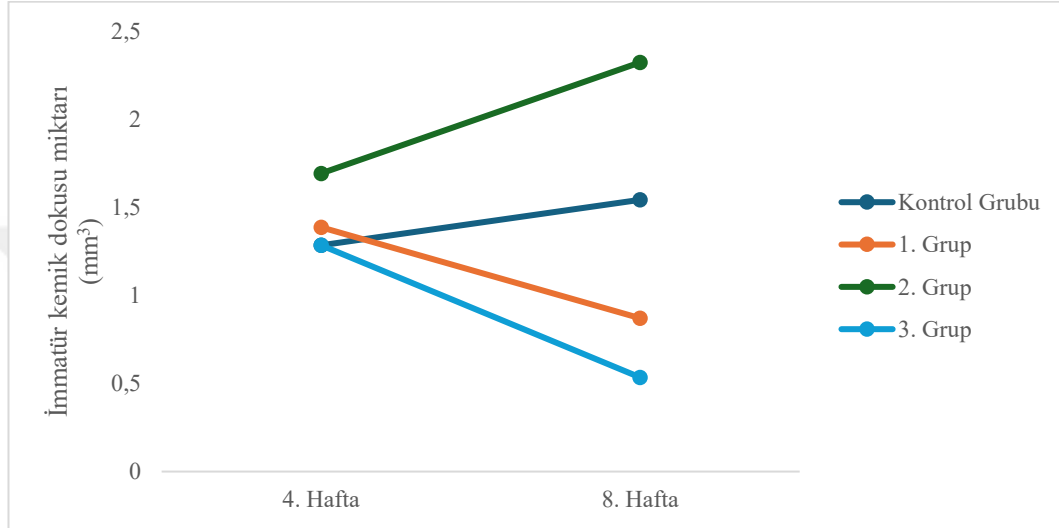
Grup gözetmeksizin zaman değişkenine göre ortanca immatür kemik dokusu miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p=0,546$). 4. hafta için ortanca immatür kemik dokusu miktarı 1,407 mm³ iken 8. hafta için 1,05 mm³ olarak elde edilmiştir (Tablo 3.3).

Grup x zaman etkileşimine göre ortanca immatür kemik dokusu miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Kontrol grubu için 4. hafta ortanca değer 1,284 mm³ iken kontrol grubu için 8. hafta ortanca değer 1,542 mm³ olarak elde edilmiştir. 1. grup için 4. hafta ortanca değer 1,386 mm³ iken 1. grup için 8. hafta ortanca değer 0,87 mm³ olarak elde edilmiştir. 2. grup için 4. hafta ortanca değer 1,692 mm³ iken 2. grup için 8. hafta ortanca değer 2,322 mm³ olarak elde edilmiştir. 3. grup için 4. hafta ortanca değer 1,284 mm³ iken 3. grup için 8.hafta ortanca değer 0,534 mm³ olarak elde edilmiştir (Tablo 3.3).

Kontrol grubu içerisinde zamanlara göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. 1. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur. 2. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur. 3. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark vardır (Tablo 3.3).

4. hafta içerisinde gruplara göre 2. grup ile 3. grup arasında anlamlı fark var iken diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktur (Tablo 3.3).

8. hafta içerisinde ise kontrol grubu ile 3. grup arasında anlamlı fark vardır. 1. grup ile 2. grup arasında anlamlı fark vardır. 1. grup ile 3. grup arasında anlamlı fark vardır. 2. grup ile 3. grup arasında anlamlı fark vardır (Tablo 3.3). Karşılaştırmalara ait harflendirmeler tablo içerisinde verilmiştir.



Şekil 3.3. Grup ve zamana göre immatür (woven) kemik dokusu miktarına ait ortanca değerlerin dağılımı

Tablo 3.4. Grup ve zamana göre bağ doku miktarlarının karşılaştırılması (mm³)

Grup	Zaman		Toplam		Test İstatistiği	p ^x
	4. Hafta	8. Hafta				
Kontrol Grubu	5,334 (4,452 - 7,32) ^{BE}	3,582 (2,142 - 4,668) ^{CD}	4,56 (2,142 - 7,32) ^{ab}	Grup	6,51	<0,001
1. Grup	7,08 (5,028 - 8,748) ^B	2,76 (0,798 - 5,478) ^{ACE}	5,253 (0,798 - 8,748) ^{ab}	Zaman	21,59	<0,001
2. Grup	8,274 (3,66 - 9,312) ^B	7,116 (2,958 - 7,752) ^{BC}	7,434 (2,958 - 9,312) ^a	Grup x Zaman	54,23	<0,001
3. Grup	5,088 (1,05 - 6,522) ^{ABD}	1,812 (1,266 - 1,926) ^A	1,869 (1,05 - 6,522) ^b			
Toplam	5,928 (1,05 - 9,312)	2,859 (0,798 - 7,752)				

^x Robust ANOVA; ^{a-b}: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur; ^{A-D}: Aynı harfe sahip etkileşimlere göre aralarında bir fark yoktur. Karşılaştırma yöntemi olarak medyan kullanılmıştır. Ortanca (minimum – maksimum)

Zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre ortanca bağ doku miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır (p<0,001). Kontrol grubu için ortanca bağ doku miktarı 4,56 mm³, 1. grup için 5,253 mm³, 2. grup için 7,434 mm³

ve 3. Grup için 1,869 mm³ olarak elde edilmiştir. 2. grup ve 3. grup arasında fark var iken diğer gruplar arasında fark yoktur (Tablo 3.4).

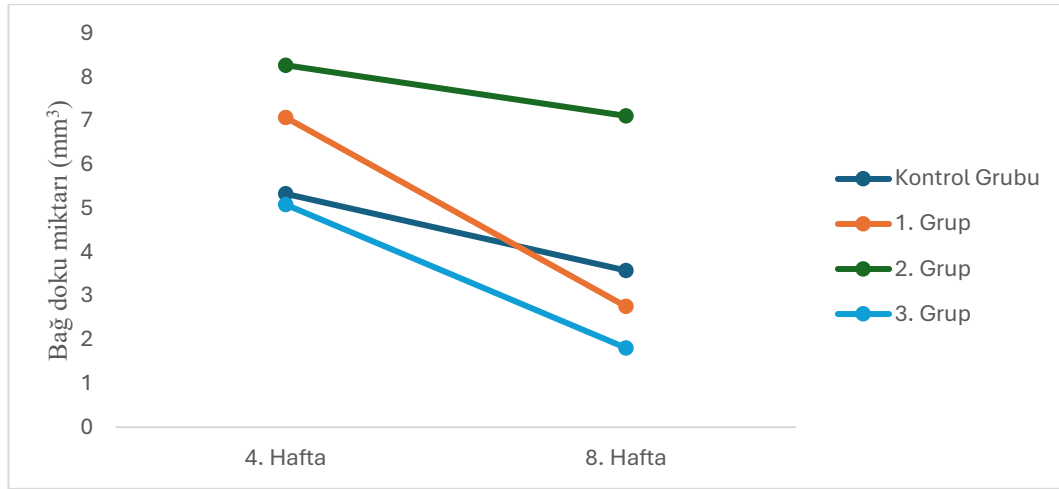
Grup gözetmeksizin zaman değişkenine göre ortalama bağ doku miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). 4. hafta için ortalama bağ doku miktarı 5,928 mm³ iken 8. Hafta için 2,859 mm³ olarak elde edilmiştir (Tablo 3.4).

Grup x zaman etkileşimine göre ortalama bağ doku miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Kontrol grubu için 4. hafta ortalama değer 5,334 mm³ iken kontrol grubu için 8. hafta ortalama değer 3,582 mm³ olarak elde edilmiştir. 1. grup için 4. hafta ortalama değer 7,08 mm³ iken 1. grup için 8. hafta ortalama değer 2,76 mm³ olarak elde edilmiştir. 2. grup için 4. hafta ortalama değer 8,274 mm³ iken 2. grup için 8. hafta ortalama değer 7,116 mm³ olarak elde edilmiştir. 3. grup için 4. hafta ortalama değer 5,088 mm³ iken 3. grup için 8. hafta ortalama değer 1,812 mm³ olarak elde edilmiştir (Tablo 3.4).

Kontrol grubu içerisinde zamanlara göre anlamlı fark vardır. 1. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark vardır. 2. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur. 3. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur (Tablo 3.4).

4. hafta içerisinde gruplara göre anlamlı fark yoktur (Tablo 3.4).

8. hafta içerisinde kontrol grubu, 1. grup ve 2. grup arasında anlamlı fark yoktur. 3. grup ile 1. grup arasında anlamlı fark yoktur. 3. grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır. 3. grup ile 2. grup arasında anlamlı fark vardır (Tablo 3.4). Karşılaştırmalara ait harflendirmeler tablo içerisinde verilmiştir.



Şekil 3.4. Grup ve zamana göre bağ doku miktarına ait ortanca değerlerin dağılımı

Tablo 3.5. Grup ve zamana göre toplam doku miktarlarının karşılaştırılması (mm³)

Grup	Zaman		Toplam		Test İstatistiği	P
	4. Hafta	8. Hafta				
Kontrol Grubu	8,898 (6,678 - 13,638) ^{CD}	12,36 (6,966 - 13,602) ^{BCD}	10,629 (6,678 - 13,638) ^{ab}	Grup	12,81	<0,001
1. Grup	11,214 (8,934 - 12,954) ^{CD}	7,83 (5,622 - 10,722) ^{AC}	9,828 (5,622 - 12,954) ^a	Zaman	1,28	0,259
2. Grup	13,314 (12,774 - 17,286) ^B	14,262 (9,432 - 15,111) ^{BD}	13,788 (9,432 - 17,286) ^b	Grup x Zaman	75,22	<0,001
3. Grup	10,146 (5,322 - 10,416) ^{AC}	5,91 (5,526 - 6,558) ^A	6,234 (5,322 - 10,416) ^a			
Toplam	10,815 (5,322 - 17,286)	8,631 (5,526 - 15,111)				

^x Robust ANOVA; ^{a-c}: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur; ^{A-E}: Aynı harfe sahip etkileşimlere göre aralarında bir fark yoktur. Karşılaştırma yöntemi olarak medyan kullanılmıştır. Ortanca (minimum – maksimum)

Zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre ortanca toplam doku miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,001$). Kontrol grubu için ortanca toplam doku miktarı 10,629 mm³, 1. grup için 9,828 mm³, 2. grup için 13,788 mm³ ve 3. grup için 5,6234 mm³ olarak elde edilmiştir. 2. grup hem 1. grup hem de 3. gruptan anlamlı farklılık göstermektedir. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktur (Tablo 3.5).

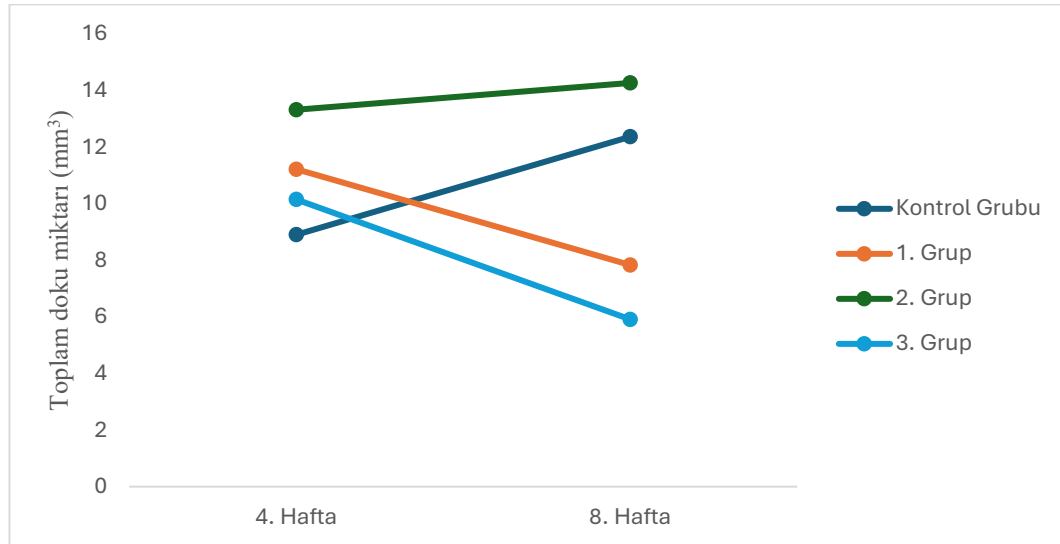
Grup gözetmeksizin zaman değişkenine göre ortanca toplam doku miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p = 0,259$). 4. hafta için ortanca toplam doku miktarı 10,815 mm³ iken 8. hafta için 8,631 mm³ olarak elde edilmiştir (Tablo 3.5).

Grup x zaman etkileşimine göre ortalama toplam doku miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Kontrol grubu için 4. hafta ortalama değer $8,898 \text{ mm}^3$ iken kontrol grubu için 8. hafta ortalama değer $12,36 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir. 1. grup için 4. hafta ortalama değer $11,214 \text{ mm}^3$ iken 1. grup için 8. hafta ortalama değer $7,83 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir. 2. grup için 4. hafta ortalama değer $13,314 \text{ mm}^3$ iken 2. grup için 8. hafta ortalama değer $14,262 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir. 3. grup için 4. hafta ortalama değer $10,146 \text{ mm}^3$ iken 3. grup için 8. hafta ortalama değer $5,91 \text{ mm}^3$ olarak elde edilmiştir (Tablo 3.5).

Kontrol grubu içerisinde zamanlar arasında anlamlı fark yoktur. 1. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur. 2. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur. 3. grup içerisinde zamanlara göre anlamlı fark yoktur (Tablo 3.5).

4. hafta içerisinde gruplara göre anlamlı fark vardır. 2. grup ile diğer gruplar arasında anlamlı fark vardır. Diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktur (Tablo 3.5).

8. hafta içerisinde kontrol grubu ile 1. grup ve 2. grup arasında anlamlı fark yoktur. 1. grup ile 3. grup arasında anlamlı fark yoktur. 1. grup ile 2. grup arasında anlamlı fark vardır. 2. grup ile 3. grup arasında anlamlı fark vardır (Tablo 3.5). Karşılaştırmalara ait harflendirmeler tablo içerisinde verilmiştir.



Şekil 3.5. Grup ve zamana göre toplam doku miktarına ait ortalama değerlerin dağılımı

Tablo 3.6. Nicel değişkenlerden elde edilen oranlara ait tanımlayıcı istatistikler

	Matür kemik hacim oranı	İmmatür kemik hacim oranı	Bağ doku hacim oranı
Kontrol Grubu			
4. Hafta	22,99 ± 12,43	16,91 ± 9,1	60,1 ± 6,5
8. Hafta	56,7 ± 8,13	11,69 ± 3,01	31,62 ± 5,77
Toplam	39,84 ± 20,71	14,3 ± 6,7	45,86 ± 16,54
1. Grup			
4. Hafta	22,67 ± 2,43	15,02 ± 6,84	62,32 ± 5,67
8. Hafta	50,78 ± 24,43	12,43 ± 2,77	36,79 ± 23,06
Toplam	36,72 ± 21,87	13,72 ± 4,88	49,55 ± 20,52
2. Grup			
4. Hafta	37,57 ± 20,27	14,21 ± 5,65	48,22 ± 17,45
8. Hafta	39,2 ± 14,47	16,61 ± 3,74	44,19 ± 11,13
Toplam	38,39 ± 15,78	15,41 ± 4,49	46,2 ± 13,27
3. Grup			
4. Hafta	40,31 ± 16,25	15,53 ± 7,85	44,16 ± 22,06
8. Hafta	63,27 ± 7,55	8,76 ± 0,83	27,97 ± 6,72
Toplam	51,79 ± 16,93	12,15 ± 6,22	36,07 ± 17,07
Toplam			
4. Hafta	30,88 ± 14,96	15,42 ± 6,45	53,7 ± 14,89
8. Hafta	52,49 ± 15,95	12,37 ± 3,78	35,14 ± 13,19
Toplam	41,69 ± 18,72	13,89 ± 5,4	44,42 ± 16,71
Ortalama ± standart sapma			

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada biyobozunur PCL ve PGA tabakalarından oluşan membranın yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu yöntemiyle, bilateral rat kalvaryal defekt modeli üzerinde yeni kemik oluşturma etkinliği histopatolojik ve stereolojik histomorfometrik olarak değerlendirildi.

Oral ve maksillofasiyal bölgedeki kemik defektleri travma, onkolojik rezeksiyonlar, konjenital bozukluklar, enfeksiyonlar, osteoradyonekroz, ilaç ilişkili çene osteonekrozu, periodontal hastalıklar ve diş çekimi sonrası rezorpsiyon nedeniyle oluşabilmektedir (Kinoshita & Maeda, 2013; Paré et al., 2019; Peterson et al., 2024; Sozzi et al., 2022; Vuletić et al., 2014). Kemik defektlerinin onarımı ve hastanın fonksiyonlarının geri kazanılması için kemik rejenerasyonu gerekir. Bu kemik defektleri genellikle otojen kemik grefti, allogreft, ksenograft veya alloplastik materyaller ile rekonstrükte edilir (Jepsen et al., 2019; Kinoshita & Maeda, 2013).

Otojen kemik greftleri, canlı osteojenik hücreler, doğal osteoindüktif sinyaller ve osteokondüktif iskeleyi bir arada sunduğu için biyolojik açıdan altın standart kabul edilir. Otogreftlerin entegrasyonu; canlı hücre içeriği, osteoindüktif sinyaller ve hızlı revaskülarizasyona bağlı olarak öngörülebilirdir. Rezorpsiyon hızı ise greftin türü (kortikal, kansellöz ve kortikokansellöz), kaynağı (intramembranöz: mandibula, maksilla, kalvaryum vb.; endokondral: iliak krest, tibia vb.) ve cerrahi koşullara bağlıdır; yüksek rezorpsiyon hacim stabilitesini olumsuz etkileyebilir. Başlıca dezavantajları sınırlı hacim, ikinci cerrahi alan gereksinimi ve donör saha morbiditesidir (ağrı, parestezi, fraktür vb.) (Mertens et al., 2013; Oppenheimer, Tong, & Buchman, 2008; Titsinides et al., 2019).

Otogreftlerin dezavantajlarını gidermek için allogreft ve ksenograft materyalleri geliştirilmiştir. Allogreftlerin başlıca sınırlılıkları arasında tedarik ve standardizasyon zorlukları, donör kaynaklı bulaşıcı hastalık riskinin tamamen ortadan kalkmaması, işlem düzeyine bağlı immünojenik/inflamatuvar yanıt ve değişken biyolojik etkinlik gelmektedir (Grover, Kapoor, Malhotra, & Sachdeva, 2011; Han, Yang, & Nimni, 2008; Wortham, 2024). Ksenogreftler, osteojenik ve osteoindüktif kapasite eksikliği, yavaş rezorpsiyonla uzun süreli partikül kalıntıları, immün yanıt olasılığı, işlenme türüne bağlı biyolojik performans değişkenliği ve

etik kaygılar gibi dezavantajlara sahiptir (Rodriguez & Nowzari, 2019; X. Sun et al., 2019; Wenz, Oesch, & Horst, 2001; Zhao et al., 2021).

Hasta sonuçlarını iyileştirmek için biyomateryaller, doku mühendisliği ve rejeneratif tıp alanlarından yararlanan yeni yaklaşımların geliştirilmesine yönelik ilgi giderek artmaktadır (Hadad et al., 2023; Herford, Miller, & Signorino, 2017; Ramezanzade et al., 2023).

YKR, yeni kemik oluşumunun biyobozunur veya biyobozunur olmayan bir membran kullanılarak yönlendirildiği bir süreçtir (Elgali et al., 2017). Ağız, diş ve çene cerrahisinde YKR; implant cerrahisinde alveolar kretin horizontal ve vertikal yetersizliklerinde membran ve greft kombinasyonlarıyla hacmi yeniden oluşturmak, peri-implant fenestrasyon tipi duvar defektlerini kapatıp kemikle doldurmak, çekim sonrası soket koruma ile rezorpsiyonu sınırlamak ve maksiller sinüs tabanı elevasyonu gibi posterior maksilladaki vertikal kemik yetersizliklerinde grefti stabilize edip yumuşak dokudan korumak amacıyla yaygın ve öngörülebilir biçimde uygulanır (Amaral Valladão Jr, Freitas Monteiro, & Joly, 2020; Buser et al., 2023; MacBeth, Donos, & Mardas, 2022).

PTFE türevleri ve titanyum gibi bozunmayan çeşitli materyaller YKR membranları olarak kullanılmıştır (Gu et al., 2022; Urban, Jovanovic, & Lozada, 2009). Bu materyaller, yeterli mekanik mukavemete sahip olmalarının yanı sıra üstün alan koruma kabiliyetine sahiptir. Ancak, ekspoz ve enfeksiyon sorunları sıklıkla bildirilmektedir (Cucchi, Bettini, et al., 2024; Gu et al., 2022).

YKR, kemik defekti olan bölgelerde epitel ve bağ dokusunun defekt sahasından izolasyonu için bariyer membranların kullanıldığı en yaygın kullanılan vertikal kemik rejenerasyonu yöntemlerinden biridir (Wang & Boyapati, 2006). Horizontal boyuttaki rejenerasyon, vertikal boyuttaki rejenerasyona kıyasla daha öngörülebilir olduğu literatürde belirtilmiştir (Cucchi, Maiani, et al., 2024; Sáez-Alcaide et al., 2023). Roccuzzo ve diğerlerinin de vurguladığı üzere, vertikal kemik rejenerasyonu artırılmak istenen hacmin kemik duvarlarıyla çevrili olmaması nedeniyle osteojenik hücrelerin yeterince toplanmasını güçleştirdiği için klinik bir zorluk olarak kabul edilir (Roccuzzo, Savoini, Dalmasso, & Ramieri, 2017). Ezirganli ve diğerleri (Ezirganli, Polat, Barış, Tatar, & Celik, 2013) erkek Yeni Zelanda tavşanı kalvaryal defekt modelinde farklı materyallerin vertikal yönde kemik ogmentasyonunu değerlendirmek için kubbe benzeri titanyum membranı teflon kapakla örterek kullanmıştır. Murata ve ark.'ları (Murata et al., 2025) vertikal

kemik rejenerasyonu elde etmek amacıyla PLCL (polilaktik asit/kaprolakton) çift katmanlı bariyer membranını dişi Wistar ratlarda kalvaryal defekt modelinde kullanmıştır. Kim ve ark.'ları (Kim et al., 2018) vertikal kemik rejenerasyonunda hacim kontrolü sağlamak amacıyla 3B basılmış naylonu erkek Sprague-Dawley (SD) ratlarda kalvaryal defekt modelinde kullanmıştır.

Bu çalışmada, dişi Wistar rat kalvaryal defekt modelinde vertikal yönde kemik rejenerasyonun sağlanması amacıyla FDM yöntemi kullanılarak 3B PCL ve PCL+PGA kubbe benzeri membran materyalleri kullanıldı.

Vertikal kemik ogmentasyonunda yumuşak doku yetersizliği membran ekspozuna yol açabilir, ekspoz sonrası kontaminasyon enfeksiyon ve greft başarısızlığı riskini artırır (Sez-Alcaide et al., 2023; Urban, Monje, & Lozada, 2017). Ekspoz sonrası PCL membranlarının kemik kazancında oluşan değişiklikleri raporlayan klinik veya deneysel bir veriye ulaşılamamıştır. Yamaguchi ve diğerleri (Yamaguchi, Munakata, Sato, Kataoka, & Kawamata, 2023) prospektif bir insan çalışmasında maksiller sinüs ogmentasyonunda kullandıkları PLA/PCL membranının ekspoz görülen olgularda enfeksiyona neden olmadığını raporlamışlardır.

Klinik olarak özellikle titanyum meş membran ekspozunun yönetilebilir olduğu protokoller (rn. lokal antiseptik bakım, mekanik plak kontrolü ve takip) (Cunha et al., 2022; JaeHyung Lim et al., 2022) ve meş ekspozunun enfeksiyon bulguları yok ise hedeflenen kemik kazanımına engel olmadığını gösteren alışmalar (Sagheb et al., 2017; Xie, Li, Zhang, Wang, & Cai, 2020) gözönünde bulundurulduğunda olguları çıkarmak yerine deneye dahil etmenin bulguların dış geçerliliğini artıracadı düşünülmektedir. Bu çalışmada kullanılan membran materyallerinin bir kısmı operasyon sonrası dönemde ekspoz olmuştur. Ekspoz sonrası kalvaryadan düşen membranlar sebebiyle çalışmaya 3 adet rat daha dahil edilmiştir. Ekspoz sonrası kalvaryada sabit duran membranlar çalışma dışında tutulmamıştır. Bu durumun, hayvanların başlarını kafeslerdeki metal sınırlayıcılara tekrarlayıcı şekilde çarpmaları sonucu oluşan mekanik travmaya bağlı gelişmiş olabileceği düşünülmektedir.

Garcia ve ark.'nın (Garcia et al., 2018) meta-analiz sonuçlarına göre YKR tedavisinden sonra membran ekspozunun kemik ogmentasyonu üzerinde önemli olumsuz etkilerini bildirmişlerdir. Wessing ve ark. (Wessing et al., 2017) ok

merkezli randomize klinik kontrollü bir çalışmada ekspoz görülmeyen vakalarda kemik ogmentasyonunun daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada membran ekspozu üzerine istatistiksel bir değerlendirme olmamasına rağmen 1. grupta (PCL+PGA ve greft) diğer gruplara göre fazla sayıda ekspoz rapor edildi. 4. haftada, 8. haftada ve zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre, 1. grubun (PCL+PGA ve greft) yeni kemik ve toplam doku miktarının 2. grubun (PCL+PGA) yeni kemik ve toplam doku miktarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az olduğu bulundu. Bu çalışmada Garcia ve ark. (Garcia et al., 2018) ve Wessing ve ark.'nın (Wessing et al., 2017) sonuçlarıyla uyumlu bulgular görüldü. Bu çalışmadaki bulgular YKR tedavisinde membran ekspozunun kemik rejenerasyonunu ve greft başarısını sınırlayan bir parametre olduğunu düşündürmektedir. Graft kullanılan PCL+PGA grubunun greft kullanılmayan PCL+PGA grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az yeni kemik ve bağ dokuya sahip olmasının bir diğer nedeni olarak histolojik prosedürlerde asidik dekalsifikasyon aşamasında greft materyallerinin çözünmüş olabileceği düşünülmektedir. Bununla beraber daha kontrollü örneklerle yürütülecek deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

3B basım, özel imalat ya da eklemeli imalat sistemi olarak, bir nesnenin katman katman basılması işlemidir. Bilgisayar ortamındaki 3B tasarım dosyası yazıcıya gönderilir, yazıcı bu tasarımı baskı tablası üzerinde katmanları art arda oluşturmak istenilen 3B yapıyı üretir (Alexander et al., 2021). FDM, tıbbi ve biyomedikal uygulamalarda en yaygın kullanılan yazdırma yöntemlerinden biridir. Ekipman ve sarf maliyetlerinin görece düşük olması, hızlı prototipleme ve tekrarlı denemeleri kolaylaştırır (Mamo, Adamiak, & Kunwar, 2023). PCL, çok sayıda kullanışlı materyal özelliği nedeniyle doku mühendisliğinde potansiyel kullanımı açısından kapsamlı olarak incelenen polimer bazlı bir biyomateryaldir. Bu özelliklerinden biri, materyali FDM gibi hızlı prototipleme teknolojilerine uygun hale getiren düşük erime sıcaklığıdır (He, Feng, Ma, & Ramakrishna, 2008). Bu çalışmada 3B PCL membran üretimi için baskı sürecindeki hassasiyeti, nispeten düşük maliyeti ve güçlü tekrarlanabilirlik özelliklerine sahip olması sebebiyle FDM 3B yazıcı yöntemi kullanıldı.

PCL, yarı kristalin, doğrusal bir alifatik poliester olup; uygun biyoyumluluk ve biyobozunma özelliklerinin yanı sıra istenen mekanik performansı sergileme potansiyeline de sahiptir (Christen & Vercesi, 2020).

PCL'nin 3B yazıcılar ile kullanımlarının artmasının sebepleri arasında; düşük erime sıcaklığıyla kolay ve stabil yazdırılabilmesi, biyouyumluluğu, biyobozunur özelliği, yüzey modifikasyonlarına elverişli yapısı ve uygun maliyeti sayılabilir (Bruyas et al., 2018; Loewner et al., 2022). PCL'nin hidrofobik yapısının, hücrelerin tutunması, afinitesi ve çoğalmasının azalması gibi in vivo sınırlamalar getirir (Qin et al., 2022; Y. Yang et al., 2022). Literatürde in vivo olarak aynı model içerisinde doğrudan YKR veya yeni kemik oluşumu üzerinden PCL'yi tek başına ayrı bir çalışma grubu olarak diğer sentetik polimerlerle karşılaştırmalı sonuçlar veren çalışmalar oldukça sınırlıdır. Chen ve ark. (Chen et al., 2021) 3B basılmış büyük gözenek boyutlu bir PCL skafoldunu kullanarak erkek S-D rat kritik boyuttaki kalvaryal defektlerinde kemik grefti veya membran bariyeri olmadan yeni kemik oluşumu için bir mimari sağlayabildiklerini bildirmişlerdir. H.Sun ve diğerleri (H. Sun, Mei, Song, Cui, & Wang, 2006) PCL'nin dişi Wistar rat subkutan implantasyon modelinde 2 yıl şekil bütünlüğünü koruduğunu bildirmiştir. K.Hwang ve diğerleri (K. Hwang, Villavicencio, & Agdamag, 2021) mevcut iki genç erişkin olguda hastaya spesifik implantlarla yapılan kranioyoplastide PCL- β -TCP materyalinin uzun dönem (8. ve 20. aylarda) takiplerindeki görüntülemelerde defekt bölgelerinde kemikleşme olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada kontrol grubunda (PCL) 8. haftada oluşan yeni kemik ve matür kemik miktarı 4. haftaya kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla bulundu. Kontrol grubunun 4. haftada yeni kemik miktarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde 2. gruptan (PCL+PGA) az iken 8. hafta ve zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre yeni kemik miktarı bakımından 2. grup ile arasında anlamlı bir fark yoktur. Bu çalışmada PCL'nin kemik rejenerasyonunda hidrofobik yapısı nedeniyle oluşan endişeye karşın uzun dönemde sağladığı stabil yapıyla birlikte hidrofilik modifikasyonları olmadan da kullanılabileceği yönünde düşünülmektedir. Sonuçların genellenebilirliği için daha uzun deney sonlanım süreleriyle yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Hücrelerin sentetik materyallere yapışması, ıslanabilirlik, pürüzlülük ve yüzey yükü gibi yüzey özelliklerinden etkilenir (Ratner, 2004). Yüzey ıslanabilirliği, implante edilen bir materyale karşı biyolojik tepkiyi etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Islanabilirlik, protein adsorpsiyonunu, trombosit yapışmasını/aktivasyonunu, kan pıhtılaşmasını ve hücre ile bakteri yapışmasını etkiler (Choe et al., 2004; Sethuraman, Han, Kane, & Belfort, 2004). Bu sorunları

gidermek için, PCL'nin hidrofilikliğini artırmak amacıyla çeşitli yüzey modifikasyon teknikleri araştırılmıştır (Gharibshahian et al., 2023). PCL'nin diğer bileşenlerle karıştırılması veya kopolimerleştirilmesi, mekanik, yüzey ve fizikokimyasal özelliklerinin değişmesine yol açar. Çeşitli araştırmacılar, PCL'nin özelliklerini geliştirmek için metallerin (Shao et al., 2019; S. Wang et al., 2022), seramiklerin (Fathi-Achachelouei et al., 2019; Y. Zhang et al., 2018) ve polimerlerin (K.-S. Hwang et al., 2017; T. Xu et al., 2018) PCL ile kombinasyonunu kullanmıştır. Matsumoto ve ark. (Matsumoto et al., 2012) beagle köpeklerinde mandibula deneysel defekt modellerinde Ti-PTFE ile karşılaştırıldığında, makrogözenekli biyobozunur PLGC membranının, defekt bölgelerindeki yeni kemik miktarında önemli ölçüde artırmadığını ancak olgun kemiğin yenilenmesini kolaylaştırdığını bildirmişlerdir. Jiangfeng ve ark.'ları (Jiangfeng Li et al., 2022) MBG/PGA-PCL kompozit skafoldları üretirken PGA-PCL kopolimerini çözelti döküm partikül uzaklaştırma yöntemini kullanarak 3B poröz skafold yapısını elde etmişlerdir. Jonnalagadda ve diğerleri (Jonnalagadda, Rivero, & Warzywoda, 2015) in vitro bir çalışmada elektroğirme tekniği ile PCL/PGA karışık lifler üretmişlerdir, PGA içeriği arttıkça hidrofilite ve su tutma artışıyla beraber hidrolitik bozunma hızlandığını bildirmişlerdir. Spearman ve diğerleri (Spearman, Rivero, & Abidi, 2014) PCL ve PGA'yı HFIP çözücüsünü kullanarak çözelti elektroğirme yöntemiyle karışık lif yapısı elde ettiğini bildirmişlerdir. Yaseri ve diğerleri (Yaseri, Fadaie, Mirzaei, Samadian, & Ebrahiminezhad, 2023) in vitro bir çalışmada elektroğirme ile hazırlanan PCL nanoliflerin hidroliz ve aminoliz yoluyla yüzey modifikasyonu, ıslanabilirliği artırarak hücresel adezyon ve proliferasyonu iyileştirdiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, in vivo uygulamalarda hücre tutunması ve çoğalması açısından endişe oluşturan hidrofobik PCL membranının kemik defektine bakan iç yüzeyi, hidrofilik ve biyobozunur PGA ile eriterek kaplama yöntemi kullanılarak modifiye edildi. Bu yöntem sitotoksik çözücü kalıntısı bırakmaması, PCL membranının çözücülerden etkilenecek yapısal stabilitesinin bozulmasını önlemesi, hızlı ve ekonomik bir üretim olanağı sunması nedeniyle tercih edildi.

Magazzini ve ark.'nın (Magazzini et al., 2021) yaptığı in vitro bir çalışmada PCL veya PLLA'ya PGA eklenmesiyle oluşan karışımlarda su temas açısının düşürek ıslanabilirliğin artırıldığı belirtilmektedir. Seo ve ark. (Seo et al., 2009) PGA ve ipek skafoldları karşılaştırdığı bir çalışmanın in vitro aşamasında

mezenkimal kök hücrelerin başlangıç hücre adezyonunun (ilk 12 saatte) PGA örgü skafoldlarda ipek skafoldlara göre daha üstün olduğunu ancak proliferasyon evresinde (21. günde) hücre yoğunluklarının benzer seviyeye geldiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada in vivo aşamasında 4 S-D rat subkutan modelinde PGA'nın daha belirgin monosit-makrofaj infiltrasyonu ile daha güçlü iltihabi yanıt oluşturduğunu bildirmişlerdir. Ceonzo ve ark. (Ceonzo et al., 2006) PGA hidroliz ürünlerinin in vitro insan serumunda ve in vivo fare intraperitoneal modelinde kompleman sistemini uyarak akut inflamasyonu tetiklediğini bildirmişlerdir. Literatürde PGA'nın kemik dokusu içinde asidik bozunma ürünlerinin zaman-pH düzeylerini nicel olarak veren bir in vivo veya in vitro çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada 4. haftada, 2. grupta (PCL+PGA) oluşan yeni kemik dokusu ve toplam doku miktarı, diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu.

4. haftada, 8. haftada ve zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre oluşan yeni kemik ve toplam doku miktarı karşılaştırıldığında 2. grup (PCL+PGA), 1. grup (PCL+PGA, greft) ve 3. gruba (PCL) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

4. haftada, 8. haftada ve zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre oluşan yeni kemik, immatür kemik ve toplam doku miktarı karşılaştırıldığında 2. grup, 3. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

8. haftada, matür kemik, immatür kemik, bağ doku ve toplam doku miktarı karşılaştırıldığında 2. grup 3. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. 8. haftada ve zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre oluşan yeni kemik ve toplam doku miktarı karşılaştırıldığında 2. grup ile kontrol grubu (PCL) arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Bu çalışmada hidrofilik PGA biyopolimerinin PCL'nin iç yüzeyine kaplanmasıyla elde edilen membran modifikasyonunun hidrofilik yüzeyi sayesinde erken pıhtı stabilizasyonunu ve hücre adezyonunu artırarak 4. haftada greft kullanmaksızın kemik rejenerasyonunu artırdığı düşünülmektedir. Zaman gözetmeksizin grup değişkenine göre kontrol grubuyla (PCL) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasa da yeni kemik ve toplam doku miktarı yönünden kontrol grubundan daha fazla olduğu görülmektedir. 4. haftada kemik rejenerasyonunda anlamlı bir şekilde üstün özellik gösteren PCL+PGA membranının 8. haftada bu özelliği gösterememesinin nedeni olarak PGA'nın

asidik bozunma ürünlerinin lokal pH'ı düşürerek kemik rejenerasyonunun sınırlanmasına sebep olduğunu düşünülmektedir. PGA'nın uzun dönem etkilerini görebilmek için daha uzun deney sonlanım süreleriyle yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada histopatolojik incelemelerde 4. haftada 2. grupta (PCL+PGA) saptanan kırıldak adacıklarının, YKR'nin oluşturduğu sınırlı difüzyon ve erken inflamasyon bağlamında görülen geçici endokondral benzeri fazı içerdiği düşünülmektedir. Kırıldak matriksinin zamanla remodelasyon ile yeni kemik dokusuna yer değiştirdiği düşünülmektedir. 8. haftaya ait kesitlerde yoğun şekilde izlenen boşlukların içinde yeni oluşan kemiğe ait matriksin remodelasyonuna bir kanıt olduğu düşünülmektedir.

Gama ışınlama yöntemiyle sterilizasyon PCL'de zincir kopmasını ve çapraz bağlanmayı indüklediği bilinmektedir (Cottam, Hukins, Lee, Hewitt, & Jenkins, 2009). Radyasyonla ilişkili tehlikeler ve yöntemin erişilebilirliğinin kısıtlı olması klinik ve laboratuvarlarda yaygın kullanımını engellemektedir (Dai et al., 2016). Bir diğer yöntem olan etilen oksit ile sterilizasyon ise polimerleri yumuşatıp plastikleştirerek lif çaplarını ve yüzey pürüzlülüğü değerlerini değiştirebilmekte ve toksik etilen oksit gazı artık bırakabilmektedir (Andrews, Hunt, & Black, 2007). FDM ile üretilen termoplastik materyallerin düşük sıcaklıkta hidrojen peroksit gaz plazma sterilizasyon yönteminin protokollerine uyulduğunda boyutsal ve mekanik bütünlüğün klinik kullanım açısından korunabildiği gösterilmiştir (Oth, Dauchot, Orellana, & Glineur, 2019; Toro, Cardona, Restrepo, & Buitrago, 2021). PCL tabanlı membran çalışmalarında hidrojen peroksit gaz plazma sterilizasyon yöntemi uygulandığı raporlanmıştır (Y. Wang, Liu, Song, Cao, & Wang, 2024). Bu çalışmada sterilizasyon için düşük sıcaklık avantajı ve boyutsal deformasyonu minimal düzeyde tutması sebebiyle hidrojen peroksit gaz plazma sterilizasyon yöntemi kullanıldı.

Hayvan modelleri ve daha spesifik olarak kemirgen modelleri kemik dokusunun rejenerasyonuna yönelik çok çeşitli yaklaşımların geliştirilmesine büyük katkı sağlamıştır (Hatt, Thompson, Helms, Stoddart, & Arment, 2022). Kemik rejenerasyonu ile ilgili olarak kemirgenler daha iyi bir maliyet-etkinlik oranı, daha kolay barındırma ve deney hayvanı olarak kullanım kolaylığı sağlamaları nedeniyle biyomateryallerin test edilmesinde klinik öncesi çalışmalarda kemik dokusunun rejenerasyonu için in vivo testlerde en yaygın

kullanılan hayvan modelleri arasındadırlar. Genetik olarak benzer bireylerde deney koşullarının standardizasyonu sağlanabilmektedir (Gomes & Fernandes, 2011; Pellegrini, Seol, Gruber, & Giannobile, 2009). Rat kalvaryal defekti, insan uygulamalarına potansiyel oluşturmaları için daha büyük hayvanlara geçmeden önce kemik rejenerasyonunu değerlendirmek, farklı biyomateryalleri veya doku mühendisliği uygulamalarını test etmek için kullanılabilmektedir (Muschler, Raut, Patterson, Wenke, & Hollinger, 2010). Biyomateryal kullanımı veya kemik rejenerasyon stratejisinin amacı göz önüne alındığında, ratların deney hayvanı olarak yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunun in vivo değerlendirilmesinde hızlı ve yüksek verimli bir deney hayvanı olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma yalnız dişi Wistar ratlarda yürütüldü. Östrus evrelemesi yapılmadı. Dişi kemirgenlerin verilerinin erkeklerden daha değişken olmadığını ve çoğu deneysel özellik için östrus evresinin izlenmesinin zorunlu olmadığını belirten çalışmalar mevcuttur (Beery, 2018; Dayton et al., 2016; Percie du Sert et al., 2020). Cinsiyet farklarını test etmek amaçlanmadığından tek cins seçimi, dişi kemirgenlerin verisinin erkeklerden daha değişken olmadığına ilişkin meta-analiz kanıtlar ve model uygunluğuna dayandırıldı (Beery, 2018; Clayton & Collins, 2014; Percie du Sert et al., 2020; Prendergast, Onishi, & Zucker, 2014).

Yaygın yassı kemik modelleri arasında kalvaryum, kosta ve ilium bulunur. Yük taşımayan bu kemikler, fiksasyon olmaksızın birden fazla kritik boyut defektinin kullanımına olanak tanır ve intramembranöz kemikleşme türleri arasında oldukça korunmuştur (CONNOLLY, HAHN, & DAVY, 1978; Jiwon Lim, Lee, Yun, Shin, & Park, 2013). Hem kafatası hem de çene kemikleri gelişimsel olarak intramembranöz kemikleşmeyle oluşur (Verna, Bosch, Dalstra, Wikesjö, & Trombelli, 2002). Bu nedenle kafatası kemiği küçük hayvanlarda ekstrakortikal vertikal kemik oluşumunu test etmek için uygun bir deneysel model olarak kullanılabilir (Zigdon, Lewinson, Bick, & Machtei, 2014). Bu çalışmada paryetal defektlerin üzeri kubbe formundaki membranlarla kapatıldı. Bu yaklaşım, klasik YKR prensiplerine uygun olarak, yumuşak doku invazyonunun engellenmesi ve defekt bölgesinde kemik rejenerasyonuna elverişli bir mikro çevre sağlanması amacını taşır. Özellikle kubbe formunun sağladığı üç boyutlu hacim koruyucu etki, rejenerasyon hacminin artırılmasında kritik rol oynar. Rat kalvaryasında kullanılan rijit kubbe tipi bariyerlerin, düz membranlara kıyasla daha fazla kemik yüksekliği

sağladığını bildirilmiştir (Kim et al., 2018; S. J. Lee et al., 2001; Zigdon et al., 2014).

Ratların metabolizma hızı insanlara kıyasla daha yüksektir. Yeni kemik oluşum hızı metabolizma hızından etkilenmesi sebebiyle osteojenik potansiyel insanlara kıyasla daha yüksektir (Schlegel, Lang, Donath, Kulow, & Wiltfang, 2006). Bu çalışmada kemik rejenerasyonu sürecinin farklı aşamalarını histolojik ve stereolojik histomorfometrik analiz ile gözlemlemek adına, 4 ve 8 haftalık deney süreleri seçilmiştir. 4. hafta erken osteogenezin gözlemlendiği, 8. hafta ise geç dönem matür kemik oluşumunun değerlendirilebildiği kritik zaman dilimleridir (Oh, Hu, & Kim, 2019). Ratlarda kalvaryal defektler için 4 haftalık bir iyileşme süresi erken iyileşme, 8 haftalık bir süre ise geç iyileşme olarak değerlendirilebilir. Rat kalvaryal defektlerinde kritik iyileşme süresinin 4 ila 8 hafta arasında olduğu bilinmektedir (Cooper et al., 2010; Gosain et al., 2000). 4. haftadaki zaman noktası, erken dönemdeki yeni kemik dokusunun oluşumu, 8. hafta ise, geç dönemdeki yeni kemik dokusu oluşumu ve yeni kemiğin remodelasyon sürecinin incelenmesi amacıyla belirlendi. Böylece uygulanan rejeneratif yöntemin hem kısa vadeli biyolojik yanıtları hem de uzun dönem stabiliteleri analiz edilebildi. Süreye bağlı morfolojik farklılıkların belirlenmesi hem tedavi etkinliğinin hem de rejeneratif sürecin zamansal dinamiklerinin anlaşılması açısından önemlidir.

Bu çalışmada grup gözetmeksizin zaman değişkenine göre 8. haftadaki yeni kemik doku miktarının 4. haftaya kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla olduğu; grup gözetmeksizin zaman değişkenine göre 8. haftadaki bağ doku miktarının 4. haftaya kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde az olduğu bulundu. Grup gözetmeksizin zaman değişkenine göre 8. haftadaki matür kemik miktarı 4. haftaya kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla olduğu bulundu. Bu bulgular YKR tedavisinde oluşan kemiğin miktarında ve kalitesinde zamanla beraber artış olduğunu göstermektedir.

Kemik dekortikasyonu, kemik rejenerasyonunu artırmaya yönelik yardımcı bir teknik olarak kabul edilmektedir. Bu uygulamanın temel amacı, kortikal tabakanın perforasyonu yoluyla alttaki vasküler ve osteoprogenitör hücrelerin defekt bölgesine geçişini kolaylaştırmaktır. Önceki çalışmalar, dekortikasyonun bağ dokusunda anjiyogenezi uyardığını ve greftlenen alanda hızlı bir revaskülarizasyon sağlayarak osteogenezi hızlandırdığını ortaya koymuştur (Alvira-González & De Stavola, 2020; S.-H. Lee, Lim, & Yoon, 2014). Bu

fizyolojik süreçler, özellikle greft materyalinin entegrasyonu ve stabilizasyonu açısından önemli katkı sağlar.

Bununla birlikte, dekortikasyonun her zaman avantajlı sonuçlar doğurmayabileceği de bildirilmiştir. Literatürde, bu işlemin cerrahi sahada ek travma yaratabileceği, dekortikasyon sayısının artırılmasının yeni kemik oluşumu üzerinde ek bir katkı sağlamayabileceğini belirten, periosteal ve kortikal bütünlüğün bozulmasına bağlı olarak donör bölgede sınırlı düzeyde kemik hacmi kaybına neden olabileceğini belirten çalışmalar mevcuttur (Danesh-Sani, Tarnow, Yip, & Mojaver, 2017; Slotte & Lundgren, 2002). Ancak bu potansiyel kayıpların, erken dönemde artmış anjiyogenez ve osteoblastik aktiviteyle telafi edilebildiği böylece genel kemik formasyonunun net olarak olumlu etkilendiği bildirilmiştir (S.-H. Lee et al., 2014; Nishimura, Shimizu, & Ooya, 2004).

Bu çalışmada, her bir paryetal kemikte yaklaşık 1 mm çapında 3 adet kortikal dekortikasyon alanı oluşturulmuştur. Bu sayı anatomik sınırlar gözetilerek sınırlı tutulmuştur. Dolayısıyla, bu çalışmada tercih edilen her paryetal kemikte 3 adet dekortikasyon uygulamasının, rejeneratif süreçleri desteklerken aynı zamanda rat paryetal kemik sınırlarının içinde kalması ve kullandığımız 3B membranların çapına uygun deneysel standardizasyon sağlaması açısından da uygun bir yaklaşım sunduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada kontrol grubu hariç diğer 3 deney grubunda hayvanların kuyruğundan kuyruk ucu kesisi yöntemiyle, kuyruk ucunun distalinden yaklaşık 2 mm'lik bir segment steril makas yardımıyla kesildi. Kuyruk ucundan alınan taze otolog kan, defekt bölgesine membranlar üzerinde oluşturulan delik üzerinden uygulandı. Kontrol grubunda, otolog kan enjeksiyonu uygulanmadığı halde membranın tepesinde diğer membran bölgelerinde olduğu gibi delik oluşturulması deney standardizasyonu açısından uygulandı. Fare ve ratlarda kuyruk ucundan 5 mm'den fazla doku eksizyonu önerilmeyip, işlem yalnızca uygun hemostaz koşullarında ve yaşlı hayvanlarda kullanılmaması koşuluyla yapılmaktadır. Ayrıca kuyruk damarına tekrarlayan insizyonlardan kaçınılması önerilmektedir. Tekrarlayan yaklaşımlar ratlarda granülom gelişimi gibi ek morbiditelere yol açabilmektedir (Dülsner et al., 2017)..

Otolog kanın defekt bölgelerine uygulanması, insan klinik pratiğinde greftlerin hastadan alınan otolog kan ile karıştırılması ya da PRF (trombositten zengin fibrin) ve PRP (trombositten zengin plazma) gibi kan ürünlerinin

kullanılması pratiğini yansıtmaktadır (Fan, Perez, & Dym, 2020; Xie, Qin, Wei, & Niu, 2024). Ototolog kanın uygulanması, içerdği trombositler ve büyüme faktörleri sayesinde rejeneratif süreci biyokimyasal düzeyde desteklemektedir (Ehrenfest et al., 2014). Ayrıca fibrin ağı oluşturularak greft partiküllerinin stabilizasyonu sağlanmakta ve hücrel göç için uygun bir matriks oluşturulmaktadır (Gheno et al., 2022; Tran, 2021). Bir çalışmada 3B nano partiküllü PCL skafoldaların yüzeyinden iç yapısına doğru kanın infiltre olup stabil pıhtılar oluşturduğunu ve bu pıhtılaşmanın in vivo kemik oluşumundaki artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Tran, 2021). Rezuc ve diğerlerinin (Rezuc, Saavedra, Maass, Poblete, & Nappe, 2020) tavşan tibia defektlerindeki yaptıkları bir çalışmada PRF'nin tek başına veya greft kombinasyonu ile uygulanmasının kemik oluşumunda üstünlüğü olmadığını bildirmişlerdir. Beitlitum ve diğerleri (Beitlitum, Rayyan, Slutzkey, Raz, & Sarig, 2025) dişi Yeni Zelanda tavşanlarında oluşturdukları kalvaryal defektlerde membran ve greft kombinasyonlarının, membran ve kan kombinasyonundan yeni kemik oluşumu yönünden daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada kontrol grubu (PCL ve dekortikasyon) ile 3. grup (PCL, dekortikasyon ve otolog kan) arasında otolog kanın eklenmesi yönünden değerlendirildiğinde 4. haftada yeni kemik, matür kemik, immatür kemik, bağ doku ve toplam doku miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı bulundu. 8. haftada ise istatistiksel olarak yeni kemik, matür kemik, immatür kemik, bağ doku ve toplam doku miktarlarında kontrol grubunun 3. gruba göre istatistiksel anlamlı şekilde fazla olduğu bulundu. Bu sonuçlara göre YKR'de otolog kan uygulamasının uzun dönem kemik rejenerasyonunda yeni kemik oluşumunda dekortikasyon uygulamasına göre üstünlüğü olmadığı düşünülmektedir. Sonuçların genellenebilirliği için daha büyük sayıda örneklem ve deney grupları ile daha uzun sonlanım sürelerine sahip klinik veya deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda polikaprolaktonun defekt bölgesine bakan yüzeyinin poliglikolik asit ile kaplanmasıyla elde edilen bariyer membranın erken dönemde yeni kemik oluşumunu hızlandıran etkiye sahip olduğu görüldü.

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda klinikte sıklıkla uygulanan membran greft kombinasyonuna karşın, polikaprolaktonun defekt bölgesine bakan yüzeyinin poliglikolik asit ile kaplanmasıyla elde edilen bariyer membran kullanılarak greftsiz yaklaşımla da dikey kemik kazanımının sağlanabileceği hayvan kalvaryal modelinde görüldü.

Polikaprolakton membranın elde ettiği yeni kemik ve matür kemik miktarı göz önünde bulundurulduğunda, uzun dönemde PGA yüzeyi ile benzer oranda başarı gösterdiği tespit edildi.

Poliglikolik asidin kemik dokusu üzerindeki pH değişimleri ve asidik bozunma ürünlerinin zaman içindeki birikimini doğrulayacak, kontrollü salınım ve mikro çevre pH testlerini içeren standart in vitro ve in vivo modellere ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar rat kalvaryal defekt modeline aittir. Sonuçların etkinliğinin değerlendirilmesi ve optimizasyonu için daha büyük deney hayvanlarında ve kontrollü klinik çalışmalarda yeniden ölçeklendirme gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdel Meguid, E., Ke, Y., Ji, J., & El-Hashash, A. H. (2018). Stem cells applications in bone and tooth repair and regeneration: New insights, tools, and hopes. *Journal of cellular physiology*, 233(3), 1825-1835.
- Abe, G. L., Sasaki, J.-I., Katata, C., Kohno, T., Tsuboi, R., Kitagawa, H., & Imazato, S. (2020). Fabrication of novel poly (lactic acid/caprolactone) bilayer membrane for GBR application. *Dental Materials*, 36(5), 626-634.
- Abtahi, S., Chen, X., Shahabi, S., & Nasiri, N. (2023). Resorbable membranes for guided bone regeneration: critical features, potentials, and limitations. *ACS Materials Au*, 3(5), 394-417.
- Agarwal, R., & García, A. J. (2015). Biomaterial strategies for engineering implants for enhanced osseointegration and bone repair. *Advanced drug delivery reviews*, 94, 53-62.
- Aghaloo, T. L., & Moy, P. K. (2007). Which hard tissue augmentation techniques are the most successful in furnishing bony support for implant placement? *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 22(7).
- Aghdam, R. M., Najarian, S., Shakhesi, S., Khanlari, S., Shaabani, K., & Sharifi, S. (2012). Investigating the effect of PGA on physical and mechanical properties of electrospun PCL/PGA blend nanofibers. *Journal of applied polymer science*, 124(1), 123-131.
- Akter, F., & Ibanez, J. (2016). Bone and cartilage tissue engineering *Tissue engineering made easy* (pp. 77-97): Elsevier.
- Al-Belasy, F. A., & Amer, M. Z. (2003). Hemostatic effect of n-butyl-2-cyanoacrylate (histoacryl) glue in warfarin-treated patients undergoing oral surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 61(12), 1405-1409.
- Alcorta-Sevillano, N., Macías, I., Infante, A., & Rodríguez, C. I. (2020). Deciphering the relevance of bone ECM signaling. *Cells*, 9(12), 2630.
- Alexander, A. E., Wake, N., Chepelev, L., Brantner, P., Ryan, J., & Wang, K. C. (2021). A guideline for 3D printing terminology in biomedical research utilizing ISO/ASTM standards. *3D Printing in Medicine*, 7(1), 8.
- Allen, M. R., & Burr, D. B. (2014). Bone modeling and remodeling *Basic and applied bone biology* (pp. 75-90): Elsevier.
- Almutairi, A. S. (2018). Case Report: Managing the postoperative exposure of a non-resorbable membrane surgically. *F1000Research*, 7, 685.
- Alvira-González, J., & De Stavola, L. (2020). The role of cortical perforations in bone regeneration: a systematic review. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 49(7), 945-951.
- Amaral Valladão Jr, C. A., Freitas Monteiro, M., & Joly, J. C. (2020). Guided bone regeneration in staged vertical and horizontal bone augmentation using platelet-rich fibrin associated with bone grafts: a retrospective clinical study. *International journal of implant dentistry*, 6(1), 72.
- Amin, N., Siddiqui, U., Muhammad, N., Liaqat, S., Khan, M. A., & Rahim, A. (2022). Advancement of guided tissue regeneration (GTR) membranes for dental applications. *Mater Res Found*, 123, 155-174.

- Andrews, K. D., Hunt, J. A., & Black, R. A. (2007). Effects of sterilisation method on surface topography and in-vitro cell behaviour of electrostatically spun scaffolds. *Biomaterials*, 28(6), 1014-1026.
- Annabi, N., Zhang, Y.-N., Assmann, A., Sani, E. S., Cheng, G., Lassaletta, A. D., . . . Wang, X. (2017). Engineering a highly elastic human protein-based sealant for surgical applications. *Science translational medicine*, 9(410), eaai7466.
- Annino Jr, D. J., Hansen, E. E., Sethi, R. K., Horne, S., Rettig, E. M., Uppaluri, R., & Goguen, L. A. (2022). Accuracy and outcomes of virtual surgical planning and 3D-printed guides for osseous free flap reconstruction of mandibular osteoradionecrosis. *Oral Oncology*, 135, 106239.
- Annunziata, M., Nastri, L., Cecoro, G., & Guida, L. (2017). The use of poly-d, l-lactic acid (PDLLA) devices for bone augmentation techniques: A systematic review. *Molecules*, 22(12), 2214.
- Aprile, P., Letourneur, D., & Simon-Yarza, T. (2020). Membranes for guided bone regeneration: a road from bench to bedside. *Advanced healthcare materials*, 9(19), 2000707.
- Arvidson, K., Abdallah, B., Applegate, L., Baldini, N., Cenni, E., Gomez-Barrena, E., . . . Mustafa, K. (2011). Bone regeneration and stem cells. *Journal of cellular and molecular medicine*, 15(4), 718-746.
- Asano, K., Matsuno, T., Tabata, Y., & Satoh, T. (2013). Preparation of thermoplastic poly (L-lactic acid) membranes for guided bone regeneration. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 28(4).
- Ashfaq, R., Kovács, A., Berkó, S., & Budai-Szűcs, M. (2024). Developments in alloplastic bone grafts and barrier membrane biomaterials for periodontal guided tissue and bone regeneration therapy. *International journal of molecular sciences*, 25(14), 7746.
- ASHLEY, F. L., STONE, R. S., Alonso-Artieda, M., SYVERUD, J. M., EDWARDS, J. W., SLOAN, R. F., & MOONEY, S. A. (1959). Experimental and clinical studies on the application of monomolecular cellulose filter, tubes to create artificial tendon sheaths in digits. *Plastic and reconstructive surgery*, 23(5), 526-534.
- Athanasίου, K. A., Agrawal, C. M., Barber, F. A., & Burkhart, S. S. (1998). Orthopaedic applications for PLA-PGA biodegradable polymers. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 14(7), 726-737.
- Auras, R., Harte, B., & Selke, S. (2004). An overview of polylactides as packaging materials. *Macromolecular bioscience*, 4(9), 835-864.
- Aurer, A., & Jorgie-Srdjak, K. (2005). Membranes for periodontal regeneration. *Acta Stomatol Croat*, 39(1), 107-112.
- Bahney, C. S., Zondervan, R. L., Allison, P., Theologis, A., Ashley, J. W., Ahn, J., . . . Hankenson, K. D. (2019). Cellular biology of fracture healing. *Journal of Orthopaedic Research®*, 37(1), 35-50.
- Bao, Z., Gao, M., Sun, Y., Nian, R., & Xian, M. (2020). The recent progress of tissue adhesives in design strategies, adhesive mechanism and applications. *Materials Science and Engineering: C*, 111, 110796.
- Bassir, S. H., Alhareky, M., Wangsrimongkol, B., Jia, Y., & Karimbux, N. (2018). Systematic review and meta-analysis of hard tissue outcomes of alveolar ridge preservation. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 33(5), 979-994.
- Bedell, M. L., Navara, A. M., Du, Y., Zhang, S., & Mikos, A. G. (2020). Polymeric systems for bioprinting. *Chemical reviews*, 120(19), 10744-10792.

- Beery, A. K. (2018). Inclusion of females does not increase variability in rodent research studies. *Current opinion in behavioral sciences*, 23, 143-149.
- Beitlitum, I., Rayyan, F., Slutzkey, G., Raz, P., & Sarig, R. (2025). Magnesium Resorbable Membrane for Guided Bone Regeneration in Critical Size Defect Model in Rabbits—Histomorphometric Analysis. *Clinical implant dentistry and related research*, 27(3), e70055.
- Bertran Faus, A., Cordero Bayo, J., Velasco-Ortega, E., Torrejon-Moya, A., Fernández-Velilla, F., García, F., & López-López, J. (2022). Customized titanium mesh for guided bone regeneration with autologous bone and xenograft. *Materials*, 15(18), 6271.
- Bhatia, S. K. (2010). *Biomaterials for clinical applications*: Springer Science & Business Media.
- Bhatt, R. A., & Rozental, T. D. (2012). Bone graft substitutes. *Hand clinics*, 28(4), 457-468.
- Bhende, S., Rothenburger, S., Spangler, D. J., & Dito, M. (2002). In vitro assessment of microbial barrier properties of Dermabond® topical skin adhesive. *Surgical infections*, 3(3), 251-257.
- Boyce, B. F. (2013). Advances in osteoclast biology reveal potential new drug targets and new roles for osteoclasts. *Journal of Bone and Mineral Research*, 28(4), 711-722.
- Boyle, W. J., Simonet, W. S., & Lacey, D. L. (2003). Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423(6937), 337-342.
- Braccini, S., Pecorini, G., Chiellini, F., Bakos, D., Miertus, S., & Frece, V. (2020). Adhesion of fibroblast cells on thin films representing surfaces of polymeric scaffolds of human urethra rationalized by molecular models of integrin binding: cell adhesion on polymeric scaffolds for regenerative medicine. *Journal of Biotechnology*, 324, 233-238.
- Breeland, G., Sinkler, M. A., & Menezes, R. G. (2023). Embryology, bone ossification *StatPearls [Internet]*: StatPearls Publishing.
- Bruyas, A., Lou, F., Stahl, A. M., Gardner, M., Maloney, W., Goodman, S., & Yang, Y. P. (2018). Systematic characterization of 3D-printed PCL/β-TCP scaffolds for biomedical devices and bone tissue engineering: Influence of composition and porosity. *Journal of materials research*, 33(14), 1948-1959.
- Bucchi, C., Del Fabbro, M., Arias, A., Fuentes, R., Mendes, J. M., Ordonneau, M., . . . Manzanares-Céspedes, M.-C. (2019). Multicenter study of patients' preferences and concerns regarding the origin of bone grafts utilized in dentistry. *Patient preference and adherence*, 179-185.
- Buckwalter, J., Glimcher, M., Cooper, R., & Recker, R. (1995). Bone biology. *JBJS*, 77(8), 1276-1289.
- Budak, K., Sogut, O., & Aydemir Sezer, U. (2020). A review on synthesis and biomedical applications of polyglycolic acid. *Journal of polymer research*, 27, 1-19.
- Bunyaratavej, P., & Wang, H. L. (2001). Collagen membranes: a review. *Journal of periodontology*, 72(2), 215-229.
- Burger, E. H., Klein-Nulend, J., Van Der Plas, A., & Nijweide, P. J. (1995). Function of osteocytes in bone—their role in mechanotransduction. *The Journal of nutrition*, 125, 2020S-2023S.
- Buser, D., Urban, I., Monje, A., Kunrath, M. F., & Dahlin, C. (2023). Guided bone regeneration in implant dentistry: Basic principle, progress over 35 years, and recent research activities. *Periodontology 2000*, 93(1), 9-25.

- Caballé-Serrano, J., Munar-Frau, A., Ortiz-Puigpelat, O., Soto-Penaloza, D., Peñarrocha, M., & Hernández-Alfaro, F. (2018). On the search of the ideal barrier membrane for guided bone regeneration. *Journal of clinical and experimental dentistry*, 10(5), e477.
- Calciolari, E., Corbella, S., Gkraniyas, N., Viganó, M., Sculean, A., & Donos, N. (2023). Efficacy of biomaterials for lateral bone augmentation performed with guided bone regeneration. A network meta-analysis. *Periodontology 2000*, 93(1), 77-106.
- Cameron, I. L., Short, N. J., & Fullerton, G. D. (2007). Verification of simple hydration/dehydration methods to characterize multiple water compartments on tendon type 1 collagen. *Cell Biology International*, 31(6), 531-539.
- Campbell, J. B., Bassett, C. A. L., Girado, J. M., Seymour, R. J., & Rossi, J. P. (1956). Application of monomolecular filter tubes in bridging gaps in peripheral nerves and for prevention of neuroma formation: A preliminary report. *Journal of neurosurgery*, 13(6), 635-637.
- Capulli, M., Paone, R., & Rucci, N. (2014). Osteoblast and osteocyte: games without frontiers. *Archives of biochemistry and biophysics*, 561, 3-12.
- Carbonell, J., Martín, I. S., Santos, A., Pujol, A., Sanz-Moliner, J., & Nart, J. (2014). High-density polytetrafluoroethylene membranes in guided bone and tissue regeneration procedures: a literature review. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 43(1), 75-84.
- Carlsen, A., Gorst-Rasmussen, A., & Jensen, T. (2013). Donor site morbidity associated with autogenous bone harvesting from the ascending mandibular ramus. *Implant Dentistry*, 22(5), 503-506.
- Casalini, T., Rossi, F., Castrovinci, A., & Perale, G. (2019). A perspective on polylactic acid-based polymers use for nanoparticles synthesis and applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 259.
- Cashman, K., & Ginty, F. (2003). Bone. *New York: Elsevier*, 1106-1112.
- Ceonzo, K., Gaynor, A., Shaffer, L., Kojima, K., Vacanti, C. A., & Stahl, G. L. (2006). Polyglycolic acid-induced inflammation: role of hydrolysis and resulting complement activation. *Tissue engineering*, 12(2), 301-308.
- Chan, C. K., Kumar, T. S., Liao, S., Murugan, R., Ngiam, M., & Ramakrishnan, S. (2006). Biomimetic nanocomposites for bone graft applications. *Nanomedicine*, 1(2), 177-188.
- Chang, B., & Liu, X. (2022). Osteon: structure, turnover, and regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 28(2), 261-278.
- Chasin, M., & Langer, R. S. (1990). Biodegradable polymers as drug delivery systems. (*No Title*).
- Chavalitpanya, K., & Phattanasuddee, S. (2013). Poly (lactic acid)/polycaprolactone blends compatibilized with block copolymer. *Energy Procedia*, 34, 542-548.
- Chen, M.-C., Chiu, H.-C., Kuo, P.-J., Chiang, C.-Y., Fu, M. M., & Fu, E. (2021). Bone formation with functionalized 3D printed poly-ε-caprolactone scaffold with plasma-rich-fibrin implanted in critical-sized calvaria defect of rat. *Journal of Dental Sciences*, 16(4), 1214-1221.
- Chiapasco, M., & Zaniboni, M. (2009). Clinical outcomes of GBR procedures to correct peri-implant dehiscences and fenestrations: a systematic review. *Clinical oral implants research*, 20, 113-123.
- Choe, J. H., Lee, S. J., Lee, Y. M., Rhee, J. M., Lee, H. B., & Khang, G. (2004). Proliferation rate of fibroblast cells on polyethylene surfaces with wettability gradient. *Journal of applied polymer science*, 92(1), 599-606.

- Choi, B.-H., Kim, B.-Y., Huh, J.-Y., Lee, S.-H., Zhu, S.-J., Jung, J.-H., & Li, J. (2006). Cyanoacrylate adhesive for closing sinus membrane perforations during sinus lifts. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 34(8), 505-509.
- Christen, M.-O., & Vercesi, F. (2020). Polycaprolactone: how a well-known and futuristic polymer has become an innovative collagen-stimulator in esthetics. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*, 31-48.
- Chu, C., Deng, J., Sun, X., Qu, Y., & Man, Y. (2017). Collagen membrane and immune response in guided bone regeneration: recent progress and perspectives. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 23(5), 421-435.
- Cipitria, A., Skelton, A., Dargaville, T., Dalton, P., & Hutmacher, D. (2011). Design, fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds—a review. *Journal of Materials Chemistry*, 21(26), 9419-9453.
- Ciszyński, M., Dominiak, S., Dominiak, M., Gedrange, T., & Hadzik, J. (2023). Allogenic bone graft in dentistry: a review of current trends and developments. *International journal of molecular sciences*, 24(23), 16598.
- Claes, L., Recknagel, S., & Ignatius, A. (2012). Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nature Reviews Rheumatology*, 8(3), 133-143.
- Clarke, B. (2008). Normal bone anatomy and physiology. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*, 3(Supplement_3), S131-S139.
- Clayton, J. A., & Collins, F. S. (2014). Policy: NIH to balance sex in cell and animal studies. *Nature*, 509(7500), 282-283.
- CONNOLLY, J. F., HAHN, H., & DAVY, D. (1978). Fracture healing in weight-bearing and nonweight-bearing bones. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 18(11), 766-770.
- Cooper, G. M., Mooney, M. P., Gosain, A. K., Campbell, P. G., Losee, J. E., & Huard, J. (2010). Testing the critical size in calvarial bone defects: revisiting the concept of a critical-size defect. *Plastic and reconstructive surgery*, 125(6), 1685-1692.
- Cordaro, L., Torsello, F., Morcavallo, S., & di Torresanto, V. M. (2011). Effect of bovine bone and collagen membranes on healing of mandibular bone blocks: a prospective randomized controlled study. *Clinical oral implants research*, 22(10), 1145-1150.
- Correlo, V., Boesel, L., Pinho, E., Costa-Pinto, A., Alves da Silva, M., Bhattacharya, M., . . . Reis, R. (2009). Melt-based compression-molded scaffolds from chitosan–polyester blends and composites: Morphology and mechanical properties. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 91(2), 489-504.
- Correlo, V. M., Boesel, L., Bhattacharya, M., Mano, J., Neves, N., & Reis, R. (2005). Properties of melt processed chitosan and aliphatic polyester blends. *Materials Science and Engineering: A*, 403(1-2), 57-68.
- Cottam, E., Hukins, D. W., Lee, K., Hewitt, C., & Jenkins, M. J. (2009). Effect of sterilisation by gamma irradiation on the ability of polycaprolactone (PCL) to act as a scaffold material. *Medical Engineering & Physics*, 31(2), 221-226.
- Cowan, P. T., Launico, M. V., & Kahai, P. (2024). Anatomy, bones *StatPearls [Internet]*: StatPearls Publishing.
- Cowin, S. C. (2001). *Bone mechanics handbook*: CRC press.

- Crane, J. L., & Cao, X. (2014). Bone marrow mesenchymal stem cells and TGF- β signaling in bone remodeling. *The Journal of clinical investigation*, 124(2), 466-472.
- Cucchi, A., Bettini, S., Tedeschi, L., Urban, I., Franceschi, D., Fiorino, A., & Corinaldesi, G. (2024). Complication, vertical bone gain, volumetric changes after vertical ridge augmentation using customized reinforced PTFE mesh or Ti-mesh. A non-inferiority randomized clinical trial. *Clinical oral implants research*, 35(12), 1616-1639.
- Cucchi, A., & Ghensi, P. (2014). Vertical guided bone regeneration using titanium-reinforced d-PTFE membrane and prehydrated corticocancellous bone graft. *The open dentistry journal*, 8, 194.
- Cucchi, A., Maiani, F., Franceschi, D., Sassano, M., Fiorino, A., Urban, I. A., & Corinaldesi, G. (2024). The influence of vertical ridge augmentation techniques on peri-implant bone loss: A systematic review and meta-analysis. *Clinical implant dentistry and related research*, 26(1), 15-65.
- Cunha, G., Carvalho, P. H. d. A., Quirino, L. C., Torres, L. H. S., Filho, V. A. P., Gabrielli, M. F. R., & Gabrielli, M. A. C. (2022). Titanium mesh exposure after bone grafting: treatment approaches—a systematic review. *Craniomaxillofacial trauma & reconstruction*, 15(4), 397-405.
- Currey, J. D. (2002). *Bones: structure and mechanics*: Princeton university press.
- Cypher, T. J., & Grossman, J. P. (1996). Biological principles of bone graft healing. *The Journal of foot and ankle surgery*, 35(5), 413-417.
- Dahlin, C., & Johansson, A. (2011). Iliac crest autogenous bone graft versus alloplastic graft and guided bone regeneration in the reconstruction of atrophic maxillae: A 5-year retrospective study on cost-effectiveness and clinical outcome. *Clinical implant dentistry and related research*, 13(4), 305-310.
- Dahlin, C., Linde, A., Gottlow, J., & Nyman, S. (1988). Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plastic and reconstructive surgery*, 81(5), 672-676.
- Dai, Y., Xia, Y., Chen, H.-B., Li, N., Chen, G., Zhang, F.-M., & Gu, N. (2016). Optimization of sterilization methods for electrospun poly (ϵ -caprolactone) to enhance pre-osteoblast cell behaviors for guided bone regeneration. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 31(2), 152-166.
- Danesh-Sani, S., Tarnow, D., Yip, J., & Mojaver, R. (2017). The influence of cortical bone perforation on guided bone regeneration in humans. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 46(2), 261-266.
- Dawson, E., Mapili, G., Erickson, K., Taqvi, S., & Roy, K. (2008). Biomaterials for stem cell differentiation. *Advanced drug delivery reviews*, 60(2), 215-228.
- Dayton, A., Exner, E. C., Bukowy, J. D., Stodola, T. J., Kurth, T., Skelton, M., . . . Cowley Jr, A. W. (2016). Breaking the cycle: estrous variation does not require increased sample size in the study of female rats. *Hypertension*, 68(5), 1139-1144.
- De Macedo, N. L., De Macedo, L. G. S., & Monteiro, A. d. S. F. (2008). Calcium sulfate and PTFE nonporous barrier for regeneration of experimental bone defects. *CEP*, 12245, 000.
- Dennis, S. C., Berkland, C. J., Bonewald, L. F., & Detamore, M. S. (2015). Endochondral ossification for enhancing bone regeneration: converging native extracellular matrix biomaterials and developmental engineering in vivo. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 21(3), 247-266.

- Dey, A., & Yodo, N. (2019). A systematic survey of FDM process parameter optimization and their influence on part characteristics. *Journal of Manufacturing and Materials Processing*, 3(3), 64.
- Dimitriou, R., Mataliotakis, G. I., Calori, G. M., & Giannoudis, P. V. (2012). The role of barrier membranes for guided bone regeneration and restoration of large bone defects: current experimental and clinical evidence. *BMC medicine*, 10, 1-24.
- Din, E. (2021). ISO/ASTM 52900: 2021 Additive manufacturing—General principles—Fundamentals and vocabulary: Beuth Verlag GmbH Berlin.
- Dougall, W. C., Glaccum, M., Charrier, K., Rohrbach, K., Brasel, K., De Smedt, T., . . . Maliszewski, C. R. (1999). RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes & development*, 13(18), 2412-2424.
- Downey, P. A., & Siegel, M. I. (2006). Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Physical therapy*, 86(1), 77-91.
- Duarte, A., Coelho, J., Bordado, J., Cidade, M., & Gil, M. (2012). Surgical adhesives: Systematic review of the main types and development forecast. *Progress in polymer science*, 37(8), 1031-1050.
- Ducy, P., Schinke, T., & Karsenty, G. (2000). The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science*, 289(5484), 1501-1504.
- Duncan, R. L., & Turner, C. H. (1995). Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. *Calcified tissue international*, 57, 344-358.
- Dülsner, A., Hack, R., Krüger, C., Pils, M., Scherer, K., Schmelting, B., . . . Jourdan, T. (2017). Recommendation for blood sampling in laboratory animals, especially small laboratory animals. *Gesellschaft für Versuchstierkunde*.
- Dwek, J. R. (2010). The periosteum: what is it, where is it, and what mimics it in its absence? *Skeletal radiology*, 39(4), 319-323.
- E Scheerlinck, L. M., M Muradin, M. S., van der Bilt, A., Meijer, G. J., Koole, R., & Van Cann, E. M. (2013). Donor site complications in bone grafting: comparison of iliac crest, calvarial, and mandibular ramus bone. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 28(1).
- Ehrenfest, D. M. D., Andia, I., Zumstein, M. A., Zhang, C.-Q., Pinto, N. R., & Bielecki, T. (2014). Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles, ligaments and tendons journal*, 4(1), 3.
- Einhorn, T. A., & Gerstenfeld, L. C. (2015). Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nature Reviews Rheumatology*, 11(1), 45-54.
- Ekani-Nkodo, A., & Fygenon, D. K. (2003). Size exclusion and diffusion of fluoresceinated probes within collagen fibrils. *Physical review E*, 67(2), 021909.
- El Sayed, S. A., Nezwek, T. A., & Varacallo, M. (2017). Physiology, bone.
- Elgali, I., Omar, O., Dahlin, C., & Thomsen, P. (2017). Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *European journal of oral sciences*, 125(5), 315-337.
- Elsalanty, M. E., & Genecov, D. G. (2009). Bone grafts in craniofacial surgery. *Craniofacial trauma & reconstruction*, 2(3-4), 125-134.
- Eriksen, E. F., Axelrod, D. W., & Melsen, F. (1994). Bone histomorphometry. (No Title).

- Ezirganli, Ş., Polat, S., Barış, E., Tatar, I., & Celik, H. H. (2013). Comparative investigation of the effects of different materials used with a titanium barrier on new bone formation. *Clinical oral implants research*, 24(3), 312-319.
- Fan, Y., Perez, K., & Dym, H. (2020). Clinical uses of platelet-rich fibrin in oral and maxillofacial surgery. *Dental Clinics*, 64(2), 291-303.
- Fathi-Achachelouei, M., Knopf-Marques, H., Ribeiro da Silva, C. E., Barthès, J., Bat, E., Tezcaner, A., & Vrana, N. E. (2019). Use of nanoparticles in tissue engineering and regenerative medicine. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 113.
- Ferraz, M. P. (2023). Bone grafts in dental medicine: an overview of autografts, allografts and synthetic materials. *Materials*, 16(11), 4117.
- Florencio-Silva, R., Sasso, G. R. d. S., Sasso-Cerri, E., Simões, M. J., & Cerri, P. S. (2015). Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *BioMed Research International*, 2015(1), 421746.
- Frantz, C., Stewart, K. M., & Weaver, V. M. (2010). The extracellular matrix at a glance. *Journal of cell science*, 123(24), 4195-4200.
- Franz-Odendaal, T. A., Hall, B. K., & Witten, P. E. (2006). Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 235(1), 176-190.
- Fratzl, P., Fratzl-Zelman, N., & Klaushofer, K. (1993). Collagen packing and mineralization. An x-ray scattering investigation of turkey leg tendon. *Biophysical journal*, 64(1), 260-266.
- Fujisawa, R., & Tamura, M. (2012). Acidic bone matrix proteins and their roles in calcification. *Front Biosci*, 17(679), 1891-1903.
- Fukuba, S., Okada, M., Nohara, K., & Iwata, T. (2021). Alloplastic bone substitutes for periodontal and bone regeneration in dentistry: Current status and prospects. *Materials*, 14(5), 1096.
- Fuller, K., Owens, J., Jagger, C., Wilson, A., Moss, R., & Chambers, T. (1993). Macrophage colony-stimulating factor stimulates survival and chemotactic behavior in isolated osteoclasts. *The Journal of experimental medicine*, 178(5), 1733-1744.
- Fullerton, G. D., & Amurao, M. R. (2006). Evidence that collagen and tendon have monolayer water coverage in the native state. *Cell Biology International*, 30(1), 56-65.
- Fullerton, G. D., Nes, E., Amurao, M., Rahal, A., Krasnosselskaia, L., & Cameron, I. (2006). An NMR method to characterize multiple water compartments on mammalian collagen. *Cell Biology International*, 30(1), 66-73.
- Garcia, J., Dodge, A., Luepke, P., Wang, H. L., Kapila, Y., & Lin, G. H. (2018). Effect of membrane exposure on guided bone regeneration: a systematic review and meta-analysis. *Clinical oral implants research*, 29(3), 328-338.
- Garg, A. (2011). Barrier membranes--materials review, Part I of II. *Dent Implantol Update*, 22(9), 61-64.
- Gautier, E., Fuertes, P., Cassagnau, P., Pascault, J. P., & Fleury, E. (2009). Synthesis and rheology of biodegradable poly (glycolic acid) prepared by melt ring-opening polymerization of glycolide. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 47(5), 1440-1449.
- Ge, L., & Chen, S. (2020). Recent advances in tissue adhesives for clinical medicine. *Polymers*, 12(4), 939.

- Geão, C., Costa-Pinto, A. R., Cunha-Reis, C., Ribeiro, V. P., Vieira, S., Oliveira, J. M., . . . Oliveira, A. L. (2019). Thermal annealed silk fibroin membranes for periodontal guided tissue regeneration. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 30, 1-19.
- Gentile, P., Chiono, V., Tonda-Turo, C., Ferreira, A. M., & Ciardelli, G. (2011). Polymeric membranes for guided bone regeneration. *Biotechnology journal*, 6(10), 1187-1197.
- Geurs, N. C., Korostoff, J. M., Vassilopoulos, P. J., Kang, T. H., Jeffcoat, M., Kellar, R., & Reddy, M. S. (2008). Clinical and histologic assessment of lateral alveolar ridge augmentation using a synthetic long-term bioabsorbable membrane and an allograft. *Journal of periodontology*, 79(7), 1133-1140.
- Gharibshahian, M., Salehi, M., Beheshtizadeh, N., Kamalabadi-Farahani, M., Atashi, A., Nourbakhsh, M.-S., & Alizadeh, M. (2023). Recent advances on 3D-printed PCL-based composite scaffolds for bone tissue engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1168504.
- Gheno, E., Alves, G. G., Ghiretti, R., Mello-Machado, R. C., Signore, A., Lourenço, E. S., . . . Calasans-Maia, M. D. (2022). "Sticky bone" preparation device: a pilot study on the release of cytokines and growth factors. *Materials*, 15(4), 1474.
- Ghensi, P., Stablum, W., Bettio, E., Soldini, M., Tripi, T., & Soldini, C. (2017). Management of the exposure of a dense PTFE (d-PTFE) membrane in guided bone regeneration (GBR): a case report. *Oral & Implantology*, 10(3), 335.
- Gomes, P., & Fernandes, M. (2011). Rodent models in bone-related research: the relevance of calvarial defects in the assessment of bone regeneration strategies. *Laboratory animals*, 45(1), 14-24.
- Gorski, J. P. (2011). Biomineralization of bone: a fresh view of the roles of non-collagenous proteins. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 16, 2598.
- Gosain, A. K., Song, L., Yu, P., Mehrara, B. J., Maeda, C. Y., Gold, L. I., & Longaker, M. T. (2000). Osteogenesis in cranial defects: reassessment of the concept of critical size and the expression of TGF- β isoforms. *Plastic and reconstructive surgery*, 106(2), 360-371.
- Gottlow, J. (1993). Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results. *Journal of periodontology*, 64, 1157-1165.
- Göpferich, A. (1996). Mechanisms of polymer degradation and erosion. *The biomaterials: silver jubilee compendium*, 117-128.
- Griffith, L. (2000). Polymeric biomaterials. *Acta materialia*, 48(1), 263-277.
- Grigoriadis, A. E., Heersche, J., & Aubin, J. E. (1988). Differentiation of muscle, fat, cartilage, and bone from progenitor cells present in a bone-derived clonal cell population: effect of dexamethasone. *The Journal of cell biology*, 106(6), 2139-2151.
- Grover, V., Kapoor, A., Malhotra, R., & Sachdeva, S. (2011). Bone allografts: a review of safety and efficacy. *Indian Journal of Dental Research*, 22(3), 496.
- Gruskin, E., Doll, B. A., Futrell, F. W., Schmitz, J. P., & Hollinger, J. O. (2012). Demineralized bone matrix in bone repair: history and use. *Advanced drug delivery reviews*, 64(12), 1063-1077.
- Gu, C., Xu, L., Shi, A., Guo, L., Chen, H., & Qin, H. (2022). Titanium mesh exposure in guided bone regeneration procedures: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 37(1).
- Gu, Z., Fu, J., Lin, H., & He, Y. (2020). Development of 3D bioprinting: From printing methods to biomedical applications. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 15(5), 529-557.

- Gunatillake, P., Mayadunne, R., & Adhikari, R. (2006). Recent developments in biodegradable synthetic polymers. *Biotechnology annual review*, 12, 301-347.
- Gunatillake, P. A., & Adhikari, R. (2003). Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering.
- Gupta, D., Venugopal, J., Prabhakaran, M. P., Dev, V. G., Low, S., Choon, A. T., & Ramakrishna, S. (2009). Aligned and random nanofibrous substrate for the in vitro culture of Schwann cells for neural tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 5(7), 2560-2569.
- Gutta, R., Baker, R. A., Bartolucci, A. A., & Louis, P. J. (2009). Barrier membranes used for ridge augmentation: is there an optimal pore size? *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 67(6), 1218-1225.
- Haapasalo, H., Kontulainen, S., Sievänen, H., Kannus, P., Järvinen, M., & Vuori, I. (2000). Exercise-induced bone gain is due to enlargement in bone size without a change in volumetric bone density: a peripheral quantitative computed tomography study of the upper arms of male tennis players. *Bone*, 27(3), 351-357.
- Habraken, W., Wolke, J., & Jansen, J. (2007). Ceramic composites as matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering. *Advanced drug delivery reviews*, 59(4-5), 234-248.
- Hadad, H., Boos Lima, F. B., Shirinbak, I., Porto, T. S., Chen, J. E., & Guastaldi, F. P. (2023). The impact of 3D printing on oral and maxillofacial surgery. *Journal of 3D Printing in Medicine*, 7(2), 3DP007.
- Hadjidakis, D., & Il, A. (2006). Androulakisii. *Bone remodeling*. *Ann NY Acad Sci*, 1092(1), 385-396.
- Hämmerle, C., Schmid, J., Olah, A., & Lang, N. (1996). A novel model system for the study of experimental guided bone formation in humans. *Clinical oral implants research*, 7(1), 38-47.
- Hämmerle, C. H., & Jung, R. E. (2003). Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontology 2000*, 33(1), 36-53.
- Hämmerle, C. H., Jung, R. E., & Feloutzis, A. (2002). A systematic review of the survival of implants in bone sites augmented with barrier membranes (guided bone regeneration) in partially edentulous patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 226-231.
- Han, B., Yang, Z., & Nimni, M. (2008). Effects of gamma irradiation on osteoinduction associated with demineralized bone matrix. *Journal of Orthopaedic Research*, 26(1), 75-82.
- Hatt, L. P., Thompson, K., Helms, J. A., Stoddart, M. J., & Armiento, A. R. (2022). Clinically relevant preclinical animal models for testing novel cranio-maxillofacial bone 3D-printed biomaterials. *Clinical and translational medicine*, 12(2), e690.
- Hattner, R., Epker, B., & Frost, H. (1965). Suggested sequential mode of control of changes in cell behaviour in adult bone remodelling. *Nature*, 206(4983), 489-490.
- Haugen, H. J., Lyngstadaas, S. P., Rossi, F., & Perale, G. (2019). Bone grafts: which is the ideal biomaterial? *Journal of Clinical Periodontology*, 46, 92-102.
- He, W., Feng, Y., Ma, Z., & Ramakrishna, S. (2008). *Polymers for tissue engineering*: ACS Publications.
- Healing, M. E. T. (2000). Growth Factors Engineered for Super-Affinity to the Extracellular. *J. Clin. Microbiol*, 38, 1053-1057.
- Herford, A. S., Miller, M., & Signorino, F. (2017). Maxillofacial defects and the use of growth factors. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics*, 29(1), 75-88.

- Hermey, D., & Marks, S. (1996). The structure and development of bone. *Principles of bone biology*, 3-14.
- Hollister, S. J. (2005). Porous scaffold design for tissue engineering. *Nature materials*, 4(7), 518-524.
- Holtrop, M., & Hall, B. (1990). Light and electron microscopical structure of bone forming cells. *Bone*, 1, 1-40.
- Höhling, H., Barckhaus, R., Krefting, E., Quint, P., & Althoff, J. (1978). Quantitative electron microscopy of the early stages of cartilage mineralization. *Metabolic Bone Disease and Related Research*, 1(2), 109-114.
- Huang, B., & Singamneni, S. B. (2015). Curved layer adaptive slicing (CLAS) for fused deposition modelling. *Rapid Prototyping Journal*, 21(4), 354-367.
- Hurley, L. A., Stinchfield, F. E., Bassett, C. A. L., & Lyon, W. H. (1959). The role of soft tissues in osteogenesis: an experimental study of canine spine fusions. *JBJS*, 41(7), 1243-1266.
- Huxley, J. (1925). Self-differentiation in the grafted limb-bud of the chick. *Journal of anatomy*, 59(Pt 4), 379.
- Hwang, K.-S., Choi, J.-W., Kim, J.-H., Chung, H. Y., Jin, S., Shim, J.-H., . . . Huh, J.-B. (2017). Comparative efficacies of collagen-based 3D printed PCL/PLGA/ β -TCP composite block bone grafts and biphasic calcium phosphate bone substitute for bone regeneration. *Materials*, 10(4), 421.
- Hwang, K., Villavicencio, J. B., & Agdamag, A. M. P. (2021). Tissue engineering and regenerative medicine cranioplasty using polycaprolactone-tricalcium phosphate: management and treatment outcomes. *Neurosurgery Practice*, 2(4), okab027.
- In't Veld, P. J., Velner, E. M., Van De Witte, P., Hamhuis, J., Dijkstra, P. J., & Feijen, J. (1997). Melt block copolymerization of ϵ -caprolactone and L-lactide. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 35(2), 219-226.
- Inal, S., Yilmaz, N., Nisbet, C., & Güvenç, T. (2006). Biochemical and histopathological findings of N-butyl-2-cyanoacrylate in oral surgery: an experimental study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 102(6), e14-e17.
- Isik, G., Hasirci, N., Tezcaner, A., & Kiziltay, A. (2020). Multifunctional periodontal membrane for treatment and regeneration purposes. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 35(2), 117-138.
- Ivanovski, S., Staples, R., Arora, H., Vaquette, C., & Alayan, J. (2024). Alveolar bone regeneration using a 3D-printed patient-specific resorbable scaffold for dental implant placement: A case report. *Clinical oral implants research*, 35(12), 1655-1668.
- JA, B. (1995). Bone biology (part I): structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. *J Bone Joint Surg Am*, 77, 1256-1275.
- Janicki, P., & Schmidmaier, G. (2011). What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells. *Injury*, 42, S77-S81.
- Jem, K. J., & Tan, B. (2020). Advanced Industrial and Engineering Polymer Research. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 3, 60-70.
- Jepsen, S., Schwarz, F., Cordaro, L., Derks, J., Hämmerle, C. H., Heitz-Mayfield, L. J., . . . Ortiz-Vigón, A. (2019). Regeneration of alveolar ridge defects. Consensus report of group 4 of the 15th European Workshop on Periodontology on Bone Regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*, 46, 277-286.

- Jia, Y. T., Zhu, X. Y., & Liu, Q. Q. (2011). In vitro degradation of electrospun fiber membranes of PCL/PVP blends. *Advanced materials research*, 332, 1330-1334.
- Jimi, E., Hirata, S., Osawa, K., Terashita, M., Kitamura, C., & Fukushima, H. (2012). The current and future therapies of bone regeneration to repair bone defects. *International journal of dentistry*, 2012(1), 148261.
- Jo, Y.-Y., & Oh, J.-H. (2018). New resorbable membrane materials for guided bone regeneration. *Applied Sciences*, 8(11), 2157.
- Jonnalagadda, J. B., Rivero, I. V., & Warzywoda, J. (2015). In-vitro degradation characteristics of poly (ε-caprolactone)/poly (glycolic acid) scaffolds fabricated via solid-state cryomilling. *Journal of biomaterials applications*, 30(4), 472-483.
- Kahnberg, K.-E. (1979). Restoration of mandibular jaw defects in the rabbit by subperiosteally implanted Teflon® mantle leaf. *International journal of oral surgery*, 8(6), 449-456.
- Kai, D., Liow, S. S., & Loh, X. J. (2014). Biodegradable polymers for electrospinning: Towards biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, 45, 659-670.
- Kao, S. T., & Scott, D. D. (2007). A review of bone substitutes. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America*, 19(4), 513-521.
- Kaplan, F., Hayes, W., Keaveny, T., Boskey, A., Einhorn, T., & Iannotti, J. (1994). Form and function of bone. *Orthopaedic basic science*, 4, 131-133.
- Karaplis, A. C. (2008). Embryonic development of bone and regulation of intramembranous and endochondral bone formation. *Principles of bone biology*, 53-84.
- Karsenty, G., Kronenberg, H. M., & Settembre, C. (2009). Genetic control of bone formation. *Annual Review of Cell and Developmental*, 25(1), 629-648.
- Karsenty, G., & Wagner, E. F. (2002). Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development. *Developmental cell*, 2(4), 389-406.
- Kenkre, J., & Bassett, J. (2018). The bone remodelling cycle. *Annals of clinical biochemistry*, 55(3), 308-327.
- Khosla, S. (2001). Minireview: The opg/rankl/rank system. *Endocrinology*, 142(12), 5050-5055.
- Kim, J.-M., Kim, J.-H., Lee, B.-H., & Choi, S. H. (2018). Vertical bone augmentation using three-dimensionally printed cap in the rat calvarial partial defect. *in vivo*, 32(5), 1111-1117.
- Kinoshita, Y., & Maeda, H. (2013). Recent developments of functional scaffolds for craniomaxillofacial bone tissue engineering applications. *The Scientific World Journal*, 2013(1), 863157.
- Kirilova, A., Yeazel, T. R., Asheghali, D., Petersen, S. R., Dort, S., Gall, K., & Becker, M. L. (2021). Fabrication of biomedical scaffolds using biodegradable polymers. *Chemical reviews*, 121(18), 11238-11304.
- Kobayashi, T., & Kronenberg, H. (2005). Minireview: transcriptional regulation in development of bone. *Endocrinology*, 146(3), 1012-1017.
- Kochi, G., Sato, S., Fukuyama, T., Morita, C., Honda, K., Arai, Y., & Ito, K. (2009). Analysis on the guided bone augmentation in the rat calvarium using a microfocus computerized tomography analysis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 107(6), e42-e48.

- Kohane, D. S., & Langer, R. (2008). Polymeric biomaterials in tissue engineering. *Pediatric research*, 63(5), 487-491.
- Komori, T., Yagi, H., Nomura, S., Yamaguchi, A., Sasaki, K., Deguchi, K., . . . Inada, M. (1997). Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *cell*, 89(5), 755-764.
- Kong, Y.-Y., Feige, U., Sarosi, I., Bolon, B., Tafuri, A., Morony, S., . . . McCabe, S. (1999). Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature*, 402(6759), 304-309.
- Kong, Y.-Y., Yoshida, H., Sarosi, I., Tan, H.-L., Timms, E., Capparelli, C., . . . Itie, A. (1999). OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*, 397(6717), 315-323.
- Koons, G. L., Diba, M., & Mikos, A. G. (2020). Materials design for bone-tissue engineering. *Nature Reviews Materials*, 5(8), 584-603.
- Kretlow, J. D., & Mikos, A. G. (2007). Mineralization of synthetic polymer scaffolds for bone tissue engineering. *Tissue engineering*, 13(5), 927-938.
- Kumar, M. S., Natta, S., Shankar, G., Reddy, S. H. K., Visalakshi, D., & Seshiah, G. (2013). Comparison between silk sutures and cyanoacrylate adhesive in human mucosa-a clinical and histological study. *Journal of international oral health: JIOH*, 5(5), 95.
- Kumar, P., Vinitha, B., & Fathima, G. (2013). Bone grafts in dentistry. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 5(Suppl 1), S125-S127.
- Landis, W., Song, M., Leith, A., McEwen, L., & McEwen, B. (1993). Mineral and organic matrix interaction in normally calcifying tendon visualized in three dimensions by high-voltage electron microscopic tomography and graphic image reconstruction. *Journal of structural biology*, 110(1), 39-54.
- Langer, R., Vacanti, J. P., Vacanti, C. A., Atala, A., Freed, L. E., & Vunjak-Novakovic, G. (1995). Tissue engineering: biomedical applications. *Tissue engineering*, 1(2), 151-161.
- Lee, J. Y., Yang, J.-Y., & Kim, S. W. (2021). Bone lining cells could be sources of bone marrow adipocytes. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 766254.
- Lee, S.-H., Lim, P., & Yoon, H.-J. (2014). The influence of cortical perforation on guided bone regeneration using synthetic bone substitutes: a study of rabbit cranial defects. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 29(2).
- Lee, S.-W., & Kim, S.-G. (2014). Membranes for the guided bone regeneration. *Maxillofacial plastic and reconstructive surgery*, 36(6), 239.
- Lee, S. J., Park, Y. J., Park, S. N., Lee, Y. M., Seol, Y. J., Ku, Y., & Chung, C. P. (2001). Molded porous poly (L-lactide) membranes for guided bone regeneration with enhanced effects by controlled growth factor release. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 55(3), 295-303.
- Lee, W.-c., Wei, C.-c., & Chung, S.-C. (2014). Development of a hybrid rapid prototyping system using low-cost fused deposition modeling and five-axis machining. *Journal of Materials Processing Technology*, 214(11), 2366-2374.
- Li, C., & Fennessy, P. (2021). The periosteum: a simple tissue with many faces, with special reference to the antler-lineage periosteum. *Biology direct*, 16(1), 17.

- Li, J., Hua, L., Wang, W., Gu, C., Du, J., & Hu, C. (2021). Flexible, high-strength titanium nanowire for scaffold biomimetic periodontal membrane. *Biosurface and Biotribology*, 7(1), 23-29.
- Li, J., Wang, C., Gao, G., Yin, X., Pu, X., Shi, B., . . . Li, J. (2022). MBG/PGA-PCL composite scaffolds provide highly tunable degradation and osteogenic features. *Bioactive materials*, 15, 53-67.
- Li, Z., & Tan, B. H. (2014). Towards the development of polycaprolactone based amphiphilic block copolymers: molecular design, self-assembly and biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, 45, 620-634.
- Ligon, S. C., Liska, R., Stampfl, J., Gurr, M., & Mülhaupt, R. (2017). Polymers for 3D printing and customized additive manufacturing. *Chemical reviews*, 117(15), 10212-10290.
- Lim, J., Jun, S. H., Tallarico, M., Park, J.-B., Park, D.-H., Hwang, K.-G., & Park, C.-J. (2022). A randomized controlled trial of guided bone regeneration for Peri-implant Dehiscence defects with two anorganic bovine bone materials covered by Titanium Meshes. *Materials*, 15(15), 5294.
- Lim, J., Lee, J., Yun, H.-S., Shin, H.-I., & Park, E. K. (2013). Comparison of bone regeneration rate in flat and long bone defects: Calvarial and tibial bone. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 10(6), 336-340.
- Linde, A., Alberius, P., Dahlin, C., Bjurström, K., & Sundin, Y. (1993). Osteopromotion: A soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. *Journal of periodontology*, 64, 1116-1128.
- Liu, J., & Kerns, D. G. (2014). Mechanisms of guided bone regeneration: a review. *The open dentistry journal*, 8, 56.
- Liu, W., Du, B., Tan, S., Wang, Q., Li, Y., & Zhou, L. (2020). Vertical guided bone regeneration in the rabbit calvarium using porous nanohydroxyapatite block grafts coated with rhVEGF165 and cortical perforation. *International journal of nanomedicine*, 10059-10073.
- Locci, P., Calvitti, M., Belcastro, S., Pugliese, M., Guerra, M., Marinucci, L., . . . Becchetti, E. (1997). Phenotype expression of gingival fibroblasts cultured on membranes used in guided tissue regeneration. *Journal of periodontology*, 68(9), 857-863.
- Loewner, S., Heene, S., Baroth, T., Heymann, H., Cholewa, F., Blume, H., & Blume, C. (2022). Recent advances in melt electro writing for tissue engineering for 3D printing of microporous scaffolds for tissue engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 896719.
- Loi, F., Córdova, L. A., Pajarinen, J., Lin, T.-h., Yao, Z., & Goodman, S. B. (2016). Inflammation, fracture and bone repair. *Bone*, 86, 119-130.
- Lundgren, A., Sennerby, L., & Lundgren, D. (1998). Guided jaw-bone regeneration using an experimental rabbit model. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 27(2), 135-140.
- Lundgren, A. K., Lundgren, D., & Taylor, Å. (1998). Influence of barrier occlusiveness on guided bone augmentation. An experimental study in the rat. *Clinical oral implants research*, 9(4), 251-260.
- Lundgren, D., Lundgren, A. K., Sennerby, L., & Nyman, S. (1995). Augmentation of intramembraneous bone beyond the skeletal envelope using an occlusive titanium barrier. An experimental study in the rabbit. *Clinical oral implants research*, 6(2), 67-72.

- MacBeth, N. D., Donos, N., & Mardas, N. (2022). Alveolar ridge preservation with guided bone regeneration or socket seal technique. A randomised, single-blind controlled clinical trial. *Clinical oral implants research*, 33(7), 681-699.
- Machin, M., Liu, C., Coupland, A., Davies, A. H., & Thapar, A. (2019). Systematic review of the use of cyanoacrylate glue in addition to standard wound closure in the prevention of surgical site infection. *International Wound Journal*, 16(2), 387-393.
- Madhuri, S. V. (2016). Membranes for periodontal regeneration. *Int. J. Pharm. Sci. Invent*, 5(1), 19-24.
- Magazzini, L., Grilli, S., Fenni, S. E., Donetti, A., Cavallo, D., & Monticelli, O. (2021). The Blending of Poly (glycolic acid) with Polycaprolactone and Poly (l-lactide): Promising Combinations. *Polymers*, 13(16), 2780.
- Makadia, H. K., & Siegel, S. J. (2011). Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers*, 3(3), 1377-1397.
- Mamo, H. B., Adamiak, M., & Kunwar, A. (2023). 3D printed biomedical devices and their applications: A review on state-of-the-art technologies, existing challenges, and future perspectives. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 143, 105930.
- Mano, J. F., Sousa, R. A., Boesel, L. F., Neves, N. M., & Reis, R. L. (2004). Bioinert, biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art and recent developments. *Composites Science and Technology*, 64(6), 789-817.
- Manolagas, S. C., & Parfitt, A. M. (2010). What old means to bone. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 21(6), 369-374.
- Marouf, H. A., & El-Guindi, H. M. (2000). Efficacy of high-density versus semipermeable PTFE membranes in an elderly experimental model. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 89(2), 164-170.
- Marsell, R., & Einhorn, T. A. (2011). The biology of fracture healing. *Injury*, 42(6), 551-555.
- Maruyama, M., Rhee, C., Utsunomiya, T., Zhang, N., Ueno, M., Yao, Z., & Goodman, S. B. (2020). Modulation of the inflammatory response and bone healing. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 386.
- Matic, I., Matthews, B. G., Wang, X., Dymont, N. A., Worthley, D. L., Rowe, D. W., . . . Kalajzic, I. (2016). Quiescent bone lining cells are a major source of osteoblasts during adulthood. *Stem cells*, 34(12), 2930-2942.
- Matsumoto, G., Hoshino, J., Kinoshita, Y., Sugita, Y., Kubo, K., Maeda, H., . . . Kinoshita, Y. (2012). Evaluation of guided bone regeneration with poly (lactic acid-co-glycolic acid-co-ε-caprolactone) porous membrane in lateral bone defects of the canine mandible. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 27(3).
- McAllister, B. S., & Haghighat, K. (2007). Bone augmentation techniques. *Journal of periodontology*, 78(3), 377-396.
- McCONNELL, D. (1962). The crystal structure of bone. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®, 23, 253-268.
- Mehdizadeh, M., & Yang, J. (2013). Design strategies and applications of tissue bioadhesives. *Macromolecular bioscience*, 13(3), 271-288.
- Meirelles, L. d. S., Chagastelles, P. C., & Nardi, N. B. (2006). Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *Journal of cell science*, 119(11), 2204-2213.

- Melcher, A. (1969). Role of the periosteum in repair of wounds of the parietal bone of the rat. *Archives of Oral Biology*, 14(9), 1101-1125.
- Meng, Z., Zheng, W., Li, L., & Zheng, Y. (2010). Fabrication and characterization of three-dimensional nanofiber membrane of PCL–MWCNTs by electrospinning. *Materials Science and Engineering: C*, 30(7), 1014-1021.
- Mertens, C., Decker, C., Seeberger, R., Hoffmann, J., Sander, A., & Freier, K. (2013). Early bone resorption after vertical bone augmentation—a comparison of calvarial and iliac grafts. *Clinical oral implants research*, 24(7), 820-825.
- Middleton, J. C., & Tipton, A. J. (2000). Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*, 21(23), 2335-2346.
- Misch, C. E., & Dietsh, F. (1993). Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dentistry*, 2(3), 158-166.
- Mohsin, S., O'Brien, F. J., & Lee, T. C. (2006). Osteonal crack barriers in ovine compact bone. *Journal of anatomy*, 208(1), 81-89.
- Morgan, E. F., Barnes, G. L., & Einhorn, T. A. (2008). *CHAPTER 1 – The Bone Organ System: Form and Function*.
- Mori, S., Li, J., & Kawaguchi, Y. (2001). The histological appearance of stress fractures *Musculoskeletal fatigue and stress fractures* (pp. 151-159): CRC Press Boca Raton.
- Mun, S. H., Park, P. S. U., & Park-Min, K.-H. (2020). The M-CSF receptor in osteoclasts and beyond. *Experimental & molecular medicine*, 52(8), 1239-1254.
- Murata, M., Kabir, M. A., Horie, N., Yokozeki, K., Shakya, M., & Kusano, K. (2025). Barrier Effects of a poly (lactic acid/caprolactone) Bilayer Membrane for Guided Bone Regeneration on Skull without Periosteum of Adult-Senior Staged Rats. *Journal of clinical and experimental dentistry*, 17(2), e211.
- Murray, G., Holden, R., & Roschlau, W. (1957). Experimental and clinical study of new growth of bone in a cavity. *The American Journal of Surgery*, 93(3), 385-387.
- Muschler, G. F., Raut, V. P., Patterson, T. E., Wenke, J. C., & Hollinger, J. O. (2010). The design and use of animal models for translational research in bone tissue engineering and regenerative medicine. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 16(1), 123-145.
- Muscolino, J. E. (2006). Kinesiology: the skeletal system and muscle function. *(No Title)*.
- Mwema, F. M., Akinlabi, E. T., Mwema, F. M., & Akinlabi, E. T. (2020). Basics of fused deposition modelling (FDM). *Fused deposition modeling: strategies for quality enhancement*, 1-15.
- Nahian, A., & Chauhan, P. R. (2023). Histology, periosteum and endosteum *StatPearls [Internet]*: StatPearls Publishing.
- Nakafuku, C., & Yoshimura, H. (2004). Melting parameters of poly (glycolic acid). *Polymer*, 45(11), 3583-3585.
- Nakashima, T., Hayashi, M., Fukunaga, T., Kurata, K., Oh-Hora, M., Feng, J. Q., . . . Wagner, E. F. (2011). Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nature medicine*, 17(10), 1231-1234.
- Niinomi, M. (2008). Metallic biomaterials. *Journal of Artificial Organs*, 11, 105-110.
- Nishimura, I., Shimizu, Y., & Ooya, K. (2004). Effects of cortical bone perforation on experimental guided bone regeneration. *Clinical oral implants research*, 15(3), 293-300.

- Niu, D., Xu, P., Sun, Z., Yang, W., Dong, W., Ji, Y., . . . Ma, P. (2021). Superior toughened bio-compostable Poly (glycolic acid)-based blends with enhanced melt strength via selective interfacial localization of in-situ grafted copolymers. *Polymer*, 235, 124269.
- Nkenke, E., & Neukam, F. W. (2014). Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: morbidity, resorption and implant survival. *Eur J Oral Implantol*, 7(Suppl 2), S203-S217.
- Nkenke, E., Weisbach, V., Winckler, E., Kessler, P., Schultze-Mosgau, S., Wiltfang, J., & Neukam, F. (2004). Morbidity of harvesting of bone grafts from the iliac crest for preprosthetic augmentation procedures: a prospective study. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 33(2), 157-163.
- O'brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials today*, 14(3), 88-95.
- Oh, S.-E., Hu, K.-S., & Kim, S. (2019). Eight-week healing of grafted calvarial bone defects with hyperbaric oxygen therapy in rats. *Journal of Periodontal & Implant Science*, 49(4), 228-236.
- Oladega, A. A., James, O., & Adeyemo, W. L. (2019). Cyanoacrylate tissue adhesive or silk suture for closure of surgical wound following removal of an impacted mandibular third molar: A randomized controlled study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 47(1), 93-98.
- Olszta, M. J., Cheng, X., Jee, S. S., Kumar, R., Kim, Y.-Y., Kaufman, M. J., . . . Gower, L. B. (2007). Bone structure and formation: A new perspective. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 58(3-5), 77-116.
- Omar, O., Elgali, I., Dahlin, C., & Thomsen, P. (2019). Barrier membranes: More than the barrier effect? *Journal of Clinical Periodontology*, 46, 103-123.
- Onal, M., Xiong, J., Chen, X., Thostenson, J. D., Almeida, M., Manolagas, S. C., & O'Brien, C. A. (2012). Receptor activator of nuclear factor κ B ligand (RANKL) protein expression by B lymphocytes contributes to ovariectomy-induced bone loss. *Journal of Biological Chemistry*, 287(35), 29851-29860.
- OpenStax, C. (2013). *Anatomy and Physiology Volume 2 of 3*. Texas: Rice University.
- Oppenheimer, A. J., Tong, L., & Buchman, S. R. (2008). Craniofacial bone grafting: Wolff's law revisited. *Cranio-maxillofacial trauma & reconstruction*, 1(1), 49-61.
- Oth, O., Dauchot, C., Orellana, M., & Glineur, R. (2019). How to sterilize 3D printed objects for surgical use? An evaluation of the volumetric deformation of 3D-printed genioplasty guide in PLA and PETG after sterilization by low-temperature hydrogen peroxide gas plasma. *The open dentistry journal*, 13(1).
- Ou-Yang, H., Paschalis, E., Mayo, W., Boskey, A., & Mendelsohn, R. (2001). Infrared microscopic imaging of bone: spatial distribution of CO3²⁻. *Journal of Bone and Mineral Research*, 16(5), 893-900.
- Palumbo, C., Palazzini, S., Zaffe, D., & Marotti, G. (1990). Osteocyte differentiation in the tibia of newborn rabbit: an ultrastructural study of the formation of cytoplasmic processes. *Cells Tissues Organs*, 137(4), 350-358.
- Papadimitropoulos, A., Scotti, C., Bourguine, P., Scherberich, A., & Martin, I. (2015). Engineered decellularized matrices to instruct bone regeneration processes. *Bone*, 70, 66-72.
- Paré, A., Bossard, A., Laure, B., Weiss, P., Gauthier, O., & Corre, P. (2019). Reconstruction of segmental mandibular defects: Current procedures and perspectives. *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*, 4(6), 587-596.

- Parfitt, A. M. (2002). Misconceptions (2): turnover is always higher in cancellous than in cortical bone. *Bone*, 30(6), 807-809.
- Park, S. H., Park, D. S., Shin, J. W., Kang, Y. G., Kim, H. K., Yoon, T. R., & Shin, J.-W. (2012). Scaffolds for bone tissue engineering fabricated from two different materials by the rapid prototyping technique: PCL versus PLGA. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 23(11), 2671-2678.
- Park, Y. H., Son, S. W., Han, S. R., & Kim, H. J. (2023). Comparison of 2-octyl cyanoacrylate and n-octyl cyanoacrylate topical skin adhesives for wound closure after ankle fracture surgery: a prospective randomized trial. *Scientific reports*, 13(1), 17099.
- Pascual, G., Sotomayor, S., Rodríguez, M., Pérez-Köhler, B., Kühnhardt, A., Fernández-Gutiérrez, M., . . . Bellón, J. M. (2016). Cytotoxicity of cyanoacrylate-based tissue adhesives and short-term preclinical in vivo biocompatibility in abdominal hernia repair. *PLoS one*, 11(6), e0157920.
- Pellegrini, G., Seol, Y., Gruber, R., & Giannobile, W. (2009). Pre-clinical models for oral and periodontal reconstructive therapies. *Journal of Dental Research*, 88(12), 1065-1076.
- Peltola, S. M., Melchels, F. P., Grijpma, D. W., & Kellomäki, M. (2008). A review of rapid prototyping techniques for tissue engineering purposes. *Annals of medicine*, 40(4), 268-280.
- Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., . . . Dirnagl, U. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 40(9), 1769-1777.
- Peterson, D. E., Koyfman, S. A., Yarom, N., Lynggaard, C. D., Ismaila, N., Forner, L. E., . . . Watson, E. (2024). Prevention and management of osteoradionecrosis in patients with head and neck cancer treated with radiation therapy: ISOO-MASCC-ASCO guideline. *Journal of Clinical Oncology*, 42(16), 1975-1996.
- Peterson, G. I., Dobrynin, A. V., & Becker, M. L. (2017). Biodegradable shape memory polymers in medicine. *Advanced healthcare materials*, 6(21), 1700694.
- Piemontese, M., Onal, M., Xiong, J., Han, L., Thostenson, J. D., Almeida, M., & O'Brien, C. A. (2016). Low bone mass and changes in the osteocyte network in mice lacking autophagy in the osteoblast lineage. *Scientific reports*, 6(1), 24262.
- Pons, D. K., Eleuterio, R. G., Paiva, F. F., Holgado, L. A., Marques, L., Consolaro, A., . . . Kinoshita, A. (2020). Vertical Guided bone augmentation using titanium mesh domes coated with natural latex extracted from *Hevea brasiliensis*. *Coatings*, 10(6), 595.
- Porter, J. R., Ruckh, T. T., & Popat, K. C. (2009). Bone tissue engineering: a review in bone biomimetics and drug delivery strategies. *Biotechnology progress*, 25(6), 1539-1560.
- Prendergast, B. J., Onishi, K. G., & Zucker, I. (2014). Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 40, 1-5.
- Qasim, M., Haq, F., Kang, M.-H., & Kim, J.-H. (2019). 3D printing approaches for cardiac tissue engineering and role of immune modulation in tissue regeneration. *International journal of nanomedicine*, 1311-1333.
- Qasim, S. B., Najeeb, S., Delaine-Smith, R. M., Rawlinson, A., & Rehman, I. U. (2017). Potential of electrospun chitosan fibers as a surface layer in functionally graded GTR membrane for periodontal regeneration. *Dental Materials*, 33(1), 71-83.
- Qin, X., Wu, Y., Liu, S., Yang, L., Yuan, H., Cai, S., . . . Li, X. (2022). Surface modification of polycaprolactone scaffold with improved biocompatibility and controlled growth factor

release for enhanced stem cell differentiation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 802311.

Quinn, J. V. (2005). *Tissue adhesives in clinical medicine*: PMPH-USA.

Raja, N., Park, H., Gal, C. W., Sung, A., Choi, Y.-J., & Yun, H.-s. (2023). Support-less ceramic 3D printing of bioceramic structures using a hydrogel bath. *Biofabrication*, 15(3), 035006.

Rakhmatia, Y. D., Ayukawa, Y., Furuhashi, A., & Koyano, K. (2013). Current barrier membranes: titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications. *Journal of prosthodontic research*, 57(1), 3-14.

Ramezanzade, S., Aeinehvand, M., Ziaei, H., Khurshid, Z., Keyhan, S. O., Fallahi, H. R., . . . Sefat, F. (2023). Reconstruction of critical sized maxillofacial defects using composite allogeneic tissue engineering: systematic review of current literature. *Biomimetics*, 8(2), 142.

Ratheesh, G., Venugopal, J. R., Chinappan, A., Ezhilarasu, H., Sadiq, A., & Ramakrishna, S. (2017). 3D fabrication of polymeric scaffolds for regenerative therapy. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 3(7), 1175-1194.

Ratner, B. (2004). Correlation, surfaces and biomaterials science. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*, 2, 765-771.

Reagan, M. R., & Rosen, C. J. (2016). Navigating the bone marrow niche: translational insights and cancer-driven dysfunction. *Nature Reviews Rheumatology*, 12(3), 154-168.

Ren, Y., Fan, L., Alkildani, S., Liu, L., Emmert, S., Najman, S., . . . Xiong, X. (2022). Barrier membranes for guided bone regeneration (GBR): a focus on recent advances in collagen membranes. *International journal of molecular sciences*, 23(23), 14987.

Retzepi, M., & Donos, N. (2010). Guided bone regeneration: biological principle and therapeutic applications. *Clinical oral implants research*, 21(6), 567-576.

Rezende, M., Cunha, P., Damante, C. A., Santana, A. C., Greggi, S. L., & Zangrando, M. S. (2015). Cyanoacrylate adhesive as an alternative tool for membrane fixation in guided tissue regeneration. *J Contemp Dent Pract*, 16(6), 512-518.

Rezuc, A., Saavedra, C., Maass, R., Poblete, C., & Nappe, C. (2020). Histological comparison of DBBM and platelet rich fibrin for guided bone regeneration in a rabbit model. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 10(3), 287-293.

Rezwan, K., Chen, Q., Blaker, J. J., & Boccaccini, A. R. (2006). Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(18), 3413-3431.

Ricard-Blum, S. (2011). The collagen family. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(1), a004978.

Rider, P., Kačarević, Ž. P., Alkildani, S., Retnasingh, S., Schnettler, R., & Barbeck, M. (2018). Additive manufacturing for guided bone regeneration: A perspective for alveolar ridge augmentation. *International journal of molecular sciences*, 19(11), 3308.

Roberts, T. T., & Rosenbaum, A. J. (2012). Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics: the bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing. *Organogenesis*, 8(4), 114-124.

Robling, A. G., Castillo, A. B., & Turner, C. H. (2006). Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 8(1), 455-498.

- Roccuzzo, M., Savoini, M., Dalmasso, P., & Ramieri, G. (2017). Long-term outcomes of implants placed after vertical alveolar ridge augmentation in partially edentulous patients: a 10-year prospective clinical study. *Clinical oral implants research*, 28(10), 1204-1210.
- Rodriguez, A. E., & Nowzari, H. (2019). The long-term risks and complications of bovine-derived xenografts: A case series. *Journal of indian society of periodontology*, 23(5), 487-492.
- Rogers, S. N., Lakshmiah, S. R., Narayan, B., Lowe, D., Brownson, P., Brown, J. S., & Vaughan, E. D. (2003). A comparison of the long-term morbidity following deep circumflex iliac and fibula free flaps for reconstruction following head and neck cancer. *Plastic and reconstructive surgery*, 112(6), 1517-1525.
- Ronda, M., Rebaudi, A., Torelli, L., & Stacchi, C. (2014). Expanded vs. dense polytetrafluoroethylene membranes in vertical ridge augmentation around dental implants: a prospective randomized controlled clinical trial. *Clinical oral implants research*, 25(7), 859-866.
- Rosato, A., Romano, A., Totaro, G., Celli, A., Fava, F., Zanaroli, G., & Sisti, L. (2022). Enzymatic degradation of the most common aliphatic bio-polyesters and evaluation of the mechanisms involved: an extended study. *Polymers*, 14(9), 1850.
- Roseti, L., Parisi, V., Petretta, M., Cavallo, C., Desando, G., Bartolotti, I., & Grigolo, B. (2017). Scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and new perspectives. *Materials Science and Engineering: C*, 78, 1246-1262.
- Sadat-Shojai, M., Khorasani, M.-T., Dinpanah-Khoshdargi, E., & Jamshidi, A. (2013). Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomaterialia*, 9(8), 7591-7621.
- Sáez-Alcaide, L. M., Gallego, B. G., Moreno, J. F., Navarro, M. M., Cobo-Vázquez, C., Brinkmann, J. C.-B., & Meniz-García, C. (2023). Complications associated with vertical bone augmentation techniques in implant dentistry: A systematic review of clinical studies published in the last ten years. *Journal of stomatology, oral and maxillofacial surgery*, 124(6), 101574.
- Safadi, F. F., Barbe, M. F., Abdelmagid, S. M., Rico, M. C., Aswad, R. A., Litvin, J., & Popoff, S. N. (2009). Bone structure, development and bone biology. *Bone pathology*, 1-50.
- Sagar, P., Prasad, K., Lalitha, R., & Ranganath, K. (2015). Cyanoacrylate for intraoral wound closure: a possibility? *International journal of biomaterials*, 2015(1), 165428.
- Sagheb, K., Schiegnitz, E., Moergel, M., Walter, C., Al-Nawas, B., & Wagner, W. (2017). Clinical outcome of alveolar ridge augmentation with individualized CAD-CAM-produced titanium mesh. *International journal of implant dentistry*, 3, 1-7.
- Saito, M., & Marumo, K. (2010). Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporosis international*, 21, 195-214.
- Saito, M., & Marumo, K. (2015). Effects of collagen crosslinking on bone material properties in health and disease. *Calcified tissue international*, 97, 242-261.
- Sandberg, M. M. (1991). Matrix in cartilage and bone development: current views on the function and regulation of major organic components. *Annals of medicine*, 23(3), 207-217.
- Sanders, D., & Waydia, S. (2014). A systematic review of randomised control trials assessing mesh fixation in open inguinal hernia repair. *Hernia*, 18(2), 165-176.
- Santos, A. R. C., Almeida, H. A., & Bártolo, P. J. (2013). Additive manufacturing techniques for scaffold-based cartilage tissue engineering: a review on various additive manufacturing

- technologies in generating scaffolds for cartilage tissue engineering. *Virtual and Physical Prototyping*, 8(3), 175-186.
- Saravanan, S., Leena, R., & Selvamurugan, N. (2016). Chitosan based biocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *International journal of biological macromolecules*, 93, 1354-1365.
- Schenk, R. K., Buser, D., Hardwick, W. R., & Dahlin, C. (1994). Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 9(1).
- Schindeler, A., McDonald, M. M., Bokko, P., & Little, D. G. (2008). *Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture*. Paper presented at the Seminars in cell & developmental biology.
- Schlegel, K. A., Lang, F. J., Donath, K., Kulow, J. T., & Wiltfang, J. (2006). The monocortical critical size bone defect as an alternative experimental model in testing bone substitute materials. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 102(1), 7-13.
- Schmid, J., Hämmerle, C., Flickiger, L., Winkler, J., Olah, A., Gogolewskiz, S., & Lang, N. (1997). Blood-filled spaces with and without filler materials in guided bone regeneration. A comparative experimental study in the rabbit using bioresorbable membranes. *Clinical oral implants research*, 8(2), 75-81.
- Sculean, A., Nikolidakis, D., & Schwarz, F. (2008). Regeneration of periodontal tissues: combinations of barrier membranes and grafting materials—biological foundation and preclinical evidence: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 106-116.
- Seeman, E. (2009). Bone modeling and remodeling. *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression*, 19(3).
- Seewald, S., Sriram, P., Naga, M., Fennerty, M., Boyer, J., Oberti, F., & Soehendra, N. (2002). Cyanoacrylate glue in gastric variceal bleeding. *Endoscopy*, 34(11), 926-932.
- Sela, J., Amir, D., Schwartz, Z., & Weinberg, H. (1987). Ultrastructural tissue morphometry of the distribution of extracellular matrix vesicles in remodeling rat tibial bone six days after injury. *Cells Tissues Organs*, 128(4), 295-300.
- Seo, Y., Yoon, H., Park, Y., Song, K., Lee, W., & Park, J. (2009). Correlation between scaffold in vivo biocompatibility and in vitro cell compatibility using mesenchymal and mononuclear cell cultures. *Cell biology and toxicology*, 25(5), 513-522.
- Sethuraman, A., Han, M., Kane, R. S., & Belfort, G. (2004). Effect of surface wettability on the adhesion of proteins. *Langmuir*, 20(18), 7779-7788.
- Shafiee, A., & Atala, A. (2017). Tissue engineering: toward a new era of medicine. *Annual review of medicine*, 68(1), 29-40.
- Shao, J., Ma, J., Lin, L., Wang, B., Jansen, J. A., Walboomers, X. F., . . . Yang, F. (2019). Three-dimensional printing of drug-loaded scaffolds for antibacterial and analgesic applications. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 25(4), 222-231.
- Shapiro, F. (2008). Bone development and its relation to fracture repair. The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. *Eur Cell Mater*, 15(53), e76.
- Shapiro, F., & Wu, J. Y. (2019). Woven bone overview: structural classification based on its integral role in developmental, repair and pathological bone formation throughout vertebrate groups. *Eur Cell Mater*, 38, 137-167.

- Shirzaei Sani, E., Kheirkhah, A., Rana, D., Sun, Z., Foulsham, W., Sheikhi, A., . . . Annabi, N. (2019). Sutureless repair of corneal injuries using naturally derived bioadhesive hydrogels. *Science advances*, 5(3), eaav1281.
- Silber, J. S., Anderson, D. G., Daffner, S. D., Brislin, B. T., Leland, J. M., Hilibrand, A. S., . . . Albert, T. J. (2003). Donor site morbidity after anterior iliac crest bone harvest for single-level anterior cervical discectomy and fusion. *Spine*, 28(2), 134-139.
- Singer, A. J., Mohammad, M., Tortora, G., Thode Jr, H. C., & McClain, S. A. (2000). Octylcyanoacrylate for the Treatment of Contaminated Partial-thickness Burns in Swine A Randomized Controlled Experiment. *Academic Emergency Medicine*, 7(3), 222-227.
- Skoog, S. A., Goering, P. L., & Narayan, R. J. (2014). Stereolithography in tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 25(3), 845-856.
- Slotte, C., & Lundgren, D. (2002). Impact of cortical perforations of contiguous donor bone in a guided bone augmentation procedure: an experimental study in the rabbit skull. *Clinical implant dentistry and related research*, 4(1), 1-10.
- Soldatos, N. K., Stylianou, P., Koidou, V. P., Angelov, N., Yukna, R., & Romanos, G. E. (2017). Limitations and options using resorbable versus nonresorbable membranes for successful guided bone regeneration. *Quintessence international*, 48(2).
- Song, Y., Yang, Z., Liu, Y., & Deng, J. (2018). Function representation based slicer for 3D printing. *Computer Aided Geometric Design*, 62, 276-293.
- Soni, S., Gupta, H., Kumar, N., Nishad, D. K., Mittal, G., & Bhatnagar, A. (2010). Biodegradable biomaterials. *Recent Patents on Biomedical Engineering (Discontinued)*, 3(1), 30-40.
- Sowmya, S., Bumgardener, J. D., Chennazhi, K. P., Nair, S. V., & Jayakumar, R. (2013). Role of nanostructured biopolymers and bioceramics in enamel, dentin and periodontal tissue regeneration. *Progress in polymer science*, 38(10-11), 1748-1772.
- Sozzi, D., Cassoni, A., De Ponti, E., Moretti, M., Pucci, R., Spadoni, D., . . . Valentini, V. (2022). Effectiveness of resective surgery in Complex Ameloblastoma of the Jaws: a retrospective Multicenter Observational Study. *Cancers*, 14(19), 4608.
- Spearman, S. S., Rivero, I. V., & Abidi, N. (2014). Influence of polycaprolactone/polyglycolide blended electrospun fibers on the morphology and mechanical properties of polycaprolactone. *Journal of applied polymer science*, 131(9).
- Spicer, P. P., Kretlow, J. D., Young, S., Jansen, J. A., Kasper, F. K., & Mikos, A. G. (2012). Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. *Nature protocols*, 7(10), 1918-1929.
- Spin-Neto, R., Marcantonio, E., Gotfredsen, E., & Wenzel, A. (2011). Exploring CBCT-based DICOM files. A systematic review on the properties of images used to evaluate maxillofacial bone grafts. *Journal of digital imaging*, 24, 959-966.
- Spotnitz, W. D. (2014). Fibrin sealant: the only approved hemostat, sealant, and adhesive—a laboratory and clinical perspective. *International Scholarly Research Notices*, 2014(1), 203943.
- Starch-Jensen, T., Deluiz, D., Deb, S., Bruun, N. H., & Tinoco, E. M. B. (2020). Harvesting of autogenous bone graft from the ascending mandibular ramus compared with the chin region: a systematic review and meta-analysis focusing on complications and donor site morbidity. *Journal of oral & maxillofacial research*, 11(3), e1.
- Stickens, D., Behonick, D. J., Ortega, N., Heyer, B., Hartenstein, B., Yu, Y., . . . Werb, Z. (2004). Altered endochondral bone development in matrix metalloproteinase 13-deficient mice.

- Storey, R. F., & Taylor, A. E. (1998). Effect of Stannous Octoate on the Composition, Molecular Weight, and Molecular Weight Distribution of Ethylene Glycol-Initiated Poly (ϵ -Caprolactone). *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 35(5), 723-750.
- Storti, G., & Lattuada, M. (2017). Synthesis of bioresorbable polymers for medical applications *Bioresorbable Polymers for Biomedical Applications* (pp. 153-179): Elsevier.
- Sun, H., Mei, L., Song, C., Cui, X., & Wang, P. (2006). The in vivo degradation, absorption and excretion of PCL-based implant. *Biomaterials*, 27(9), 1735-1740.
- Sun, X., Liu, C., Shi, Y., Li, C., Sun, L., Hou, L., & Wang, X. (2019). The assessment of xenogeneic bone immunotoxicity and risk management study. *Biomedical Engineering Online*, 18(1), 108.
- Taghizadeh, A., & Favis, B. D. (2013). Carbon nanotubes in blends of polycaprolactone/thermoplastic starch. *Carbohydrate polymers*, 98(1), 189-198.
- Tamma, R., & Ribatti, D. (2017). Bone niches, hematopoietic stem cells, and vessel formation. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 151.
- Teitelbaum, S. L. (2000). Bone resorption by osteoclasts. *Science*, 289(5484), 1504-1508.
- Teitelbaum, S. L. (2007). Osteoclasts: what do they do and how do they do it? *The American journal of pathology*, 170(2), 427-435.
- Temtem, M., Casimiro, T., Mano, J. F., & Aguiar-Ricardo, A. (2008). Preparation of membranes with polysulfone/polycaprolactone blends using a high pressure cell specially designed for a CO₂-assisted phase inversion. *The Journal of Supercritical Fluids*, 43(3), 542-548.
- Thangavel, S., Kandasamy, K. T., Rathanasamy, R., & Dhairiyasamy, R. (2024). Enhancing thermal and mechanical properties of polycaprolactone nanofibers with graphene and graphene oxide reinforcement for biomedical applications. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 29, e20240324.
- Titsinides, S., Agrogiannis, G., & Karatzas, T. (2019). Bone grafting materials in dentoalveolar reconstruction: A comprehensive review. *Japanese Dental Science Review*, 55(1), 26-32.
- Tolar, J., Teitelbaum, S. L., & Orchard, P. J. (2004). Osteopetrosis. *New England Journal of Medicine*, 351(27), 2839-2849.
- Toro, M., Cardona, A., Restrepo, D., & Buitrago, L. (2021). Does vaporized hydrogen peroxide sterilization affect the geometrical properties of anatomic models and guides 3D printed from computed tomography images? *3D Printing in Medicine*, 7(1), 29.
- Toroian, D., Lim, J. E., & Price, P. A. (2007). The size exclusion characteristics of type I collagen: implications for the role of noncollagenous bone constituents in mineralization. *Journal of Biological Chemistry*, 282(31), 22437-22447.
- Tran, P. A. (2021). Blood clots and tissue regeneration of 3D printed dual scale porous polymeric scaffolds. *Materials Letters*, 285, 129184.
- Tsiridis, E., Upadhyay, N., & Giannoudis, P. (2007). Molecular aspects of fracture healing: Which are the important molecules? *Injury*, 38 (Suppl 1): S11–S25.
- Turco, G., Porrelli, D., Marsich, E., Vecchies, F., Lombardi, T., Stacchi, C., & Di Lenarda, R. (2018). Three-dimensional bone substitutes for oral and maxillofacial surgery: Biological and structural characterization. *Journal of Functional Biomaterials*, 9(4), 62.
- Urban, I. A., Jovanovic, S. A., & Lozada, J. L. (2009). Vertical ridge augmentation using guided bone regeneration (GBR) in three clinical scenarios prior to implant placement: a retrospective

- study of 35 patients 12 to 72 months after loading. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 24(3).
- Urban, I. A., Monje, A., & Lozada, J. (2017). Principles for Vertical Ridge Augmentation in the Atrophic Posterior Mandible: A Technical Review. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 37(5).
- Urist, M. R. (1980). Fundamental and clinical bone physiology. (*No Title*).
- Van Tol, A. F., Schemenz, V., Wagermaier, W., Roschger, A., Razi, H., Vitienes, I., . . . Weinkamer, R. (2020). The mechanoresponse of bone is closely related to the osteocyte lacunocanalicular network architecture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(51), 32251-32259.
- Vanputte, C., Regan, J., & Russo, A. (2013). Skeletal system: Bones and joints. *Seeley's Essentials of Anatomy & Physiology*. 8th ed. USA: Mc Graw Hill, 110-149.
- Varma, S., Orgel, J. P., & Schieber, J. D. (2016). Nanomechanics of type I collagen. *Biophysical journal*, 111(1), 50-56.
- Veríssimo, D. M., Leitão, R. F., Figueiró, S. D., Góes, J. C., Lima, V., Silveira, C. O., & Brito, G. A. (2015). Guided bone regeneration produced by new mineralized and reticulated collagen membranes in critical-sized rat calvarial defects. *Experimental biology and medicine*, 240(2), 175-184.
- Verna, C., Bosch, C., Dalstra, M., Wikesjö, U. M., & Trombelli, L. (2002). Healing patterns in calvarial bone defects following guided bone regeneration in rats: A micro-CT scan analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(9), 865-870.
- Vico, L., van Rietbergen, B., Vilayphiou, N., Linossier, M. T., Locrelle, H., Normand, M., . . . Novikov, V. (2017). Cortical and trabecular bone microstructure did not recover at weight-bearing skeletal sites and progressively deteriorated at non-weight-bearing sites during the year following International Space Station missions. *Journal of Bone and Mineral Research*, 32(10), 2010-2021.
- Vu, T. H., & Werb, Z. (2000). Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes & development*, 14(17), 2123-2133.
- Vuletić, M., Knežević, P., Jokić, D., Rebić, J., Žabarović, D., & Macan, D. (2014). Alveolar bone grafting in cleft patients from bone defect to dental implants. *Acta Stomatologica Croatica*, 48(4), 250.
- Wang, B., Feng, C., Liu, Y., Mi, F., & Dong, J. (2022). Recent advances in biofunctional guided bone regeneration materials for repairing defective alveolar and maxillofacial bone: A review. *Japanese Dental Science Review*, 58, 233-248.
- Wang, D., Zhou, X., Cao, H., Zhang, H., Wang, D., Guo, J., & Wang, J. (2023). Barrier membranes for periodontal guided bone regeneration: a potential therapeutic strategy. *Frontiers in Materials*, 10, 1220420.
- Wang, H.-L., & Boyapati, L. (2006). "PASS" principles for predictable bone regeneration. *Implant Dentistry*, 15(1), 8-17.
- Wang, J., Wang, L., Zhou, Z., Lai, H., Xu, P., Liao, L., & Wei, J. (2016). Biodegradable polymer membranes applied in guided bone/tissue regeneration: a review. *Polymers*, 8(4), 115.
- Wang, S., Gu, R., Wang, F., Zhao, X., Yang, F., Xu, Y., . . . Liu, Y. (2022). 3D-Printed PCL/Zn scaffolds for bone regeneration with a dose-dependent effect on osteogenesis and osteoclastogenesis. *Materials Today Bio*, 13, 100202.

- Wang, W., & Yeung, K. W. (2017). Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioactive materials*, 2(4), 224-247.
- Wang, X., Mu, M., Yan, J., Han, B., Ye, R., & Guo, G. (2024). 3D printing materials and 3D printed surgical devices in oral and maxillofacial surgery: design, workflow and effectiveness. *Regenerative Biomaterials*, 11, rbae066.
- Wang, X., Wang, Y., Gou, W., Lu, Q., Peng, J., & Lu, S. (2013). Role of mesenchymal stem cells in bone regeneration and fracture repair: a review. *International orthopaedics*, 37, 2491-2498.
- Wang, Y., Liu, C., Song, T., Cao, Z., & Wang, T. (2024). 3D printed polycaprolactone/ β -tricalcium phosphate/carbon nanotube composite—Physical properties and biocompatibility. *Heliyon*, 10(5).
- Wang, Z., Liang, R., Jiang, X., Xie, J., Cai, P., Chen, H., . . . Zheng, L. (2019). Electrospun PLGA/PCL/OCF nanofiber membranes promote osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs). *Materials Science and Engineering: C*, 104, 109796.
- Wenz, B., Oesch, B., & Horst, M. (2001). Analysis of the risk of transmitting bovine spongiform encephalopathy through bone grafts derived from bovine bone. *Biomaterials*, 22(12), 1599-1606.
- Wessing, B., Urban, I., Montero, E., Zechner, W., Hof, M., Alandez Chamorro, J., . . . Sanz, M. (2017). A multicenter randomized controlled clinical trial using a new resorbable non-cross-linked collagen membrane for guided bone regeneration at dehiscenced single implant sites: interim results of a bone augmentation procedure. *Clinical oral implants research*, 28(11), e218-e226.
- Wieckiewicz, M., W Boening, K., Grychowska, N., & Paradowska-Stolarz, A. (2017). Clinical application of chitosan in dental specialties. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 17(5), 401-409.
- Willson, K., & Atala, A. (2022). Medical 3D printing: tools and techniques, today and tomorrow. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 13(1), 481-499.
- Windisch, P., Orban, K., Salvi, G. E., Sculean, A., & Molnar, B. (2021). Vertical-guided bone regeneration with a titanium-reinforced d-PTFE membrane utilizing a novel split-thickness flap design: a prospective case series. *Clinical oral investigations*, 25, 2969-2980.
- Wissing, T. B., Bonito, V., Bouten, C. V., & Smits, A. I. (2017). Biomaterial-driven in situ cardiovascular tissue engineering—a multi-disciplinary perspective. *NPJ Regenerative medicine*, 2(1), 18.
- Wojnar, R. (2010). Bone and cartilage—its structure and physical properties. *Biomechanics of Hard Tissues: Modeling, Testing, and Materials*, 1-75.
- Woodard, L. N., & Grunlan, M. A. (2018). Hydrolytic degradation and erosion of polyester biomaterials: ACS Publications.
- Woodruff, M. A., & Hutmacher, D. W. (2010). The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in polymer science*, 35(10), 1217-1256.
- Wortham, J. M. (2024). Second nationwide tuberculosis outbreak caused by bone allografts containing live cells—United States, 2023. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 72.
- Xaus, J., Comalada, M., Valledor, A. F., Cardó, M., Herrero, C., Soler, C., . . . Celada, A. (2001). Molecular mechanisms involved in macrophage survival, proliferation, activation or apoptosis. *Immunobiology*, 204(5), 543-550.

- Xie, Y., Li, S., Zhang, T., Wang, C., & Cai, X. (2020). Titanium mesh for bone augmentation in oral implantology: current application and progress. *International journal of oral science*, 12(1), 37.
- Xie, Y., Qin, Y., Wei, M., & Niu, W. (2024). Application of sticky bone combined with concentrated growth factor (CGF) for horizontal alveolar ridge augmentation of anterior teeth: a randomized controlled clinical study. *BMC oral health*, 24(1), 431.
- Xing, Z.-C., Han, S.-J., Shin, Y.-S., & Kang, I.-K. (2011). Fabrication of biodegradable polyester nanocomposites by electrospinning for tissue engineering. *Journal of Nanomaterials*, 2011(1), 929378.
- Xiong, J., Onal, M., Jilka, R. L., Weinstein, R. S., Manolagas, S. C., & O'brien, C. A. (2011). Matrix-embedded cells control osteoclast formation. *Nature medicine*, 17(10), 1235-1241.
- Xu, C., Lei, C., Meng, L., Wang, C., & Song, Y. (2012). Chitosan as a barrier membrane material in periodontal tissue regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 100(5), 1435-1443.
- Xu, T., Yao, Q., Miszuk, J. M., Sanyour, H. J., Hong, Z., Sun, H., & Fong, H. (2018). Tailoring weight ratio of PCL/PLA in electrospun three-dimensional nanofibrous scaffolds and the effect on osteogenic differentiation of stem cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 171, 31-39.
- Yamaguchi, K., Munakata, M., Sato, D., Kataoka, Y., & Kawamata, R. (2023). The effectiveness and practicality of a novel barrier membrane for the open window in maxillary sinus augmentation with a lateral approach, with risk indicators for bone graft displacement and bone height decrease: A prospective study in humans. *Bioengineering*, 10(10), 1110.
- Yang, H. (2019). *Osteogenesis and bone regeneration: BoD—Books on Demand*.
- Yang, Y., Wu, H., Fu, Q., Xie, X., Song, Y., Xu, M., & Li, J. (2022). 3D-printed polycaprolactone-chitosan based drug delivery implants for personalized administration. *Materials & Design*, 214, 110394.
- Yaseri, R., Fadaie, M., Mirzaei, E., Samadian, H., & Ebrahiminezhad, A. (2023). Surface modification of polycaprolactone nanofibers through hydrolysis and aminolysis: a comparative study on structural characteristics, mechanical properties, and cellular performance. *Scientific reports*, 13(1), 9434.
- Yasuda, H., Shima, N., Nakagawa, N., Yamaguchi, K., Kinosaki, M., Mochizuki, S.-i., . . . Murakami, A. (1998). Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(7), 3597-3602.
- Yoshida, H., Hayashi, S.-I., Kunisada, T., Ogawa, M., Nishikawa, S., Okamura, H., . . . Nishikawa, S.-I. (1990). The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony stimulating factor gene. *Nature*, 345(6274), 442-444.
- Yu, B., Pacureanu, A., Olivier, C., Cloetens, P., & Peyrin, F. (2020). Assessment of the human bone lacuno-canalicular network at the nanoscale and impact of spatial resolution. *Scientific reports*, 10(1), 4567.
- Zellin, G., & Linde, A. (1996). Effects of different osteopromotive membrane porosities on experimental bone neogenesis in rats. *Biomaterials*, 17(7), 695-702.
- Zhang, J., Xu, Q., Huang, C., Mo, A., Li, J., & Zuo, Y. (2010). Biological properties of an anti-bacterial membrane for guided bone regeneration: an experimental study in rats. *Clinical oral implants research*, 21(3), 321-327.

- Zhang, M., Zhou, Z., Yun, J., Liu, R., Li, J., Chen, Y., . . . Han, J. (2022). Effect of different membranes on vertical bone regeneration: a systematic review and network meta-analysis. *BioMed Research International*, 2022(1), 7742687.
- Zhang, S., Huang, Y., Yang, X., Mei, F., Ma, Q., Chen, G., . . . Deng, X. (2009). Gelatin nanofibrous membrane fabricated by electrospinning of aqueous gelatin solution for guided tissue regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 90(3), 671-679.
- Zhang, Y., Yu, W., Ba, Z., Cui, S., Wei, J., & Li, H. (2018). 3D-printed scaffolds of mesoporous bioglass/gliadin/polycaprolactone ternary composite for enhancement of compressive strength, degradability, cell responses and new bone tissue ingrowth. *International journal of nanomedicine*, 5433-5447.
- Zhang, Z.-Z., Wang, S.-J., Zhang, J.-Y., Jiang, W.-B., Huang, A.-B., Qi, Y.-S., . . . Yu, J.-K. (2017). 3D-printed poly (ϵ -caprolactone) scaffold augmented with mesenchymal stem cells for total meniscal substitution: a 12-and 24-week animal study in a rabbit model. *The American journal of sports medicine*, 45(7), 1497-1511.
- Zhao, R., Yang, R., Cooper, P. R., Khurshid, Z., Shavandi, A., & Ratnayake, J. (2021). Bone grafts and substitutes in dentistry: a review of current trends and developments. *Molecules*, 26(10), 3007.
- Zhu, G., Zhang, T., Chen, M., Yao, K., Huang, X., Zhang, B., . . . Zhao, Z. (2021). Bone physiological microenvironment and healing mechanism: Basis for future bone-tissue engineering scaffolds. *Bioactive materials*, 6(11), 4110-4140.
- Zigdon, H., Lewinson, D., Bick, T., & Machtei, E. E. (2014). Vertical bone augmentation using different osteoconductive scaffolds combined with barrier domes in the rat calvarium. *Clinical implant dentistry and related research*, 16(1), 138-144.