



**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ**

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ

Deneyssel Olarak Oluşturulan Maksiller Sinüs Augmentasyonlarında Borik Asitin Direkt Olarak ve Bakteriyel Selüloza Emdirilerek Ksenogreftle Bir Arada Kullanımının Kemik Rejenerasyonu Üzerindeki Etkinliklerinin Karşılaştırmalı Olarak Histolojik ve Histomorfometrik Olarak Değerlendirilmesi. Pilot Çalışma

2021-9845

Araştırma Başlangıç Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Doç. Dr. Songül CÖMERT KILIÇ

Diş Hekimliği Fakültesi / Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Araştırmacılar:

Doç. Dr. Murat ÖZDAL

Fen Fakültesi / Genel Biyoloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Onur CEYLAN

Tıp Fakültesi / Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Nihat KILIÇ

Diş Hekimliği Fakültesi / Ortodonti Anabilim Dalı

Uzm. Dt. Gönül KOÇ

Diş Hekimliği Fakültesi / Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Ağustos 2022

ERZURUM

ÖNSÖZ

Bu proje, partiküler formda dağılık olarak hazırlanan bakteriyel selüloz örneklerinin saf halde ve borik asit emdirilerek elde edilen kompozit formunun bir scaffold olarak sert doku rejenerasyonundaki etkinliğini değerlendiren ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Ayrıca bu proje, partiküler formda dağılık olarak hazırlanan bakteriyel selüloz örneklerinin saf halde ve borik asit emdirilerek elde edilen kompozit formunun greft materyalleriyle karıştırılarak bir arada kullanımının sert doku rejenerasyonunda etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışma olma özelliğini de taşımaktadır. Bu bilimsel araştırma projesini 2021/9845 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve katkılarıyla projenin en iyi şekilde yürütülmesini ve sonuçlanmasını sağlayan proje ekibinde yer alan değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Doç. Dr. Songül CÖMERT KILIÇ

ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET.....	6
ABSTRACT.....	7
1. GİRİŞ.....	8
2. MATERYAL VE METOT.....	28
3. BULGULAR.....	35
4. TARTIŞMA.....	43
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
REFERANSLAR.....	50
EKLER.....	
EK 1. ETİK KURUL ONAY FORMU.....	64
EK 2. DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI.....	66

ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ

TABLO VE ŞEKİL LİSTELERİ

Şekil 1. Deneklerde cerrahi sahanın traşlanması, deneklerin hazırlanması ve aseptik koşulların sağlanmasının ardından insizyonu takiben diseksiyonun tamamlanması

Şekil 2. Deneklerde maksiller sinüsün üst duvarı üzerinde kemik penceresi açılması ve membranın havalandığının gözlemlenmesi

Şekil 3. Ksenogreft+Borik asit kullanılarak yapılan maksiller sinüs augmentasyonu

Şekil 4. Sadece bakteriyel selüloz kullanılarak yapılan maksiller sinüs augmentasyonu

Şekil 5. Bakteriyel selüloz ile ksenogreftin karıştırılarak kullanıldığı maksiller sinüs augmentasyonu

Şekil 6. Açılan giriş kavitesinin kollajen membran ile kapatılması

Şekil 7. Periostun suture edilmesi ve cilt kesisinin kapatılması

Şekil 8. Bakteriyel selülozun üretim prosesi ve yapılan ön çalışmada çalkalamalı kültürde üretilen ve NaOH ile temizlenmiş bakteriyel selüloz örnekleri

Şekil 9. Bakteriyel selüloz (A) ve borik asit içeren bakteriyel selüloz (B) SEM görüntüleri

Şekil 10. Bakteriyel selüloz (üst) ve bakteriyel selüloz içeren borik asitin (alt) XRD görüntüleri

Şekil 11. Bakteriyel selüloz (kırmızı) ve bakteriyel selüloz içeren borik asitin (mavi) FTIR görüntüsü

Resim 1. Grup 1, Sadece Ksenogreft uygulanan grup, H&E x 200 ve MTC x 200 boyama görüntüleri

Resim 2. Grup 2, Ksenogreft + Borik Asit uygulanan grup, H&E x 200 ve MTC x 200 boyama görüntüleri

Resim 3. Grup 3, Greft + Bakteriyel Selüloz uygulanan grup, H&E x 200 ve MTC x 200 boyama görüntüleri

Resim 4. Grup 4, Greft + Borik Asit emdirilmiş Bakteriyel Selüloz uygulanan grup, H&E x 200 ve MTC x 200 boyama görüntüleri

Resim 5. Grup 5, Sadece bakteriyel selüloz uygulanan grup, H&E x 200 ve MTC x 200 boyama görüntüleri

Tablo 1. Gruplara göre elde edilen ortalama yeni kemik oluşum yüzdeleri (Histomorfometrik analizlere göre)

ÖZET

Deneysel Olarak Oluşturulan Maksiller Sinüs Augmentasyonlarında Borik Asitin Direkt Olarak ve Bakteriyel Selüloza Emdirilerek Ksenogreftle Bir Arada Kullanımının Kemik Rejenerasyonu Üzerindeki Etkinliklerinin Karşılaştırmalı Olarak Histolojik ve Histomorfometrik Olarak Değerlendirilmesi. Pilot Çalışma

Amaç: Bu çalışmanın amacı, tavşanlarda maksiller sinüs augmentasyonlarında borik asitin direkt olarak ve dağınık formda hazırlanmış bakteriyel selüloza emdirilerek ksenogreft ile bir arada kullanımının kemik rejenerasyonu üzerindeki histolojik ve histomorfometrik etkilerini incelemektir.

Materyal ve Metod: Bu pilot çalışmada Yeni Zelanda tipi 7 dişi albino tavşanda 14 maksiller sinüs augmentasyon işlemi yapıldı. Subantral boşluğu dolduran malzemeye göre 5 farklı grup oluşturuldu. 8 haftalık takip süresinin sonunda histolojik ve histomorfometrik incelemeler yapıldı. Ayrıca bakteriyel selülozun saf ve borik asit emdirilmiş formunun yüzey özelliklerini incelemek için SEM, XRD ve FTIR analizleri yapıldı.

Bulgular: Histolojik ve histomorfometrik incelemelerde borik asit kullanan gruplarda inflamasyon ve fibrozis biraz daha fazla gözlenirken, sadece bakteriyel selüloz kullanılan gruplarda bu durumlar gözlenmedi. Ortalama yeni kemik oluşum yüzde değerleri; Grup 1'de (sadece ksenograft) %19,5, Grup 2'de (borik asit + ksenograft), %33,3, Grup 3'te (ksenograft + bakteriyel selüloz) % 38,3, Grup 4'te (ksenogreft + borik asit emdirilmiş bakteriyel selüloz) %43,3 ve Grup 5'te %30 (sadece bakteriyel selüloz) bulundu. Bakteriyel selülozun yüzey özellikleri değerlendirildiğinde iyi organize olmuş düzensiz birbirine bağlı gözenekli bir yapı gösterdiği, borik asidin bakteriyel selüloza emilmesiyle bakteriyel selülozun gözenek alanlarının arttığı ve bu alanlarda ise kemikleşme odağının sağlandığı görülmüştür.

Sonuç: Borik asidin inflamatuvar yanıt oluşturduğu ve eklendiği maddede parçalanmaya neden olarak kemik rejenerasyonuna önemli katkı sağladığı gözlemlenmiştir. Borik asidin bakteriyel selüloz içine emdirilerek kullanılmasının, yavaş ve uzun süreli salınımı ile üstün bir kemik rejenerasyonu sağladığı gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel selüloz, borik asit, hidrojel, kemik rejenerasyonu, ksenogreft, maksiller sinüs augmentasyonu, sinüs lift

ABSTRACT

Comparative Histological and Histomorphometrically Evaluation of the Boric Acid Alone and combination of Bacterial Cellulose Absorbed Boric Acid and Xenograft on Bone Regeneration after Experimental Maxillary Sinus Augmentations. A Pilot Study

Aim: The aim of this study was to investigate histological and histomorphometric effects of boric acid alone and combination of bacterial cellulose absorbed boric acid and xenograft on bone regeneration after experimental maxillary sinus augmentations (MSA) in rabbit model.

Material and Method: In this pilot study, 14 maxillary sinus augmentation were performed in 7 female New Zealand albino rabbits. 5 different groups were formed according to the filling material filled to the subantral space. At the end of the 8-week follow-up period, histological and histomorphometric examinations were done. In addition, SEM, XRD and FTIR analyzes were carried out to investigate the surface properties of pure and boric acid-impregnated form of bacterial cellulose.

Results: In the histological and histomorphometric examinations, inflammation and fibrosis was observed slightly more in boric acid groups, but no inflammation and fibrosis observed in bacterial cellulose group. Mean percentages of new bone formation were 19.5% in Group 1 (only xenograft), 33.3% in Group 2 (boric acid + xenograft), 38.3% in Group 3 (xenograft + bacterial cellulose), 43.3% in Group 4 (xenograft + boric acid-impregnated bacterial cellulose), and 30 % in Group 5 (only bacterial cellulose). The surface properties of bacterial cellulose showed well-organized, irregular and interconnected porous structure, and the pore areas of the bacterial cellulose were increased by the absorption of boric acid into the bacterial cellulose and ossification focused in these areas.

Conclusion: It has been observed that boric acid creates an inflammatory response, and it contributed significant effect on bone regeneration by causing fragmentation in the substance to which it added. It has been observed that the use of bacterial cellulose absorbed boric acid provided superior bone regeneration potential with its releases of slow and long-term period.

Key Words: Bacterial cellulose, boric acid, hydrogel, bone regeneration, xenograft, maxillary sinus augmentation, sinus lift

GİRİŞ

Diş kayıplarını takiben öncelikle bukkal kemiğin rezorbe olmasıyla horizontal kemik kalınlığı azalmakta ve sonrasında kemik hacminde ve yoğunluğunda azalma meydana gelmektedir (Thomas, 1990; Garg, 1999). Ayrıca, sinüs membranında ve dişsiz alveoler kemikte osteoklastik aktivitede artış meydana geldiği, pneumatizasyonun arttığı, vestibüler sulkus derinliğinin azaldığı ve bunun da maksiller sinüs tabanındaki kemik miktarının azalmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Davarpanah vd., 2001; John ve Wenz, 2004).

Yetersiz kemik yüksekliğine sahip olan posterior maksiller alana dental implant yerleştirebilmek için, kemik yüksekliğinin ve kalitesinin artırılması amacıyla ek cerrahi tekniklerin geliştirilmesi düşünülmüş, bu amaçla maksiller sinüs augmentasyonu literatürde ilk olarak Tatum (Tatum, 1986) tarafından uygulanarak tanıtılmış, daha sonra birçok araştırmacı tarafından bu teknikler geliştirilerek uygulanmaya devam edilmiştir (Boyne, 1980). Dental implantların uygulanabilmesi için maksilla posterior bölgede yeterli kemik yüksekliğinin elde edilebilmesi amacıyla yapılan, maksiller sinüs mukozasının sinüs tabanından eleve edilerek yukarı kaldırılması, maksiller sinüs taban yükseltilmesi (MSTY) olarak tanımlanmıştır (Valiense vd., 2016). Sinüs tabanının yükseltilmesi, mevcut literatürlerde maksiller sinüs yükseltilmesi, sinüs augmentasyonu ve subantral augmentasyon gibi isimlerle de tanıtılmıştır (Kaufman, 2003). Bu tekniklerde dental implant uygulamaları, sinüs augmentasyon cerrahileri ile eş zamanlı ya da iki aşamalı olarak uygulanmış (Tsai vd., 2020; John ve Wenz, 2004) ve çoğunlukla çeşitli greft materyallerinin tek başlarına ya da ek biyolojik ajanlar katılarak uygulandığı (Browaeys vd., 2007; Kim vd., 2012; Rickert vd., 2012), ayrıca greft konulmadan kullanılan birçok sinüs augmentasyon tekniğinin de klinisyenler tarafından yaygın olarak kullanıldığı görülmüştür (Gill vd., 2020; Andrés-García vd., 2021). Greft materyalinin revaskülarizasyonuna izin vermek ve yeterli ve kaliteli yeni kemik elde etmek amacıyla augmentasyondan genellikle 6-8 ay sonrasında dental implant yerleştirmesi yapılmakta ve bu sürenin kısaltılmasına yönelik çeşitli yöntem ve uygulamalar bir çok çalışmada yer almaktadır (Raghoobar vd., 2001; Woo ve Le, 2004). Sinüs augmentasyonları temel olarak Lateral Antrostomi Tekniği (direk yaklaşım) ve Krestal Yaklaşım Tekniği (indirek yaklaşım) olmak üzere iki farklı cerrahi yöntemle uygulanabilmektedir. Literatür incelendiğinde, modifiye trephan ve osteotom ile yaklaşım, cosci tekniği, balon sinüs lift tekniği ve hidrolik sinüs lift

tekniki gibi çeşitli isimlerle tanıtılmış olan birçok modifiye tekniğin de var olduğu görülmektedir (Gill vd., 2020).

Dış Hekimliğinde oral hastalıkların araştırılması, implant ve kemik grefti gibi materyallerin özelliklerinin araştırılmasında ve geliştirilmesinde hayvan modelleri sıklıkla kullanılmaktadır. Deneyisel olarak oluşturulmuş ve sinüs augmentasyon cerrahilerinde beslenme ve anestezi koşullarındaki kolaylık, daha az maliyetli olması, sinüs membranın diseksiyonunun kolay olması ve sinüs ostiumları ve havalanması ile insanların maksiller sinüslerine benzer özellikler göstermesinden dolayı, sinüs tabanındaki yeni kemik oluşumunun fizyolojisini değerlendirmek amacıyla tavşan kullanımı sıklıkla tercih edilmiştir (Lambert vd., 2011; Kim vd., 2012). Ayrıca, tavşan sinüs mukozasının geniş silyalı epitel ve seröz bezler barındırması membran perforasyon riskini düşürerek, işlemler esnasında rezidüel maksiller sinüste enflamasyon oluşumunu engellemektedir (Watanabe vd., 1999). Sinüs lift operasyonlarından sonra klinik çalışmalarda olgun yeni kemik elde etmek için 6-8 ay beklenmesi gerekirken, tavşanlarda metabolizma hızının insanlardan 3-4 kat daha fazla olması sebebiyle, deneyisel çalışmalarda kullanılan tavşan için bu kemik rejenerasyon süresi 8 haftaya kadar inmektedir (Allegrini vd., 2003, 2004). Bu da yapılan çalışma verilerinin daha erken dönemde elde edilmesine ve çalışma süresinin kısılmasına imkân vermektedir.

Kemik augmentasyon tekniklerinde, kullanılan greft materyalleri ile başarılı kemik rejenerasyonu sağlamak için, greftlenen bölge bir membran bariyeri ile örtülerek, bağ dokusu ve epitel hücrelerinin defekt bölgesine göçü engellenmiş olur. Osteoblastların kemik rejenerasyonunu sağlamasına izin veren bu uygulama ise ‘Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (YDR veya GBR) olarak adlandırılmaktadır. Bu teknik sayesinde fibröz doku iyileşmesi ile sonuçlanan klinik başarısızlık önlenmekte, oluşması beklenen kemiğin rejenerasyonu artırılmakta, yeni kemik oluşumu ve kemik remodelingi sağlanmakta ve yumuşak dokunun kemik rejenerasyonu olacak bölgeye doğru büyümesi engellenerek uygulanan kemik greftinin başarılı ve kalıcı olması sağlanmaktadır (Toledano-Osorio vd., 2021).

YDR prensibinden yola çıkarak sinüs augmentasyonlarında sinüs membranını yükseltmek amacıyla açılan kemik pencere, yeni kemik rejenerasyonu sırasında kemik grefti bölgesine fibröz bağ dokusunun invajinasyonunu önlemek ve sinüs tabanında daha yüksek yeni kemik oluşumunu sağlamak için bir bariyer membran ile örtülmektedir. Kemik pencerenin örtülmesinde kullanılan bariyer membranlarla osteoblastlar, fibroblastların önüne geçerek kemik rejenerasyonunu desteklemekte ve artırmaktadır (Wallace vd., 2005). Bu amaçla

politetrafloretillen (PTFE), titanium mesh gibi rezorbe olmayan membranlar, kollojen membran, bakteriyel selüloz gibi rezorbe olan membranlar ya da otojen periostal membran, otojen bağ dokusu, plateletten zengin fibrin gibi otolog ürünler de kullanılmaktadır (Tuskan, 2002; Lee vd., 2015).

Tek başına yada çeşitli ajanların emdirilmesiyle elde edilen kombine formları ile yaygın, güvenilir ve etkin bir şekilde kullanılan kollojen membran bariyerleri, biyouyumlu, doğal enzimatik yolla rezorbe olabilen, mekanik olarak şekillendirilebilir ve aynı zamanda uygulama kolaylığına sahip, erken yara stabilizasyonunu sağlayan homeostatik özelliğe sahip, yarı geçirgen özellik gösteren, besin geçişine izin veren ve fibroblastları çekmeye yarayan kemotaktik özelliğe sahip bir ürün olarak literatürde geniş bir kullanım alanı bulmuştur (Postlethwaite vd.,1978; Schwarz vd., 2006).

Greft materyalleri osteogenez, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon yolu ile kemik rejenerasyonunu sağlarlar (Bilezikian vd., 2008; Iturriaga ve Ruiz, 2004). Osteogenez, canlı osteoblastların ve öncü osteoblastların bulunduğu durumlarda gerçekleşir. Canlı osteoblastlar kemik greftleri ile birlikte defek bölgesine yerleştirildiklerinde kemik oluşum merkezlerini uyarırlar. Sadece taze otojen kemikte ve kemik iliği hücrelerinde bu özellik bulunur (Albrektsson vd., 2001). Osteoindüksiyon, indükleyici ajanların etkisiyle farklılaşmamış bağ dokusu hücrelerinin kemik hücrelerine farklılaşması ve bu farklılaşma sonucunda yeni kemik dokusu oluşturmaktır. Otojen kortikal kemikler ve otojen kemik parçaları ve demineralize dondurularak kurutulmuş kemik allogrefti osteoindüktif özellik göstermektedir (Jablonski, 1982; Yildirim vd., 2000; Murugan ve Ramakrishna, 2005). Osteokondüksiyon, non-vital greft materyallerinin, öncü osteoblastlar için çatı-iskele görevi görmesidir. Hidroksiapatit, kollojen ve kalsiyum fosfat gibi alloplastik greftlerin osteokondüktif özelliği bulunur (Yildirim vd., 2000). Osteogenez için gerekli hücresel elementlere sahip olmadıklarından dolayı otojen greft dışındaki diğer greftler sadece osteokondüktif özellik göstermektedir (Rickert vd., 2012).

Sinüs augmentasyonunda kullanılan çeşitli greft materyallerinin etkinliğini değerlendiren güncel bir derlemede, yapılan klinik çalışmalarda otojen, ksenojen, allojen, alloplastik greftlerin (bifazik kalsiyum fosfat, trikalsiyum fosfat, nanohidroksiapatit gibi) ve bu materyallerin birbirleriyle çeşitli kombinasyonlarının kullanıldığı ve bu greftlerin herbirinin bazı avantaj ve dezavantajlara sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu greft materyallerinin rejeneratif özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla kollojen, plateletten zengin plazma, plateletten zengin fibrin, stromal vasküler fraksiyon, recombinant insan kemik proteinin 2 ve 7 (rhBMP-2,

rhBMP-7) ve E.coli kaynaklı recombinant kemik proteinin 2 (ErhBMP-2) gibi ilave biyoaktif ajanların grefte eklenerek kullanıldığı da bildirilmiştir (Stumbras vd., 2020).

Ksenogreftin yeni kemik formasyonu üzerinde diğer greft materyalleri ile benzer iyileşme skorlarına sahip olduğunu gösteren çalışmaların (Hocaoğlu vd., 2018; Oh vd., 2019; Starch-Jensen vd., 2020) yanında, daha düşük iyileşme skorları gösterdiğini belirten çalışmalar (Stumbras vd., 2020) da literatürde yer almaktadır.

Yapılan denaysel bir çalışmada; kritik boyuttaki kemik defektlerinin tamirinde otojen, allojen, ksenogreft ve alloplastik greftlerin yeni oluşan kemik hacmine olan etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Araştırmacılar otojen, allogreft ve ksenogreftlerin benzer şekilde iyileşme gösterdiğini, ancak sentetik kemik greftinden daha az kemik hacmi sağladığını bildirmişlerdir. Ayrıca, çalışmada otojen greftlerin elde edilmesinde ve cerrahi süreçte yaşanan zorluklar nedeniyle, ksenogreftin otojen kemik greftine alternatif olarak güvenilir ve etkili biçimde kullanılabileceği vurgulanmıştır (Hocaoğlu vd., 2018).

2020'de yayınlanan bir meta-analizde, maksiller sinüs augmentasyonlarında otojen kemik grefti, ksenogreft, allojen ve alloplastik kemik greftleri ile bu greft materyallerinin otojen kemik greftleriyle kombine kullanımlarının kemik rejenerasyonundaki etkinliği karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Çalışma sonuçları, diğer greft materyalleri ile karşılaştırıldığında otojen kemik greftinin maksiller sinüs augmentasyonunda önemli oranda yüksek kemik miktarı sağladığını, fakat otojen dışındaki diğer greft materyalleri arasında elde edilen kemik miktarı açısından önemli bir farklılığın olmadığını göstermiştir (Starch-Jensen vd., 2020).

Çeşitli greft materyallerine osteoindüktif özellik kazandırmak ve yeni kemik oluşum sürecini kısaltıp daha iyi iyileşme skorları elde edebilmek amacıyla, Plateletten Zengin Plazma (PRP), Plazmadan Zengin Büyüme Faktörü (PRGF), Lökosit İçerikli Plateletten Zengin Fibrin (L-PRF) ve Rekombinant İnsan Kemik Proteini 2 ve 7 (rhBMP-2, rhBMP-7) gibi çeşitli büyüme faktörlerinin ve biyolojik ajanların ilave edilerek kullanıldığı birçok çalışma literatürde yer almaktadır (Torres vd., 2009; Nizam vd., 2018; Corinaldesi vd., 2013). BMP'ler ve yağ dokusundan türetilen kök hücrelerin ektopik kemik oluşumunu indükleyerek kemik tümörü oluşumuna neden olduğu, herhangi bir rezidüel tümörü farklılaştırmak, çoğaltmak veya metastaz yapmak için indükleyip indükleyemeyeceği bilinmediği gibi, kemik rejenerasyonunu stimule etmek için bunların kullanımlarının bilimsel temellere de dayanmadığı ifade edilmektedir (Yoshikawa H vd., 2004; Jeong vd., 2011; Ji vd., 2013; Centeno vd., 2011).

2019 da yapılan sinüs augmentasyonu için kullanılan greft materyallerinin kemik rejenerasyonundaki etkinliğinin değerlendirildiği sistematik bir derlemede; yeni kemik

oluşumunda en iyi sonucun otojen kemik (% 41.74) ve mineralize kansellöz kemik allogrefti (%35.41) ile elde edildiği ve en kötü iyileşme skorunun ksenogreft olan Bi-Oss ile elde edildiği belirtilmiştir. Çalışma verilerine göre araştırmacılar, inorganik sığır kaynaklı Bi-Oss'un, Plazmadan Zengin Büyüme Faktörü (PRGF) ile birlikte kullanımının kemik formasyonu ve vaskülarizasyonu artırdığını ve bunun da komplikasyon riskini azaltarak enflamasyonu azalttığını vurgulamışlardır (Stumbras vd, 2020).

İnsanların ve hayvanların günlük diyetlerinde yer alması gerektiği bilinen ve kemik metabolizmasında kalsiyum, D vitamini ve magnezyum ile etkileşime girerek önemli bir yer alan borun, osteoblastların ve osteoklastların aktivitelerini etkileyerek kemik büyümesine ve onarımına yardımcı olduğu bilinmektedir (Devirian ve Volpe, 2003; Gorustovich vd., 2008). Borik asit, steroid hormonlar ile etkileşerek kalsiyum kaybını ve kemik demineralizasyonunu engellemekte ve vitamin D eksikliği olan deneklerde büyümeyi uyararak vitamin D eksikliğinden dolayı ortaya çıkan mineral metabolizmasındaki olumsuzlukları hafiflettiği belirtilmektedir (Hakki vd., 2010; Devirian ve Volpe, 2003).

Borik asitin kemik rejenerasyonu üzerindeki etkinliği bir çok çalışmada değerlendirilmiştir (Hakki, 2010; Ying X vd., 2011; Toker vd., 2016). Hakki vd. (2010) fare osteoblast hücrelerinde borun kemik metabolizması üzerindeki moleküler etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, borik asitin fare osteoblastik hücre hattının hücre çoğalmasını, mineralizasyon düzeyini ve kollojen tip I, osteokalsin gibi kemik büyümesi ile ilgili mRNA düzeyini artırdığını belirtmişlerdir. Ayrıca, hücre sağkalım oranının 1000 ng/mL borik asit muamelesinde azaldığı belirtilerek, araştırmacılar moleküler düzeyde borik asitin kemik metabolizması üzerinde önemli roller oynadığını ve rejeneratif tıpta yeni kullanım alanları bulabileceğini iddia etmişlerdir (Hakki, 2010).

Ying vd. (2011) kemik iliği stromal hücrelerinin (BMSC) osteojenik farklılaşması üzerinde farklı konsantrasyonlarda kullanılan borun etkinliğini farklı zaman aralıklarında değerlendirmişlerdir. 1, 10 ve 100 ng/mL borik asit konsantrasyonlarının kullanıldığı gruplarda, kontrol grubuna göre hücre sayısında hafif bir düşüş görülmesine rağmen, 1000 ng/mL borik asit kullanılan grupta, BMSC sayısının anlamlı şekilde azaldığı bildirilmiştir. 1 ve 1000 ng/mL konsantrasyonlarının kullanıldığı gruplarda, BMSC'lerin alkalen fosfataz(ALP) aktivitesinde kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülmemiş iken, 1 ve 10 ng/mL borik asitle muamele edilmiş gruplarda kontrol grubuna göre kalsiyum birikimlerinde artış görülmüş ve 100 ve özellikle 1000 ng/mL konsantrasyonlarında kalsiyum birikimlerinde anlamlı şekilde azalma

görülmüştür. Ayrıca, 4. ve 7. günlerde ALP ve Osteokalsin(OCN) ifadesinin 10 ve 100 ng/mL borik asitle kültüre edilen BMSC'lerde oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar, insan BMSC'lerinde proliferasyon ve farklılaşma fazı sırasında borik asitin osteojenik aktiviteyi artırdığını belirtmiş ve kemik doku mühendisliğinde hücre temelli yapının osteojenik kapasitesini artırmak için borik asit kullanımlarının umut verici sonuçlar ortaya çıkarabileceğini vurgulamışlardır (Ying X vd., 2011).

Bor kemik rejenerasyonu üzerinde sağladığı etkinliğin yanında, antibakteriyel ve antienflamatuvar özellik göstermesi nedeniyle de araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir (Naghii vd., 2011). Boromisin olarak bilinen bor içeren ilk biyomolekül, streptomyces üzerinde etkili olan bir çeşit antibiyotiktir. Boromisin, gram [+] bakterilere, bazı mantarlara ve protozoaya karşı oldukça etkilidir. Borik asit esterlerinin antimikrobiyal etkinlikleri; eritromisin, gentamisin ve streptomisin gibi klinikte kullanılan bazı antibiyotiklerle karşılaştırılabilir düzeydedir. Bu nedenle borik asit bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde lokal alternatif antimikrobiyal ajan olarak önerilmektedir (Borokhov vd., 2007; Sağlam vd., 2013; Larsen vd., 2018; Baker vd., 2006; Luan vd., 2008).

Literatür incelendiğinde borik asitin kemik rejenerasyonu üzerine etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalarda borik asitin lokal ve sistemik olarak kullanıldığı görülmektedir (Gölge vd., 2015; Ulu vd., 2018). Borik asitin lokal uygulamalarda toz halinde greft materyallerine karıştırılarak kullanıldığı gibi çeşitli konsantrasyonlarda jel (Singhal vd., 2018) ve solüsyon (Sağlam vd., 2013) halinde de kullanıldığı görülmüştür. Ayrıca sistemik olarak değişen oranlarda diyet ürünlerine ilave edilerek kullanıldığı da görülmektedir (Singh vd., 2021).

Gölge vd. (2015) borik asitin kırık iyileşmesi üzerindeki etkilerinin standart kapalı femoral shaft kırıkları oluşturulan 40 adet rat üzerinde deneysel olarak incelenmesini amaçlamış ve farklı doz ve uygulama şekilleri ile 4 ve 8 mg/kg borik asit lokal olarak direkt fraktür hattına toz halinde ve sistemik olarak diyet ürünlerine ilave edilerek kullanılmış ve kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak etkinlikleri klinik, radyolojik ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada lokal borik aside maruz kalan gruplar ile kontrol ve diğer gruplar arasında radyolojik ve histolojik olarak önemli farklılıklar olduğu, lokal borik asitin (8 mg/kg) uygulandığı ve hem oral hem de sistemik borik asit (8 mg/kg/gün oral alım) kullanılan gruplarda, anlamlı olarak daha yüksek kemik iyileşmesi ortaya çıktığı belirtilmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada, borik asitin kırık iyileşmesinde faydalı olabileceğini, lokal olarak uygulanmasının da en etkili form olduğunu belirtmişlerdir (Gölge vd., 2015).

Ulu vd. (2018) maksiller sinüs augmentasyonunda otojen kemik ve ksenojen kemik greftinden oluşan kombine karışım ile birlikte lokal ve sistemik borik asit kullanımının yeni kemik oluşumuna etkisini araştırdıkları deneysel bir çalışmada, bir grupta 3 mg/kg borik asiti greft içeriğine karıştırmış ve diğer grupta ise aynı dozdaki borik asiti günlük içme sularına ilave ederek kullanmışlardır. 4. ve 8. haftalarda yapılan histolojik, histomorfometrik ve immünohistokimyasal analizlere göre, 4. haftada borik asitin lokal olarak uygulandığı grupta, kontrol ve sistemik borik asit uygulanan gruplara göre kemik rejenerasyonunun daha iyi olduğu görülmesine rağmen, 8. hafta sonunda kemik rejenerasyonu açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı belirtilmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada borik asidin hem lokal hem de sistemik olarak uygulandığında kemik iyileşmesinin erken döneminde yeni kemik oluşumunu hızlandırdığını ve birbirleriyle karşılaştırıldığında, lokal uygulamanın sistemik uygulamadan daha etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Kırık onarımı, kemik büyütme, distraksiyon osteogenezi, maksiller sinüs yükselmesi gibi kemik iyileşmesine ihtiyaç duyulan alanlarda borik asit verilmesinin süreci hızlandırabileceğini savunmuşlardır. Ayrıca ucuz ve kolay temin edilebilen borik asit mineralinin entegre edilerek üretilecek kemik grefti ve membran gibi biyomalzemelerin Diş Hekimliği ve Tıp alanlarında rejeneratif uygulamalara önemli katkı sağlayabileceğini iddia etmişlerdir (Ulu vd., 2018).

İnsanlarda ve hayvanlarda fazla bor vücuttan dışarı atılabildiği için yalnızca çok miktarda bor tükütiminin toksik reaksiyonlara neden olabileceği belirtilmiştir. Yetişkinlerde borun letal dozu 18 ila 20 mg/kg olarak bildirilse de bor toksisitesine bağlı ölüm nadirdir. Hatta bazı bireylerde 80 ila 297 mg/kg arasında alınan bor miktarının tolere edilebildiği de rapor edilmiştir (Von Burg, 1992; Hunt, 2003; Devirian ve Volpe, 2003).

Kemik rejenerasyonu üzerine lokal olarak uygulanan borik asitin lokal kullanım dozu sınırlı sayıda çalışmada ele alındığı ve dozun 3-8 mg/kg arasında değiştiği görülmektedir (Gölge vd., 2015; Ulu vd., 2018). Önerilen lokal doz hakkında sınırlı veri olmasına rağmen, Kömürcü ve arkadaşları kemirgenlerde spinal füzyonu iyileştirmek için otojenik kemik grefti ile veya otojen kemik grefti olmadan borik asitin lokal uygulaması için toplam 8.7 mg/kg lokal doz kullanımlarını karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Bu çalışmada kullanılan borik asit dozu incelenmemesine rağmen, araştırmacılar bu dozda kullanılan borik asitin kemik greftlerine dahil edilmesinin spinal füzyon üzerinde olumlu bir etki sağladığını belirtmişlerdir (Kömürcü vd., 2015).

2018 yılında yapılan randomize ve kontrollü bir klinik çalışmada, kök yüzey düzeltilmesi ve polisaj işlemleri ile birlikte subgingival olarak uygulanana borik asit jelin etkinliği klinik ve

rad-yografik olarak incelenmiştir. Bu çalışmada karbopol, sodyum karboksimetil selüloz ve metilselüloz (%3 ağırlık/hacim) gibi optimize edilmiş farklı jelleştirici ajanların belirli bir süre boyunca suda dağıtılmasıyla hazırlanan ve üretim aşamasında yapısına borun katılmasıyla oluşturulan % 0.75'lik borik asit jeli kullanılmıştır. Sistemik olarak sağlıklı ve kronik periodontitisi bulunan 39 hasta üzerinde yapılan bu çalışmada, 3. ve 6. ayda diğer gruplarla karşılaştırıldığında borik asit uygulanan grupta, defekt derinliğinde yüksek oranda azalma, ortalama sondalama derinliğinde düşüş ve ortalama klinik bağlanma seviyesi kazancında yüksek değerler ölçülmüştür (Kanoriya vd., 2018).

Çeşitli doğal ve sentetik materyaller, doğal ekstraselüler matrixi taklit ederek çeşitli büyüme faktörlerinin bağlanması için iskele ve taşıyıcı olarak kullanılabilir. Bu amaçla sentetik ve doğal olarak elde edilebilen hidro-jeller; tarım, gıda, biyomateryallerin üretiminde, su arıtma, biotıp ve eczacılık gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Dutta vd., 2019). Doğal hidro-jeller; kollojen, jelatin ve fibrini içeren proteinler gibi ve aljinat, agaroz, kitosan, hyalüronik asit ve dextranı içeren polisakkaritler gibi ve ekstraselüler matrix olarak kullanılan selüloz gibi doğal polimer tabanlı materyallerin biyolojik işlenmesini içermektedir. Sentetik hidro-jellerde ise akrilik asit, akrilamid, hidroxi-etil metakrilat, metakrilik asit, metil metakrilat yer almaktadır (Kabiri ve Zohuriaan-Mehir, 2008).

Hidro-jeller, in-vivo şişme özelliği, mekanik dirençleri, biyolojik dokulara uyumluluğu, yüksek su içeriği, dokuya bağlanma kolaylığı ve doğal dokulara benzer yumuşak bir kıvama sahip olması gibi önemli özellikler taşımaktadır. Ayrıca, optimal mekanik dirence sahip olmaları ilaç dağıtım sistemlerinde başarılı bir şekilde kullanımlarını sağlamaktadır. Hidro-jelin mekanik direnci, kargo molekülleri olarak verilen ilacın önceden belirlenmiş hızda salınmasını gerçekleştirinceye kadar, fiziksel bütünlüğünün korunmasını sağlamaktadır. Bu yüzden de hidro-jeller, ilaçların verilmesinde, kontakt lenslerde, yapay kalp ve deri uygulamalarında ve biosensörler için bir membran olarak kullanılabilir (Dutta vd., 2019).

Rejeneratif tıpta hidro-jeller; kemik, kırık ve vasküler dokular gibi çeşitli sert ve yumuşak dokuların rejenerasyonunu desteklemek ve tamir etmek için kullanılmaktadır. Hidro-jeller esas olarak yumuşak doku rejenerasyonu için düşünülmüş, son gelişmelerle birlikte sert doku mühendisliğinde ve birçok biomalzemenin üretilmesinde kullanılmıştır (Gkioni vd., 2010; Park, 2015). Mükemmel biyoyumlulukları, sergiledikleri minimal enflamatuar cevaplar nedeniyle yük taşımayan defekt alanlarında, kemik dokusunun rejenerasyonu için kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan bazı çalışmalar, hidro-jellerin sert doku tamirindeki etki mekanizmasının,

fraktür iyileşmesinin erken evrelerinde gözlemlenen mekanik, kimyasal ve fiziksel mekanizmalara benzer şekilde iyileşme davranışı gösterdiğini belirtmektedir (Slaughter vd., 2009). Yüksek mekanik özelliklere sahip hidrojel üzerinde osteoblast ve fibroblastların, endotel hücrelerden çok daha iyi hücre atışmanı ve proliferasyonu sağladığı bildirilmiştir (Tabata vd., 1998).

Kemik rejenerasyonunda hidrojin kullanımıyla ilgili olarak majör engel, yeni oluşan dokuda endotel hücrelerinin zayıf büyümesi, çoğalması ve ya hiç var olmamasıdır. Bu durum ise, besinlerin mineralize kemiğe ve hücresele bileşenlere iletilmesinin gecikmesine yol açabilmektedir (Rouwema vd., 2006). Özellikle biyolojik ajan ilaveleri olmadan hidrojinlerin tek başına kullanımlarında kemik mineralizasyonunu indüklemeye kapasitesinin sınırlı olduğu belirtilmektedir (Kim vd., 2009; Zhang vd., 2016). Ayrıca hidrojin kullanımı bakteriyel enfeksiyon için bir potansiyel teşkil etmekte (Lee vd., 2001) ve konak dokuda düşük hücre proliferasyonu ve atışmanı ile düşük mekanik direnç sağlamaktadır (Drury vd., 2003). Bu olumsuz özellikler, hidrojinlerin sert doku mühendisliğinde kullanımlarını sınırlandırmaktadır.

Hidrojinler üzerinde osteoblast aracılı mineralizasyon sağlamak, farklı hücrelerin proliferasyonu ve atışmanını artırmak, antimikrobiyal etkinliği artırmak ve yukarıda belirtilen çeşitli eksiklikleri gidermek için, öncelikle çeşitli tiplerde hazırlanan sentetik veya doğal hidrojin matrixlerin yeni özellikler taşıyacak şekilde yeniden dizayn edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda kalsiyum fosfat seramikleri, bioceram, nanosilver ve nanosilika gibi partikülleri içeren inorganik maddelerin katılması ve yapısal değişikliklerin uygulanması düşünülmüş (Iviglia vd., 2016; Zhang vd., 2016; Patel vd., 2020; Lohmann vd., 2017) ve literatür incelendiğinde yapılan in-vivo ve in-vitro çalışmaların çoğunun bu amaç etrafında yoğunlaştığı görülmüştür. Hidrojinin yapısına üretim aşamasında doymuş kalsiyum fosfat partiküllerinin katılması ve kemik minerallerinin depolanmasını sağlayan enzimlerin hidrojinle eklenmesi ile ilgili kemik ve kırıkta rejenerasyonunu artırmaya yönelik stratejiler geliştirilmiştir (Gkioni vd., 2010). Bu amaçla, yapılan çalışmalarda genellikle hidrojinler kullanılarak kemik defekt alanını dolduracak yeni greft ürünleri ve iskeleler geliştirilmeye çalışılmıştır (Barbeck vd., 2016; Shao vd., 2018; Bush vd., 2016; Lohmann vd., 2017).

Ayrıca bioaktif ajanların, osteoindüktif büyüme faktörlerin, kemik morfogenetik proteinlerin ve kök hücrelerin hidrojinle üretim aşamalarında ilave edilerek kontrollü salınım amacıyla kullanıldığı ve bu şekilde elde edilen kompozit hidrojinlerin artırılmış etkinliklerinin in-vivo ve in-vitro çalışmalarda değerlendirildiği görülmektedir (Yamamoto vd., 2006; Burdick vd., 2002; Lohmann vd., 2017; Bush vd., 2016; Shao vd., 2018; Gkioni vd., 2010; Wojda vd., 2020).

2017 yılında yapılan bu çalışmada, domuz jelatini ve lizinden oluşan yeni üç boyutlu mimariye sahip gözenekli ticari olarak üretilmiş olan ArcGel'in iyileştirme gücü farelerde oluşturulan kritik boyutlu kalvariya kemik defektlerinde BioOss greft materyali ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Araştırmacılar, ArcGel'in son teknoloji ürünün olan bir biyomateryale kıyasla, otolog kemik ile karşılaştırılabilir benzer iyileşme skorları sağladığını ve büyük defektlerde daha iyi kemik rejenerasyonu sağlama potansiyeli gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır (Lohmann vd., 2017).

2020 yılında yapılan bir çalışmada, büyük kemik defektlerinin tedavisinde, kemik rejenerasyonunu artırmak amacıyla parathormonunun(PTH) lokal olarak defekt alanlarına uygulanabilmesini sağlamak için, çeşitli konsantrasyonlarda parathormonu, sentetik bir hidrojel içine yüklenmiş ve bir osteokondüktif poli propilen fumarat (PPF) iskelesi içinde ve çevresinde polimerize edilmiştir. Araştırmacılar, PTH'nin hidrojelden 21 güne kadar salınım yaptığını ve bioaktif özelliğini koruduğunu, hidrojel yapısına katılan PTH'nin % 80'inin, 3. günde ve kalan %20'sinin ise 14. günde ortama salındığını ve defekt içi gelişmiş kemik köprülerinin oluştuğunu bildirmişlerdir (Wojda vd., 2020).

Yapılan bir çalışmada, segmental kemik defektlerinde kemik rejenerasyonunun geliştirilmesi için kemik morfogenetik protein-2'nin (BMP-2) kontrollü salınım taşıyıcısı olarak biyolojik olarak parçalanabilir bir jelatin hidrojelinin uygulanabilirliği araştırılmıştır. BMP-2 içeren jelatin hidrojellerin, serbest BMP-2'ye kıyasla önemli ölçüde yüksek osteoindüktif aktivite sağladığı ve önemli ölçüde daha yüksek BMD artışı görüldüğü belirtilmiş ve biyolojik olarak parçalanabilen jelatin hidrojelinin, BMP-2'nin kontrollü salınım yapan taşıyıcısı olabileceği iddia edilmiştir (Yamamoto vd., 2006).

Selüloz, bitkilerde özellikle sap, gövde ve tüm odunsu kısımlarında koruyucu hücre duvarında bulunan, lifli, sert ve suda çözünmeyen bir maddedir. Yapısında bol miktarda hidroxil gruplarının bulunmasından dolayı selüloz, değişen yapı ve özellikleri ile gelişmiş doku mühendisliği ve rejeneratif tıp için bir platform olarak hareket eden hidrojel hazırlanması için kullanılmaktadır. Ana selüloz kaynağı bitki lifidir. Bambu, pamuk tiftiği, keten, kenevir gibi bitkilerden önemli miktarlarda selüloz üretilir. İlave olarak bazı mantarlardan, yeşil alglerden, bakterilerden ve deniz mahsüllerinden de selüloz üretilmektedir (Dutta vd., 2019).

Bakteriyel selüloz (BS), kendisiyle iç içe geçen ve kristal, yüksek elastikiyet özelliği taşıyan, süper emici ağ benzeri bir yapı oluşturan, yaklaşık 1 µm çapında olan ince bir lifli elyafır. Hücrel adezyonu artıran, hücrelerin proliferasyonunu, göçünü ve atışmasını sağlayarak

sonunda da hücre farklılaşmasını teşvik eden, böylece yeniden epitelizasyon oranını artıran ve daha hızlı yara iyileşmesini sağlayan bakteriyel selüloz, rejeneratif tıpta önemli bir yer almaktadır. Son yıllarda bakteriyel selüloz medikal alanda; sert ve yumuşak doku rejenerasyonlarında, duramater protezi ve arteriyel stent kaplamalarında, yapay kan damarlarının üretiminde, yara örtüsü olarak, ilaç verici sistemlerde ve oftalmik iskele oluşturmada kullanılabilmektedir. Maxillofasial cerrahi alanında ise periodontal hastalıklı bireylerde, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (GBR-YDR) için defekt alanının tamirinde membran formunda ve dental kök kanallarının tedavisinde özellikle paper point olarak kullanılmıştır (Dutta vd., 2019; Rajwade vd., 2015).

Bakteriyel selülozun temel özellikleri arasında, biyouyumluluğunun yüksek olması, toksisite azlığı, çevre dostu olması, yüksek gerilme ve çekme kuvvetlerine dayanıklılığı yer almaktadır. Ayrıca, yüksek saflıkta olması, yüksek kristallik indeksi ve yüksek derecede polimerizasyondan sorumlu olan ince bir mikrofiber yapıya sahip olması, yüksek su tutma kapasitesi ile yüksek hidrofilik özellik taşıması, biyolojik affinite, sterilizasyonunun kolay olması ve istenilen şekilde ve boyutta üretilebilmesi de önemli avantajları arasında yer almaktadır (Czaja vd., 2004; Klemm vd., 2011; Lin vd., 2013; Fu vd., 2013; Qiu ve Netravali, 2014; Jozala vd., 2016; Han vd., 2019).

Bakteriyel selüloz, bitkisel selüloz ile aynı kimyasal yapıya sahip olmasına rağmen, moleküler yapısı ve fiziksel özellikleri farklılık arz etmektedir ve yapılan araştırmalarda eşsiz bir yapıya sahip olmakla birlikte ultra ince (nano boyutta) liflerden oluşan üç boyutlu bir ağ formuna sahip olduğu bildirilmiştir. Bitkilerden saf selüloz elde etmek kolay değildir, fiziksel ve kimyasal ayırma ve bazı arıtma işlemleriyle selüloz izole edilmektedir. Bitki selülozundan farklı olarak, bakteriyel selüloz saf halde üretilir ve lignin, hemiselüloz, pektin veya bitki özü içerisinde bulunan diğer bileşenleri içermez (Fu vd., 2013; Zeng, 2014).

Gluconacetobacter, Asetobacter, Agrobacterium, Achromobacter, Komagataeibacter, Alcaligenes, Pseudomonas, Rhizobium ve Sarcina gibi bazı gram negatif bakteri cinsleri, farklı kültür ortamlarındaki glikoz ve diğer karbon kaynaklarını kullanarak selülozu sentezleyip daha sonra hücre duvarındaki gözeneklerden dışarıya salgılamaktadır (Dutta vd., 2019; Rajwade vd., 2015; Poyrazoğlu, 2007). Bakteriyel selülozun biyosentezinde birçok enzim, katalitik kompleksler ve düzenleyici proteinler görev almaktadır. Bunların birçoğunun yapısı henüz tam olarak analiz edilememiştir (Bielecki vd., 2005; Kaya, 2007; Lin vd., 2013).

Bakteriyel selüloz farklı yöntemler de tanıtılmış olmasına rağmen (Zeng, 2014; Song vd., 2009), en sık statik ve çalkalama kültürü yöntemleri ile elde edilebilmektedir (Kumbhar vd.,

2017; Park vd.,2015; Shezad vd 2010; Tse vd., 2010). Ayrıca yara iyileşmelerinde, yapay kan damarı uygulamalarında ve GBR uygulamalarında kullanılan ticari olarak üretilmiş bakteriyel selüloz ürünleri de mevcuttur (Rajwade vd., 2015; Picheth, 2017; Liu vd., 2016; Dutta vd., 2019). Statik kültürde üretim çok daha basit olup, düşük teknoloji ve düşük maliyet gerektirmektedir ve yaygın olarak da bu elde ediliş yöntemi kullanılmaktadır (Zeng, 2014). Selüloz, bu kültürde besin ortamı içerisinde sıvı-hava yüzeyinde kalın bir biyofilm tabakası olarak üretilir ve kültür kabının yüzey alanı büyüklüğünde ve şeklinde (kare, daire, dikdörtgen) membran formunda bakteriyel selüloz elde edilir (Brown 2004). Üretilen selüloz, şerit yapısında olup mikrofibrillerden oluşur ve bakteri hücre yüzeyindeki gözeneklerden doğrusal olarak hücre duvarının dışına doğru büyür (Nandgaonkar, 2014). Uygun bir kültürasyon kabı kullanılarak kolaylıkla istenen şekilde BS membranlar elde edilebildiği gibi, inkübasyon süresinin değiştirilmesi ile de kalınlığı ayarlanabilmektedir.

Farklı amaçlara yönelik olarak çalkalamalı kültür şartlarında daha maliyetli olarak üretilen bakteriyel selüloz ise, membran şeklinde değil küresel şekilde de üretilmektedir (Tanskul vd., 2013.) Bu şekilde üretilen bakteriyel selüloz değişik boyutlarda ve şekillerde (yuvarlak, elipsoit, şerit şeklinde veya yıldız şeklinde) iyi çözünmüş süspansiyon halinde oluşmaktadır (Johnson ve Neogi, 1989). Çalkalamalı kültür ortamında hücre sayısı artmasına ve yüksek selüloz üretimi sağlanmasına karşın, bu yöntemde edilen selülozda statik kültür ortamına kıyasla selüloz verimi düşmektedir. Bu durum çalkalama sebebi ile büyüyen küresel toprakların bekleme süresinin artmasına bağlı olarak düzensiz topraklar haline gelmesine bağlanmaktadır. Çalkalama hareketinden dolayı selüloz parçaları kültür ortamının iç duvarına bağlanamaz ve sonuçta topraklar küresel şekilde, dağınık bir büyüme modeli izlemektedir (Czaja vd., 2004). Sonuç olarak üretilen selülozun fibrilleri statik kültürde edilen selülozdaki gibi güçlü değildir, bükülmüş ve karışık şekildedir (Poyrazoğlu vd., 2008; Duttaa vd., 2019). Bu yöntemde, selüloz verimliliğini artırmak için yüksek hacimli karıştırma gücü ve yüksek oksijen kaynağına ihtiyaç vardır. Bu durum maliyet ve teknoloji gereksinimi artırır ve yüksek enerji ihtiyacı gerektirir (Kouda vd., 1997). Küresel formda bakteriyel selüloz üretmek için literatürde farklı yöntemler az sayıdaki çalışmada tanıtılmıştır (Hoshi vd., 2018).

Selülozun fiziksel ve yapısal özellikleri, mekanik direnci ve rezorpsiyon süreleri, besiyeri içeriğinin değiştirilmesi ve bazı ajanların ilave edilmesi ile değişebilmekte ve geliştirilebilmektedir. Bakteriyel selülozun hücre ve dokularda toksik olmadığı gösterilmiş olsa da, bakteriyel selüloza hücre göçünü kısıtlayan fibriler matriksin yoğun yapısı nedeniyle, hücrelerin saf haldeki bakteriyel selüloza yapışması ideal seviyede gerçekleşmemektedir.

Bakteriyel selüloz içerisindeki hücre proliferasyonunu artırmak, gözenekleri genişletmek, hücrelerin selüloz içerisine göçünü kolaylaştıran kanallar üretmek ve hücre adezyonlarını artırmak için selüloza aljinat ve kollojen gibi diğer hidrojel tiplerinin katılması (Noh vd., 2019; Zhang vd., 2020), lazer veya gama ışınlarının uygulanması (An vd., 2017) ya da üretim aşamalarında bioaktif ajanların ilave edilmesi gibi farklı uygulamaların literatürde yer aldığı görülmektedir (Zhang vd., 2020).

Bakteriyel selüloz ilaç salınım sistemi çalışmalarında (Trovatti vd., 2012) ve antimikrobiyal, antifungal, antioksidan ve antikanser tedavileri amacıyla bir çok çalışmada kargo molekülü olarak kullanım alanı bulmuştur (Carvalho vd., 2019). BS membranlarına ilaç yüklemenin en yaygın yöntemi, ilacın maksimum emilimini sağlamak için genellikle liyofilizasyonu takiben selüloz membranının ilaç solüsyonuna daldırılması ve doyumluğa ulaştırılması ile elde edilmektedir (Swingler vd., 2019). Taşıyıcı olarak kullanılan bakteriyel selüloza antimikrobiyal ajanların, ibuprofen ve diklofenak gibi analjezik ve antienflamatuar ajanların, antibiyotiklerin, anestezi solüsyonların ve bioaktif ajanların emdirilmesi ya da yapısına katılması ile bu ajanların, bulunduğu ortama yavaş bir şekilde salınım yapması sağlanmaktadır (Shao vd., 2016; De Mattos vd., 2020; Junka vd., 2020; Gupta vd., 2020; Inoue vd., 2020; Wang vd., 2018). Bu salınımın büyük miktarının 3 saat ile 2 gün arasında gerçekleşerek pik seviyeye ulaştığı ve daha sonra salınımın yatay seyirde kalıp 93 saate kadar sabit şekilde devam ettiği belirtilmektedir (Shao vd., 2016; De Mattos vd., 2020; Beekmann vd., 2020).

İlaç dağıtım sistemlerinde genellikle bakteri selülozunun membran ve jel formu kullanılmaktadır (Mohamad vd., 2019; Hoshi vd., 2018; Koike vd., 2019). Hoshi ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, floresanı yavaşça serbest bırakmak için içi boş bir küresel formda selüloz içeren jel geliştirmişlerdir. Burada, herhangi bir kalıp veya şablon olmadan yağda su damlası tipinde damlacıklar oluşturarak içi boş küresel BS jeli hazırlamaya çalışmışlardır. Bakteriler büyüdükçe selüloz fibrilleri, büyüme ortamı damlacığı ve hücrelerin etrafında küresel yapılar oluşturmuş ve bu da saflaştırmadan sonra merkezde çok az miktarda ilacı doğrudan hedef alabilen ve emilimini sağlayan bir oyuk oluşmasına katkı sağlamıştır (Hoshi vd., 2018).

Aktif ajanların bakteriyel selüloza eklendiği çalışmalar incelendiğinde, çoğunlukla bu ajanların üretim aşamasında selüloza katıldığı (Inoue vd., 2020; Wang vd., 2018) ve daha az sayıdaki çalışmalarda ise bakteriyel selüloz üretildikten sonra bu ajanların 24 saat karanlıkta ve çalkalama yapılarak selüloza emdirildiği gözlemlenmiştir (Shao vd., 2016; De Mattos vd., 2020; Kumbhar vd., 2017). Literatürde ilave edilecek ajanların daha kısa süreli işlemler sonrasında bakteriyel selüloza katıldığını gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bakteriyel selülozun ve selüloza ilave edilen ajanların sert doku rejenerasyonu üzerindeki etkinliği çoğunlukla YDR uygulamalarında, bariyer membran olarak kullanılıp değerlendirilmiştir (Rajwade vd., 2015; Lee vd., 2017; Carvalho vd., 2019). Yapılan bir çalışmada bakteriyel selüloz (BS) membranlar ile rezorbe olabilen kollojen membranların YDR üzerindeki etkisi karşılaştırmalı olarak in vivo ve in vitro parametrelerle değerlendirilmiştir. BS membranında hücre yapışması ve çoğalmasının görüldüğü, bununla birlikte hücrelerin morfolojisinin daha az farklılaştığı ve hücre çoğalma oranının, kollojen membran üzerindeki hücrelere göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. BS membranının enflamatuar yanıt oluşturmadığı, GBR uygulamalarında bariyer amacıyla kullanılabileceğini ve bu amaçla sağladığı etkinliğin kollojen membran ile benzer olduğunu rapor etmişlerdir (Lee vd., 2015).

2020 yılında yapılan ve kritik boyut defektlerinin tamirinde ticari formda üretilmiş olan bakteriyel selüloz membranının (Nanoskin®) ve kollojen membran Bio-Gide®'in etkinliği karşılaştırmalı olarak farklı zaman peryotlarında histolojik, histometrik ve immünohistokimyasal analizler yapılarak değerlendirilmiştir. Postoperatif 30 ve 60. günlerde, bakteriyel selüloz grubunda, defekt alanını dolduran daha fazla olgun bağ dokusu göstermiş iken, kollojen grubunda diğer gruplara göre, yüksek miktarda yeni kemik oluşumu ve daha fazla cerrahi yara iyileşmesi bildirilmiştir. Postoperatif 7. ve 15. günlerdeki inflammatuar hücre sayısı bakteriyel selüloz grubunda kollojen grubuna göre daha yüksek bulunmuş, her iki grupta postoperatif 60. günde osteokalsin ve osteopontinin orta ve yoğun immüno etiketlemesi gösterdiği bildirilmiş ve BS membranının yumuşak doku onarımında ümit verici olmasına rağmen, sert doku tamirinde etkili sonuçlar ortaya çıkarmadığı vurgulanmıştır (Farnezi Bassi vd., 2020).

2020 yılında yapılan bir çalışmada, bakteriyel selüloz membran (BS) ve hidroksiapatit (HA) bazlı hibrit malzemelerin etkinliği değerlendirilmiş ve bu amaçla stronsiyum apatit ile ilişkili oksitlenmiş bakteriyel selüloz (OxBC) membranları yönlendirilmiş doku rejenerasyonu için kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre araştırmacılar, elde edilen membran tiplerinin farklı stronsiyum salım profilleri sunduğunu ve oksidasyonun fizyolojik koşullar altında bozunmayı artırdığını belirtmiş ve özellikle oksitlenmiş membranlarda düşük enflamatuar tepki ve artmış bağ dokusu onarımının görüldüğü belirtilmiştir. Bu çalışma ile GBR için bakteriyel selülozdan türetilmiş hibrit membranların potansiyel kullanımı önerilmiştir (Luz vd., 2020).

2019 yılında yapılan bir çalışmada, bakteriyel selüloz membrana daha iyi biyoaktif özellik kazandırılabilmesi için, hidroksiapatit (HA) ve anti-kemik morfogenetik protein antikoru (anti-BMP-2) (BC-HA-anti-BMP-2) ile ilişkili yenilikçi bir BS membranının sentezlenmesi

amaçlanmıştır. Anti-BMP-2 antikorlarının in vitro salım kinetiği incelenmiş, antikor seviyelerinin kademeli olarak düşürerek 7 günde yaklaşık % 70 ve 14 günde % 90 azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, BS-HA-anti-BMP-2 kombine formun, SPP1, BGLAP, VEGF, ALPL, RUNX2 ve TNFRSF11B ekspresyonunu, kemik onarımında rol oynayan genleri ve ayrıca mineralizasyon nodüllerini ve alkalın fosfataz (ALP) aktivite seviyelerini artırdığı belirtilmiştir (Coelho vd., 2019).

Literatür incelendiğinde, kemik defekt alanını dolduracak şekilde sert doku rejenerasyonu üzerine yapılan çalışmalarda, bakteriyel selülozun jel formunun (TEMPO) kullanıldığı gözlemlenmiştir (Park vd., 2015; Kumbhar vd., 2017; Carvalho vd., 2019). Bu çalışmalarda bakteriyel selülozun dolgu materyali olarak defekt alanlarına jel olarak konulduğu ve büyüme faktörleri ve kök hücreler için taşıyıcı ve iskele olarak kullanıldığı görülmüştür (Koike vd., 2019; Zang vd., 2014).

Yapılan bir çalışmada kemik doku mühendisliği için bir iskele görevi görmesi amacıyla nanofibröz -tetrametilpiperidin-1-oksil (TEMPO) -oksidize bakteriyel selülozun yapısına hidroksilapatit partikülleri ilave edilerek hidrojel oluşturulmuş ve iyi gelişmiş gözenekli yapıya sahip bu jel kompozitleri, kalvariya osteoblastlarla inkübe etmişlerdir. Bu şekilde hazırlanan selüloz formun, hücre proliferasyonunu ve hücre farklılaşmasını önemli ölçüde iyileştirildiği belirlenmiş ve kemik doku mühendisliği yapı iskelelerinde kullanım için bu hidrojelin potansiyel bir aday olduğu vurgulanmıştır (Park vd., 2015).

2020'de yapılan son dönem bir çalışmada, bakteriyel selülozla modifiye edilmiş polihidroksialkanoatların (PHB / BS) hidrojellerinin in vitro ve in vivo olarak biyouyumluluğu ve fare kalvariya kritik boyut defektlerindeki osteojenik potansiyeli araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, PHB / BS iskelelerinin 3T3-L1 preadiposit proliferasyonunu destekleyebildiği ve in vivo olarak osteoblast farklılaşması üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu ve sonuç olarak uygulamadan 20 hafta sonra yeni kemik oluşumunu indükleyebildiği belirtilmiştir (Codreanu vd., 2020).

Yapılan bir çalışmada bakteriyel selüloz (BS) ve insan yağından türetilen kök hücrelerin (HASC), kemik dokusu mühendisliğinde iskele ve hücre ekimi olarak kullanılma potansiyeli araştırılmıştır. BS iskele ve HASC iskeleleri ile dolu defektlerin dağılık mineralize alanlar gösterdiği, kontrol grubunda ise daha az mineralizasyonun görüldüğü belirtilmiştir. Araştırmacılar, deney grubu ve kontrol grubu arasında mineralize doku açısından belirgin bir fark gözlemlenmediğini de bildirmişlerdir (Zang vd., 2014).

Hidrojellerin kemik defekt alanında otojen ya da diğer kemik greft materyalleriyle karıştırılarak kemik rejenerasyonu üzerindeki etkinliklerinin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışma literatürde yer almaktadır (Thoma vd., 2017; Jung vd., 2015; Cha vd., 2018). Fakat, bakteriyel selüloz içerikli olmayan başka hidrojellerin kemik greft materyalleriyle kullanılarak kemik rejenerasyonunda etkinliklerinin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışmaya rastlandığı da, bakteriyel selülozun saf halde yada bioaktif ajanlarla emdirilerek elde edildiği formunun greft materyalleriyle karıştırılarak kullanıldığı herhangi bir çalışma literatürde yer almamaktadır.

Koike ve arkadaşları 2019'da tavşan frontal sinüs modellerinde, kemik morfogenetik protein-2 (BMP-2) ile anlık olarak bekletilmeden yüklenmiş, jel kıvamında hazırlanan bakteriyel selülozun kemik rejenerasyonu üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. BS ve BMP-2 tek başlarına ve kombine olarak sinüs modellerinde kullanılmış ve yeni kemik oluşumunu değerlendiren tüm indeks değerlerinde, BS + BMP-2 grubunun diğer gruplardan anlamlı derecede üstün sonuçlar sağladığı bildirilmiştir. BS'nin defekt alanını doldurduğu ve BMP-2'yi sürekli bir şekilde serbest bırakarak optimum kemik oluşumunu teşvik ettiği belirtilmiştir. BS + BMP-2 kombinasyonunun, kemik rejenerasyonunu arttırdığı gösterilerek, maksiller sinüs augmentasyonları için faydalı olabileceği iddia edilmiştir (Koike vd., 2019).

2017 yılında yapılan bir çalışmada, rutinde bariyer membran olarak kullanılan sentetik olarak üretilmiş polyethylene glycol (PEG) hidrojelinin, lokalize kemik rejenerasyonu için bir taşıyıcı veya bağımsız bir malzeme olarak hizmet etme potansiyeline sahip olabileceği düşünülmüş ve bu amaçla PEG, bir arginilglisilpartik asit (RGD) sekansı ile modifiye edilerek bariyer membran olarak değil iskele formunda hazırlanıp, hidroksiapatit / trikalsiyumfosfat (HA / TCP) içeren kemik greft materyali ile karıştırılarak, deneysel olarak oluşturulan peri-implantitis kemik defektlerinde kullanılmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında greftin konularak augmentasyonun yapıldığı gruplarda elde edilen kemik alanının daha fazla olduğu ve yeni oluşan kemik miktarının kollojen bariyer membranın konulduğu grupta en yüksek seviyede olduğu belirtilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, araştırmacılar sentetik bir kemik greft materyali ile karıştırılarak uygulanan PEG hidrojelinin, bu tür peri-implantitis bukkal kemik defektleri için zaman içerisinde yeterli matriks stabilitesini sağlayamayacağı kanısını ortaya çıkardığını belirtmişlerdir (Thoma vd., 2017).

2015 de yapılan deneysel bir çalışmada, polietilen glikol hidrojel (PEG) veya sentetik kemik ikamesi (SBS) ile karıştırılmış BMP-2'nin, 8 haftalık iyileşmeden sonra peri-implant kemik defektlerinde yeni kemik oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmada gruplar, greft yok (kontrol grubu), SBS + hidrojel, SBS + BMP-2 yüklü hidrojel ve BMP-2 yüklü SBS + hidrojel

olarak oluşturulmuştur. Hidrojelin greft partiküllerini 8. haftada stabilize edemediği ve SBS+hidrojel grubunun, tüm hacimsel ölçümlerde kontrol grubundan önemli ölçüde farklılık göstermediği belirtilmiştir. Öte yandan, kapsamlı bir şekilde rejenere olmuş yeni kemiğin, BMP-2 gruplarında geriye kalan SBS partiküllerinin çoğuyla bağlantılı bulunmuş ve BMP-2 içeren gruplarda, BMP-2 içermeyen gruplara göre daha fazla yeni kemik oluşumu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, BMP-2 içeren 2 grup arasında da önemli bir fark bulunmamıştır (Jung vd., 2015).

2018 yılında yapılan aynı araştırma ekibine ait olan aynı çalışmanın 16 haftalık değerlendirme verilerini içeren çalışmalarında ise, yeni kemik miktarı ve toplam artırılmış hacim, hem BMP ile tedavi edilen gruplar hem de SBS+hidrojel grubu arasında önemli ölçüde farklılık göstermediği bildirilmiştir. Yeni kemik alanı ve kemik-implant temas oranı açısından 3 augmentasyon yapılan grup arasında histomorfometrik olarak herhangi bir farklılığın görülmediği çalışmada belirtilmiştir (Cha vd., 2018).

Literatür incelendiğinde borun taşıyıcı bir hidrojel yapısına katılarak elde edilen kompozit yapının kemik rejenerasyonu ve osteoblastik hücre aktiviteleri üzerinde etkilerinin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışmanın var olduğu görülmüştür (Shikhaliyeva, 2015; Tunçay, 2013). **Fakat borun bakteriyel selüloza emdirilerek kullanıldığı ve emdirilen selüloz formunun greft materyallerine karıştırılarak kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.**

Borun, MC3T3-E1 (fare osteoblastik hücre hattının) farklılaşması üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir hücre kültürü çalışmasında, bor katkılı nanopartikül yüklü kitosan doku iskeleleri kullanılmış ve bu iskeleler içine kapsüllenmiş olan borun, MC3T3-E1 preosteoblastik hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşması üzerinde olumlu etkiler sağladığı belirtilmiştir. Araştırmacılar, bu sayede kitosan doku iskelelerine kapsüllenmiş borun osteoindüktif bir ajan olarak kullanılabileceğini iddia etmişlerdir (Shikhaliyeva, 2015).

Tunçay, mikrodalga destekli biyomimetik yöntemle üretilen bor katkılı hidroksiapatit (B-HAp) kaplı kitosan doku iskelelerinde, osteoblastik hücrelerin kemik dokusu oluşturma potansiyellerini incelemişlerdir. Sonuç olarak B-HAp/kitosan iskelelerin hücre yapışmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını, kitosan ve HAp/kitosan içerikli iskelelerden daha fazla oranda desteklediğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar bor katkısının fare osteoblastik hücrelerinin (MC3T3-E1) çoğalma ve kemik hücrelerine farklılaşma özelliklerini arttırdığını ve bor katkılı kitosan doku iskelesinin kemik doku mühendisliği uygulamaları için alternatif bir yapı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Tunçay, 2013).

2019 yılında yayınlanan bir çalışmada araştırmacılar, selüloz asetat ve jelatinden oluşan çift katmanlı hidrojel membrana, %7 bor materyali katılarak ya da bor katılmadan modifiye edilerek oluşturulan yeni bir biyoaktif cam nanopartikülleri içeren bir membran üretmiş ve bu membranın özelliklerini in-vitro olarak incelemişlerdir. SEM analizinde, biyoaktif cam içeren fibrillerde pürüzlü bir yüzeyden oluşan asimetrik membran yapısı görülmüş, %7'lik bor ilavesinin yüzey ıslanabilirliğini ve membranların biyolojik olarak parçalanabilirliğini artırdığı, gerilme direnci ve young modülü değerinde önemli bir düşüş oluşturduğu bildirilmiştir. Ayrıca %7'lik bor ilavesinin yapıldığı grupta vücut sıvısı ile 1 haftalık inkübasyon sonrasında kalsiyum fosfor tabakasında önemli bir artış ve daha yüksek hücre içi kalsiyum birikimi görüldüğü ve bu membranın insan pulpa hücreleri üzerinde daha iyi bir bağlanma, yayılma ve proliferasyon sağlayabildiği bildirilmiştir. Otörler bu amaçla GBR uygulamalarında bor içeren bu membran formunun başarıyla kullanılabileceğini iddia etmişlerdir (Moonesi vd., 2019).

Hidrojellerin kemik rejenerasyonu üzerinde etkinliklerinin değerlendirildiği çalışmalar incelendiğinde, hidrojellere yeni ve pozitif özellikler kazandırılabilmesi için hidrojellerde bazı yapısal değişikliklerin oluşturulduğu ve bioaktif ajanların üretim aşamalarında hidrojellerin yapılarına katılarak çalışmalarda kullanıldığı görülmüştür. Ayrıca bu çalışmalarda, genellikle yük taşımayan kritik boyutlu kemik defektlerinde hidrojellerin etkinlikleri incelenmiş ve defekt alanını dolduracak şekilde hidrojellerin jel formunda kullanıldığı görülmüştür. Buna karşın, bakteriyel selüloz içerikli olmayan birkaç hidrojin kemik defekt alanında çeşitli kemik greft materyalleriyle karıştırılarak kemik rejenerasyonu üzerindeki etkinliklerinin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışma yer aldığı da görülmektedir.

Literatür incelendiğinde, kemik defekt alanını dolduracak şekilde sert doku rejenerasyonu üzerinde bakteriyel selülozun değerlendirildiği çalışmalarda, bakteriyel selülozun dolgu materyali olarak defekt alanlarına jel olarak uygulandığı ve büyüme faktörleri ve kök hücreler için taşıyıcı ve iskele olarak kullanıldığı görülmüştür. Bioaktif ajanlar genellikle üretim aşamalarında bakteriyel selüloza ilave edilmekte ve bu şekilde uzun süreli ve yavaş salınımla kemik rejenerasyonunun artırılabilceği belirtilmektedir.

Bu proje önerisinde, deneysel olarak oluşturulan maksiller sinüs augmentasyonlarında borik asitin direkt olarak ve bakteriyel selüloza emdirilerek ksenogreftle birarada kullanımının kemik rejenerasyonu üzerindeki etkinliklerinin karşılaştırmalı olarak histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu proje önerisi ile, greft materyallerine eklenen dağınık formda hazırlanan ve borik asitin emdirildiği bakteriyel selülozun, lokalize kemik

rejenerasyonu için bir taşıyıcı veya bağımsız bir matriks olarak hizmet etme potansiyeline sahip olabileceği düşünülmüştür.

Yapılması planlanan bu proje önerisi ile;

1. Ksenogreftte karıştırılan borik asidin maksiller sinüs augmentasyonda subantral boşlukta kullanılmasının, tek başına ksenogreft kullanımına göre kemik rejenerasyonu üzerinde olumlu etki sağlayıp sağlamayacağının araştırılması,
2. Maksiller sinüs augmentasyonunda dağıntık formda hazırlanan bakteriyel selülozun, klinik olarak sıklıkla kullanılan hayvan kaynaklı ksenogreft partikülleri arasına dağıntık bir şekilde yer almasıyla, karıştırıldığı ksenogreftin greft partikülleri arasında kemik köprülerinin oluşmasını artırıp artırmayacağı ve osteokondüktif özelliğini geliştirerek damarlanmada artış ve greft stabilizasyonunu sağlayarak kemik rejenerasyonu üzerinde olumlu etki sağlayıp sağlamayacağının ve yabancı cisim reaksiyonu oluşturup oluşturmayacağının araştırılması,
3. Biyoaktif ajanlarının yavaş ve uzun süreli salınımını sağlayacak etkin bir taşıyıcı olabileceği düşünülen ve borik asidin emdirilmesiyle kullanılacak olan bakteriyel selülozun; ksenogreftte karıştırılarak kullanılmasının, kemik rejenerasyonu üzerinde olumlu etki sağlayıp sağlamayacağının araştırılması amaçlanmaktadır.

Bakteriyel selülozun özellikle ksenogreftte karıştırılarak uygulanmasında etkin bir kemik rejenerasyonu sağlandığının ve özellikle bu etkinin bioaktif ajanların bakteriyel selüloza emdirilmesiyle elde edildiğinin çalışma sonuçlarına göre belirlenmesi durumunda, belli hacimlerde ve geliştirilmiş emilim yeteneğine sahip küresel formlarda bakteriyel selüloz üretiminin sağlanarak, üretilen greft partiküllerinin yanında ayrı bir numune olarak ticari olarak üretilmesi mümkün hale getirilebilir. Klinisyenler ister ticari olarak üretilen bioaktif ürünleri ister otolog olarak elde edilen ürünleri bakteriyel selüloza emdirerek tek başına ya da grefte kombine olarak uygulayıp kemik rejenerasyonunu artırabilecek, böylece implant cerrahilerindeki osteoentegrasyon sürelerinin kısaltılarak, erken dönemde kalıcı protetik restorasyonların uygulanması sağlanmış olacaktır.

Ayrıca, bakteriyel selülozun taşıyıcı olarak görev aldığı yeni bioaktif ajanların etkinliklerinin denendiği ve bakteriyel selülozun bioaktif ajanlarla emdirilme süresinin kısaltılarak daha uzun süreli salınım sağlayacak yapısal özellik kazandırılmış bakteriyel selülozun üretilmesini sağlayabilecek farklı uygulamaların yer alacağı yeni çalışmalara da yön vereceği düşünülmektedir.

Bu proje önerisinin özgün değerini:

1. Maksiller sinüs augmentasyonunda dağınık formda hazırlanan bakteriyel selülozun, klinik olarak sıklıkla kullanılan hayvan kaynaklı ksenogreft partikülleri arasına dağınık bir şekilde yer almasıyla, karıştırıldığı ksenogreftin greft partikülleri arasında kemik köprülerinin oluşmasını artırıp artırmayacağı ve osteokondüktif özelliğini geliştirerek damarlanmada artış ve greft stabilizasyonunu sağlayarak kemik rejenerasyonu üzerinde olumlu etki sağlayıp sağlamayacağının araştırılması,
2. Ksenogreftte karıştırılan borik asitin maxiller sinüs augmentasyonda subantral boşlukta kullanılmasının, tek başına ksenogreft kullanımına göre kemik rejenerasyonu üzerinde olumlu etki sağlayıp sağlamayacağının araştırılması,
3. Biyoaktif ajanlarının yavaş ve uzun süreli salınımını sağlayacak etkin bir taşıyıcı olabileceği düşünülen bakteriyel selüloza borik asitin emdirilmesiyle elde edilen bakteriyel selülozun; ksenogreftte karıştırılarak kullanılmasının, kemik rejenerasyonu üzerinde olumlu etki sağlayıp sağlamayacağının araştırılması,
4. Bakteriyel selüloza düşük dozlarda bioaktif ajanların emdirilmesiyle, uzun ve kontrollü yavaş salınım sağlanarak, istenilen rejeneratif etkinliğin sağlanı sağlanamayacağının araştırılması,
5. Direkt olarak ksenogreftte karıştırılan ya da bakteriyel selüloza emdirilen borik asitin kemik rejenerasyonu üzerinde yüksek oranda etkinlik sağlayacağının ve bu borik asidin uygulanma şekilleri arasında önemli bir farklılığın olup olmadığının araştırılması,
6. Kemik rejenerasyonu üzerinde ticari olarak üretilmiş ve greftle karıştırılarak diğer hidrojellerin kullanımını içeren sınırlı sayıda çalışma var olmasına rağmen, bakteriyel selülozun bu amaçla kullanılan ticari formu bulunmamaktadır. Bu projede çalışma sonuçlarında eğer, selülozun greftte karıştırılarak kullanımına ait pozitif iyileşme skorlarının sağlandığı görülürse, selülozun dağınık halde hazırlanan bu küresel formları geliştirilerek üretilebilme potansiyeli taşıyan ilk çalışma olması,
7. Bakteriyel selülozun mekanik özellikleri, rezorbsiyon süreleri, salınım süreleri ve daha etkin ve uzun süreli salınım için emici özellikleri geliştirilerek, ticari olarak daha etkin bakteriyel selüloz hidrojelleri üretilebilmesine yol açacak yeni çalışmalara yön verebilecek potansiyelde olması,

bu proje önerisinin özgün değerlerini oluşturmaktadır.

MATERYAL ve METOT

Bu pilot çalışmada 8-10 aylık ve ağırlıkları 2800-3200 gram arasında değişen ortalama 3 kg ağırlıklı 7 adet dişi Yeni Zelanda tipi albino tavşan kullanılmıştır. Deneklerin tamamı Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden temin edilmiştir. Deney hayvanlarının cerrahi uygulamaları, takip periyodu süresince bakımları ve sakrifikasyon işlemleri Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışma boyunca denekler, veteriner hekim kontrolünde uygun kafeslerde, her bir kafeste bir denek olacak şekilde sıralanmıştır. Deneklerin hepsi standart laboratuvar diyeti ile beslenmiştir. Maksiller sinüs augmentasyonu işlemleri genel anestezi altında ve aseptik koşullar sağlanarak, deney hayvanları ile çalışma sertifikası olan aynı cerrah tarafından ve standart cerrahi teknikler uygulanarak tüm deneklerin her iki maksiller sinüsü için yapılmıştır. İnceleme ve takip süreçlerinde farklı gruplardaki deneklerin karışmaması için tüm deneklerin sağ ve sol kulaklarına ait oldukları grupları belirten küpeler takılmıştır. Tüm denekler histolojik ve histomorfometrik incelemelerin yapılabilmesi için 8. haftada sakrifiye edilmiştir.

Çalışmada greft kullanılan gruplarda 0,9-1,9 mm partikül boyutuna sahip 0,5 cc kollajen içerikli sığır hidroksiapatit içeren hayvan kaynaklı demineralize ksenogreft kemik grefti (KS) sinüs augmentasyonlarında kullanılmıştır (Surgiwear G Graft, India). Çalışmada maksiller sinüs augmentasyonu için oluşturulan lateral kemik pencere ise 15×25×1mm boyutlarındaki rezorbe olabilen kollajen membran ile örtülmüştür (PuraTAPE Collagen Dental Dressing, USA). Aynı zamanda rezorbe olabilen bu membran, cerrahi esnasında maksiller sinüs membranının perforasyonu olduğu deneklerde (1 deneğin 2 maksiller sinüsünde), perforasyon sahasının kapatılarak greftleme işlemlerinin tamamlanması için de kullanılmıştır.

Subantral boşluğu dolduracak greftleme materyallerine göre 7 deneğin 14 maksiller sinüsü 5 farklı gruba ayrılarak değerlendirildi. Bunlar;

Grup 1 (Ksenogreft); 3 maksiller sinüs augmentasyonu için oluşturulan boşluk sadece 0,5 cc ksenogreft ile doldurulmuştur. 5.,6, ve 7. deneklerin **sağ** maksiller sinüsleri bu gruba dahil edildi.

Grup 2 (Ksenogreft + Borik asit); 3 maksiller sinüs augmentasyonunda, toz halindeki 3 mg/kg borik asit (denekler ortalama 3 kg olduğu için 9 mg kullanıldı) 1 cc salin solüsyonu

(%0.9 NaCl izotonik) ile sulandırılarak elde edilen borik asit çözeltisi, 0,5 cc ksenogreftle karıştırılarak kullanıldı. 5.,6, ve 7. deneklerin **sol** maksiller sinüsleri bu gruba dahil edildi.

Grup 3 (Ksenogreft + Bakteriyel selüloz); 3 maksiller sinüs augmentasyonu için oluşturulan boşluk 0,5 cc bakteriyel selüloz ve 0,5 cc Ksenogreftten oluşan bir karışım ile dolduruldu. 1.,2, ve 3. deneklerin **sağ** maksiller sinüsleri bu gruba dahil edildi.

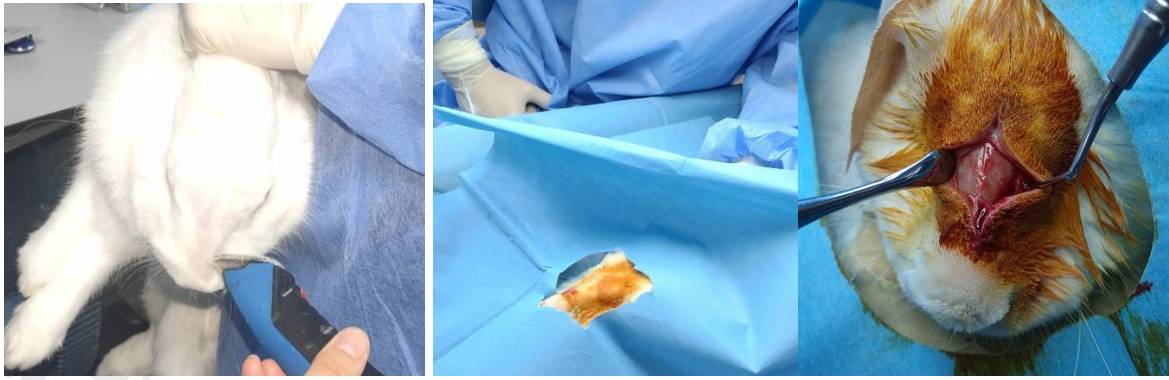
Grup 4 (Ksenogreft + Borik asit emdirilmiş Bakteriyel selüloz); 3 mg/kg borik asit (denekler ortalama 3 kg olduğu için 9 mg kullanıldı) 1 cc salin solüsyonu (%0.9 NaCl izotonik) ile sulandırılarak 0,5 cc bakteriyel selüloza uygun koşullarda 24 saat çalkalama altında emdirildi ve elde edilen 0,5 cc bu borik asit emdirilmiş bakteriyel selüloz ve 0,5 cc Ksenogreft karışımı ile karıştırılarak, 3 maksiller sinüs augmentasyonu için kullanıldı.1.,2, ve 3. deneklerin **sol** maksiller sinüsleri bu gruba dahil edildi.

Grup 5 (Bakteriyel selüloz); Aynı deneğin her iki tarafı sadece 0,5 cc bakteriyel selüloz ile doldurularak çift taraflı maksiller sinüs augmentasyonu yapıldı. 4. denek bu amaçla kullanıldı.

Cerrahi Yöntem: Deney gruplarındaki hayvanların karıştırılmaması için operasyona başlamadan önce tüm deneklerin kulaklarına grup numaralarını belirten küpeler takılmış ve kafesler de grup numarasını belirten etiketlerle etiketlenmiştir. Genel anestezi için deney hayvanlarının hepsine ilk önce Ksilazin (Rompun, Bayer, Almanya) 5 mg/kg intramüsküler (IM) enjeksiyonu yapılarak premedikasyon sağlanmıştır. Daha sonra 50 mg/kg dozunda Ketamin Hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) IM olarak yapılmıştır. Anestezi sonrası tavşanların burun üst tarafında insizyonun yapılacağı bölge tıraş edilmiştir. Operasyon sahası povidon iyot (Batticon, Adeka, Türkiye) ile dezenfekte edildikten sonra operasyon sahası açıkta kalacak şekilde tavşanın üzeri steril örtüler ile kapatılmıştır. Yapılan operasyonların tamamında sterilizasyon, asepsi ve antisepsi kurallarına azami ölçüde dikkat edilmiştir.

Çalışılan bölgede hemostazı sağlamak amacıyla insizyon hattı çevresine 1 cc 0.006 mg/ml epinefrin içeren %4'lük artikain (Ultracain DS, Aventis, Türkiye) enjeksiyonu yapılmıştır. Operasyonda tavşanın burun üst kısmında kemik yapıda yaklaşık nazo-frontal sutura hizasına denk gelen yerden aşağı doğru, orta hat üzerinde 3- 4 cm uzunluğunda cilt insizyonu atıp ve

diseksiyonla cilt ve cilt altı dokular geçildikten sonra periost, orta hat boyunca yaklaşık 3 cm uzunluğunda kesildikten sonra diseksiyon tamamlanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1: Deneklerde cerrahi sahanın traşlanması, deneklerin hazırlanması ve aseptik koşulların sağlanmasının ardından insizyonu takiben diseksiyonun tamamlanması

Orta hattın 5 mm lateralinde ve nazo-frontal suturanın yaklaşık 20 mm aşağısında olacak şekilde mikromotor ve bol serum fizyolojik ile 5 mm çapında (trephan frez yardımıyla) maksiller sinüsün üst duvarı üzerinde kemik penceresi açılmıştır (Şekil 2). Sinüs membranının perfora edilmemesine dikkat edilmiştir.



Şekil 2: Deneklerde maksiller sinüsün üst duvarı üzerinde kemik penceresi açılması ve membranın havalandığının gözlemlenmesi

Kemik kaldırılıp sinüs membranının bütünlüğünün bozulmadığından emin olunduktan sonra sinüs membran elevasyon küretleri kullanılarak sinüs mukozası diseke edilmiştir (Şekil 2). Bu işlemler 7 tavşanın hepsine bilateral olarak yapılmıştır. Membran perforasyonu olan 1 denekteki iki maksiller sinüse ait perforasyon alanı kollagen membran kullanılarak kapatılmıştır.



Şekil 3: Ksenograft+Borik asit kullanılarak yapılan maksiller sinüs augmentasyonu



Şekil 4: Sadece bakteriyel selüloz kullanılarak yapılan maksiller sinüs augmentasyonu



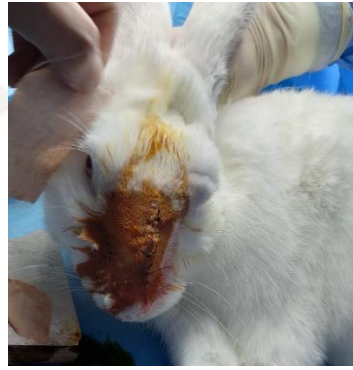
Şekil 5: Bakteriyel selüloz ile ksenograftın karıştırılarak kullanıldığı maksiller sinüs augmentasyonu

Daha sonra gruplarda dizayn edilen dolgu materyalleri, maksiller sinüslere belirtilen şekillerde yerleştirilmiştir(Şekil 3, 4 ve 5) ve sinüs augmentasyonu için oluşturulan kemik pencerenin üzeri, rezorbe olabilen kollajen membran ile örtülmüştür (Şekil 6).



Şekil 6: Açılan giriş kavitesinin kollajen membran ile kapatılması

Periost, kollajen membranla kapatılmış kemik giriş kavitesinin üzerini örtecek şekilde 4/0 Vicryl ile suture edilmiştir. Cildin dikilmesi için 4/0 ipek sutur veya 4/0 Vicryl kullanılmıştır (Şekil 7). Kesi hatlarının üzerinin povidon iyot ile pansumanı yapıldıktan sonra, uyanan denekler kafeslerine götürülmüştür.

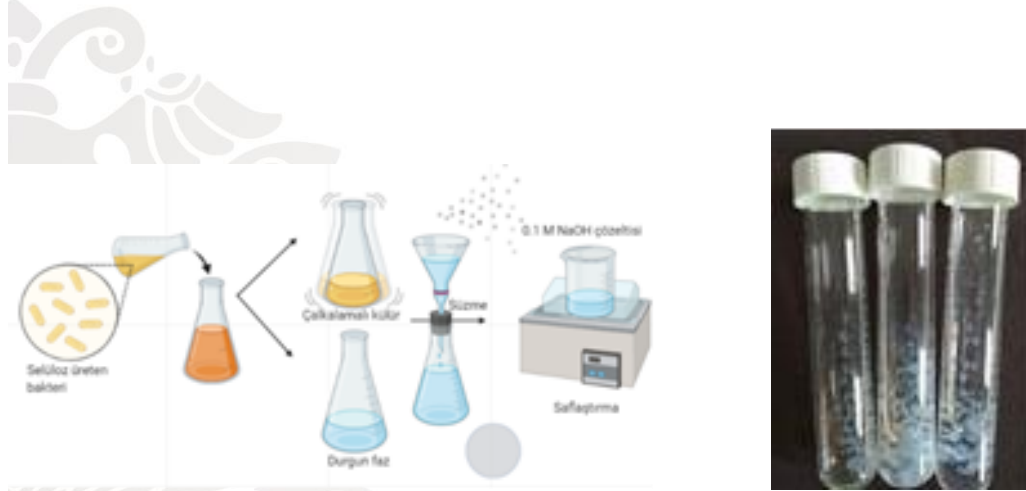


Şekil 7: Periostun suture edilmesi ve cilt kesisinin kapatılması

Postoperatif dönemde operasyondan sonra beş gün boyunca bütün deneklere Ceftriaxon 25 mg/kg (Rocephin, Roche, Basel, İsviçre) intramuskuler ve Carprofen 4 mg/kg (Rimadyl, Pfizer, New York, Illinois, ABD) subkutan olarak uygulanmıştır. Deney hayvanları kendi kafesleri içerisinde rutin beslenmelerine devam etmişlerdir.

Tüm denekler postoperatif 8. haftanın sonunda yüksek doz IV ketamin enjeksiyonuyla sakrifiye edilmişlerdir. Deneklerin burun üst kısımlarındaki cilt ve cilt altı dokular uzaklaştırıldıktan sonra trafen frezle augmentasyon yapılan sinüs bölgesinden elde edilen bu dolgu maddeleri histolojik incelemeler yapmak için kullanılmıştır.

Bakteriyel Selüloz Üretimi: Çalışmada bakteriyel selüloz üretimi için Komagataeibacter europaeus strain MOZ (GenBank: MW131623.1) kullanılmıştır. Bakteri, HS (Hestrin & Schramm) agar (20 g/L mannitol, 5 g/L yeast extract, 5 g/L polypeptone, 2.7 g/L Na₂HPO₄, 15 g/L agar ve 1.15 g/L sitrik asit, pH 6.0) ortamında geliştirilmiştir. Agarda geliştirilen kültürden, içerisinde 50 mL HS (Hestrin & Schramm) broth besiyeri içeren 250 mL'lik erlenlere inokülasyon yapılmıştır. İnokulum için bakteriler sitrik asit içermeyen HS broth ortamında geliştirilmiştir. Hazırlanan sıvı kültüre %6 oranında fermentasyon besiyerine inokülasyon için kullanılmıştır. Kültür çalkalamalı etüvde 30 C°'de 10 gün inkübe edilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8: Bakteriyel selülozün üretim prosesi ve yapılan ön çalışmada çalkalamalı kültürde üretilen ve NaOH ile temizlenmiş bakteriyel selüloz örnekleri

Bakteriyel Selüloz Safılaştırılması: Bakteriyel selülozu saflaştırmak için inkübasyon sonunda fermentasyon sıvısı süzülerek uzaklaştırılıp ve saf su ile yıkanmıştır. Elde edilen selülozlar 0.1M NaOH çözeltisine konularak 90 °C'de 30 dakika boyunca bakteriyel hücreleri ve besiyeri kalıntılarını uzaklaştırmak için su banyosunda bekletilmiştir. Süre sonunda pH 7'ye gelinceye kadar distile su ile yıkanmıştır.

Borik asit / Bakteriyel Selüloz Kompozit Sentezi: Borik asit çözeltisi emdirilerek bakteriyel selüloz hidrojelü oluşturulmuştur. Bakteriyel selüloza ilave edilecek borik asit steril bir şekilde steril selüloza eklenmiştir. Borik asit emdirilmiş bakteriyel selüloz hidrojelleri, 23 °C'de 24 saat boyunca bir orbital çalkalayıcıda çalkalama altında 1 ml borik asit içinde inkübe edilerek hazırlanmıştır.

Bakteriyel Selüloz Kompozit Sentezinin Kimyasal Analizleri: Bakteriyel selüloz ve Borik asit emdirilmiş bakteriyel selüloz örneklerinin yüzeylerinin SEM görüntüleri, 10 kV ve 10 ~ 12 mm mesafede çalışan SEM cihazında (JSM-6390, JEOL, Japonya) görüntülenmiştir. Numuneler çelik bir plaka üzerine bırakılıp ve 60 saniye altın ile kaplanmıştır. XRD Analizi, (Model EMPYREAN, Philips PANalytical, Netherlands) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Numuneler, 10° - 50° 2θ tarama aralığında $5^{\circ}/dk$ tarama hızında incelenmiştir. Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) spektrumları, KBr peletleri kullanılarak PerkinElmer Spectrum 2000 Fourier dönüşüm kızılötesi spektrofotometresi (Waltham, MA, ABD) ile elde edilerek bakteriyel selüloz ve borik asit emdirilmiş bakteriyel selüloz örneklerinin ölçümleri yapılmıştır. FTIR, 4000-400 cm^{-1} aralığında $4 cm^{-1}$ çözünürlükte çalışılmıştır.

Histolojik ve histomorfometrik inceleme: Çeşitli materyaller ile augmentasyon yapılan sinüs bölgelerinden trephan frez yardımıyla numuneler alınmıştır. Biyopsi örnekleri, %10'luk tamponlanmış formaldehit içinde sabitlenip, en az 24 saatlik fiksasyon süresinin ardından %10'luk formik asit içinde dekalsifiye edilip, ardından dehidratasyon, şeffaflandırma, sertleştirme basamaklarından oluşan doku takip işlemine tabi tutulmuştur. Doku takip işleminden sonra sertleşen dokular parafin ile gömülüp parafin blok haline getirilmiştir. Elde edilen parafin bloklardan 4 mikronluk seri kesitler alınıp hematoksilin-eosin (H&E) ve Masson Trichrome (MTC) ile boyanmıştır. En iyi bölümler olarak kabul edilen beş bölüm, artırılmış alanın merkezinden seçilecek ve ışık mikroskobu altında $\times 100$ büyütmede bağımsız kör gözlemci tarafından değerlendirilmek üzere hazırlanmıştır.

İstatistiksel Analiz: Değerlendirme, her bir grubun yeni kemik oluşum yüzdelерinin denekler arasındaki ortalama değerlerini ve inflamasyon, mineralizasyon ve fibrozis oluşumlarına ait genel yorumlamaları içermektedir. Ayrıca gruplardaki denek sayısı istatistiksel olarak anlamlı sonuçların yorumlanmasında yeterli sayıda olmadığı için, gruplar arası istatistiksel değerlendirme yapılmamıştır.

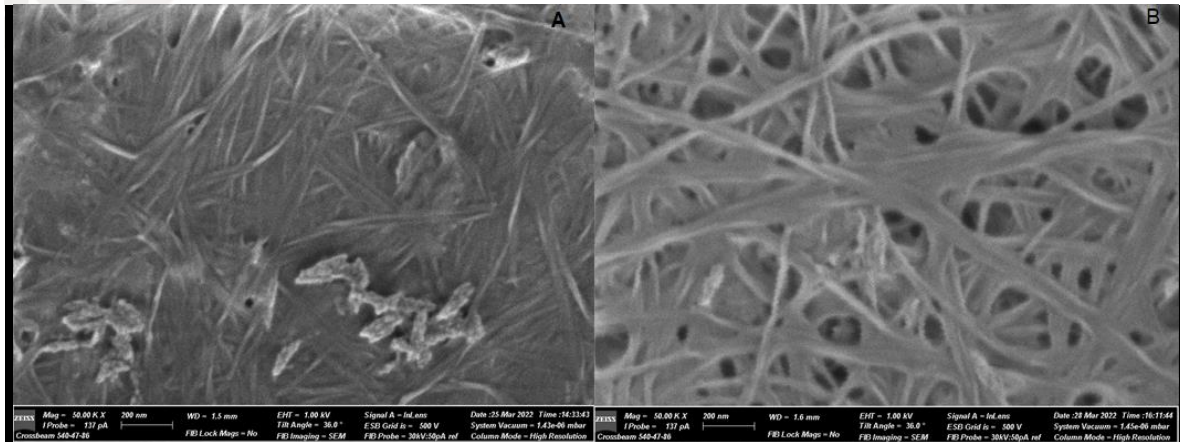
BULGULAR

Çalışmada yer alan gruplara ait histopatolojik kesitler ilgili boyamalar yapılarak elde edilmiş ve Bakteriyel selüloz ve Borik asit emdirilmiş Bakteriyel Selülozun yüzey özelliklerinin incelendiği SEM, XRD ve FTIR analizleri yapılmıştır. İncelemelere ait hazırlanan görsellerden bazıları aşağıda sunulmuştur.

Bakteriyel selüloz ve Borik asit emdirilmiş Bakteriyel Selülozun yüzey özelliklerinin incelendiği analizler:

SEM

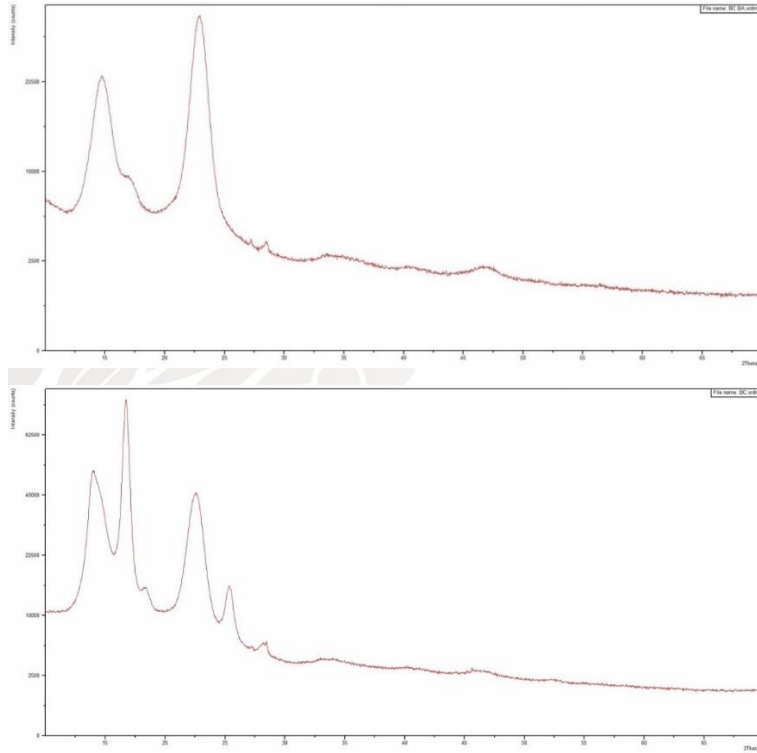
Çalışmada elde edilen mikrobiyal selülozun yüzey morfolojisinin incelenmesi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile analiz edildi. Mikrobiyal selülozun yapısının, rastgele ve düzensiz bir şekilde bir araya gelen, nanofiberlerden oluşan üç boyutlu bir ağ yapısı gösterdiği belirlendi. Şekil 9, kurutulmuş BS ve BS-Borik asit membranlarının tipik SEM görüntülerini göstermektedir. Kurutulmuş BS iyi organize edilmiş düzensiz birbirine bağlı gözenekler sunmaktadır. Borik asit içeren bakteriyel selülozun **daha porlu** bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. **Bu sonuç, histolojik analizlerde borik asit emdirilmiş selülozun, saf selülozdan farklı olarak, kemikleşme alanlarının sadece selülozun dış yüzeyinde görülmediğini ve selülozun iç yüzeylerinde de mineralize kemikleşme alanlarına ait bulguların var olduğunu doğrulamaktadır.**



Şekil 9: Bakteriyel selüloz (A) ve borik asit içeren bakteriyel selüloz (B) SEM görüntüleri

XRD

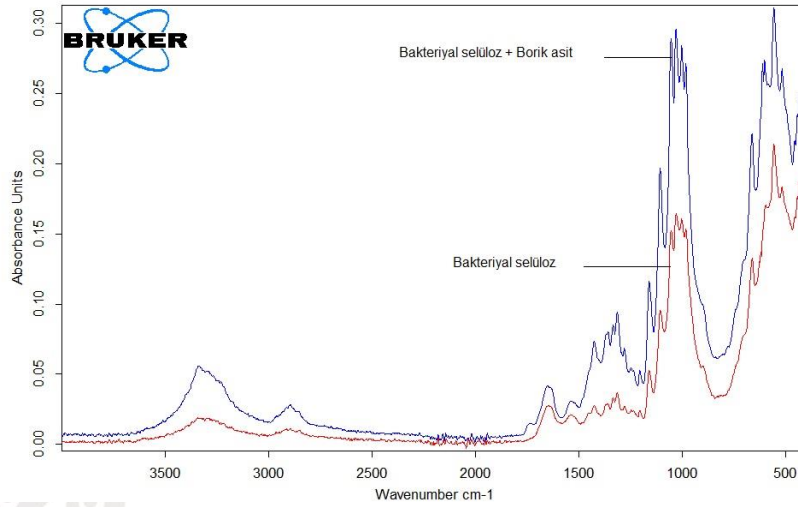
X-Işını Kırınım yöntemi (XRD), her bir kristalin fazın kendine özgü atomik dizilimlerine bağlı olarak, X-ışınlarını karakteristik bir düzen içerisinde kırması esasına dayanır. Her bir kristalin faz için bu kırınım profilleri bir nevi parmak izi gibi o kristali tanımlar. Kristalizasyondan elde edilen ürünün XRD görüntüsü Şekil 10'da gösterilmektedir. Kristalografik veriler, 14.5 ve 28°'deki pik değerlerin karakteristik borik asit piklerini temsil ettiğini göstermiştir (Bingöl ve Çopur 2019). Şekil 10, sırasıyla 14.6°, 16.9° ve 22.8°'de belirgin piklere sahip saf bakteriyel selüloz örneğini göstermektedir (Wasim vd., 2020).



Şekil 10: Bakteriyel selüloz (üst) ve bakteriyel selüloz içeren borik asitin (alt) XRD görüntüleri

FTIR

Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) taraması ile çalışmada elde edilen mikrobiyal selülozun yapısındaki elementler ve bağ yapısı incelenmiştir. Şekil 11, kurutulmuş bakteriyel selüloz ve borik asit emdirilmiş selüloz membranlarının FTIR analizlerini göstermektedir. FT-IR spektrumlarındaki piklerin konumu ve yoğunluğu çalışmamızın sonunda, farklı çalışmalar ile elde edilen ve polimerik bir form gösteren bakteriyel selüloz örnekleri ile özdeş yapıya sahip olan bakteriyel selülozun elde edildiğini doğrulamaktadır (Ghozali vd., 2021).



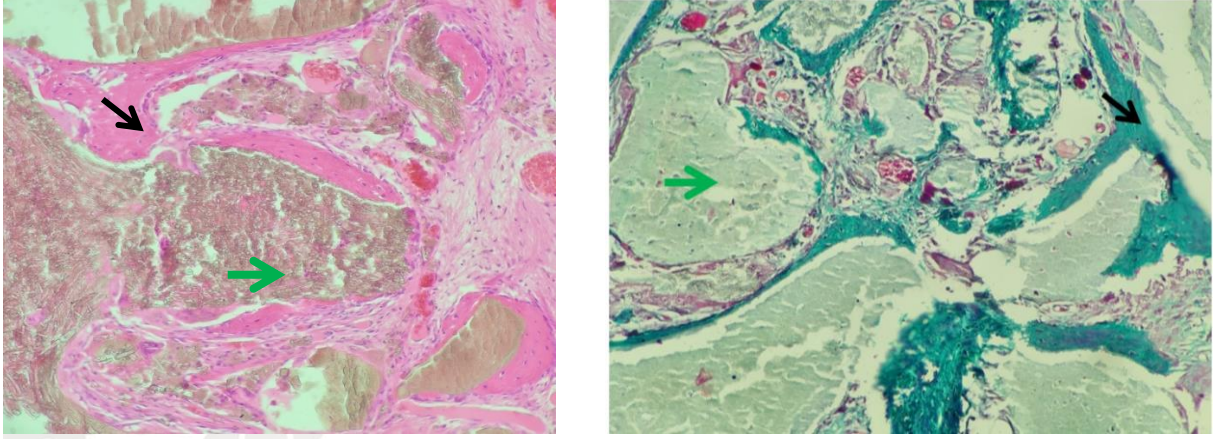
Şekil 11. Bakteriyel selüloz (kırmızı) ve bakteriyel selüloz içeren borik asitin (mavi) FTIR görüntüsü

1030 cm^{-1} 'teki absorpsiyon zirvesi B-O-C'nin bağlanmasına ve 1450 cm^{-1} civarındaki absorpsiyon bandı, B-O germe titreşimine atfedilir (Mondal ve Banthia 2005). Bakteriyel selülozun karakteristik spektrumu, 3276 ila 3339 cm^{-1} dalga sayısında geniş bir tepe noktası göstermiş, zincir içi ve zincirler arası hidrojen bağlı -OH gruplarının gerilmesiyle ilgili hidroksil gruplarının (-OH) varlığına atfedilirken, 2925 ila 2930 cm^{-1} , hidroksimetil gruplarının CH_2 'sinin C-H germe titreşimidir. 1644 cm^{-1} ve 1421 cm^{-1} dalga numaralarındaki pik, karboksilik ve karboksilat gruplarını gösterir. Dalga sayısı 1036 cm^{-1} 'deki tepe noktası şeker halkasının eter C-O-C ve C-O-H germe titreşimi ile ilişkilendirilebilirken, 1330 cm^{-1} dalga sayısındaki tepe O-H düzlem içi bükülmeye ve 1257 cm^{-1} , yapı içinde kristalli bölgenin varlığını gösteren C-O gerilmesine atfedilir (Ghozali vd., 2021).

Histolojik ve Histomorfometrik Değerlendirmeler:

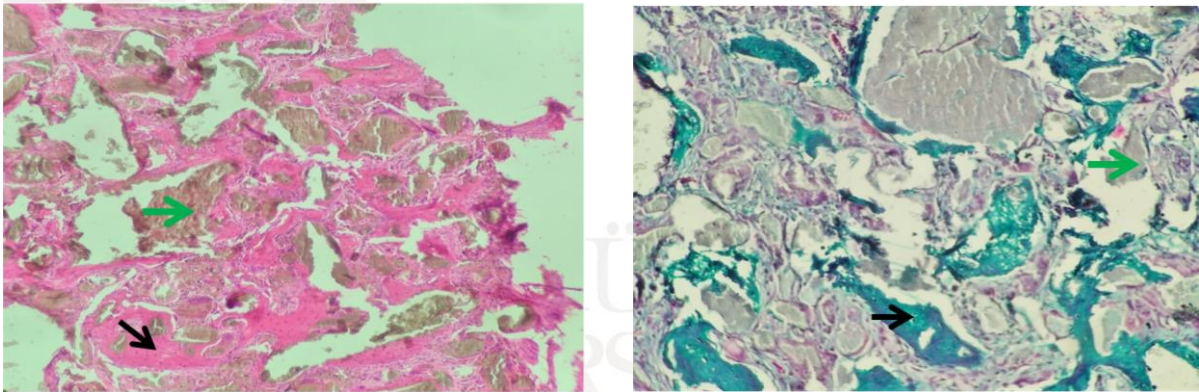
İncelemeler hematoksilin-eosin (H&E) ve Masson Trichrome (MTC) ile boyanarak yapılmıştır. Siyah ok ile gösterilen alanlar yeni kemik oluşum alanlarını (woven kemik), yeşil ok ile gösterilen alanlar ksenograft partiküllerini, mavi ok ile gösterilen alanlar bakteriyel selüloz partiküllerini göstermektedir.

Bütün gruplarda yeni kemik oluşum alanlarındaki kemiğin ortalama %95'i woven kemik ve %5'i lamellar kemikten oluştuğu görülmüştür. Lamellar kemik,  kartılan materyallerin sadece en dış kısmında mevcut olduğu görülmüştür.



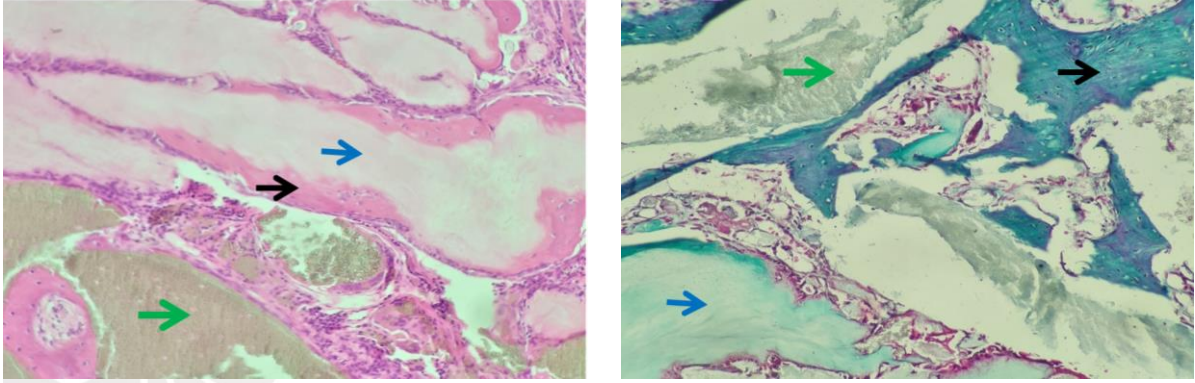
Resim 1: Grup 1, Sadece Ksenograft uygulanan grup, H&E x 200 ve MTC x 200 boyama görüntüleri

Sadece Ksenograft uygulanan grupta (Grup 1) yeni kemik oluşum alanları görülmekle birlikte, önemli oranlarda inflamasyon ve fibrozis gözlemlenmiştir. Bu  nflamasyon ve fibrozis oranlarının, sadece bakteriyel selülozun kullanıldığı gruba kıyasla daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.



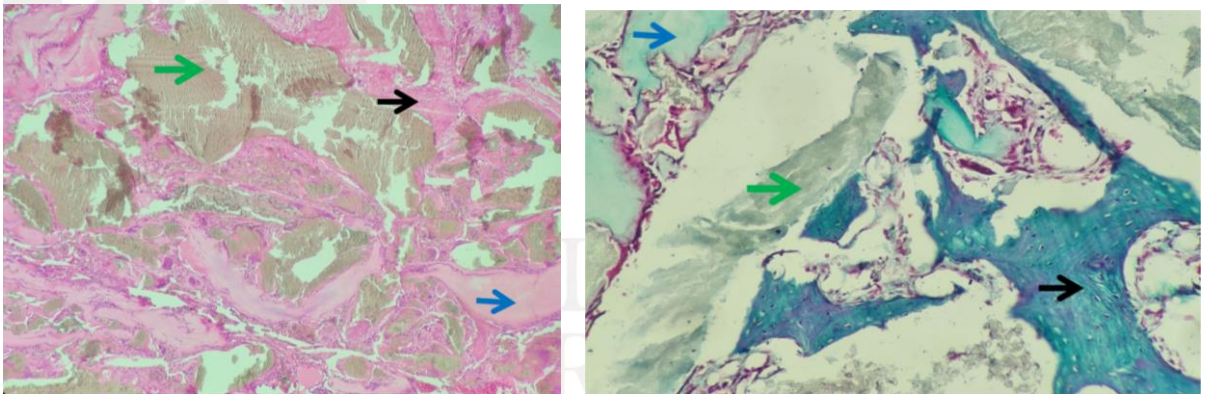
Resim 2: Grup 2, Ksenograft + Borik Asit uygulanan grup, H&E x 200 ve MTC x 200 boyama görüntüleri

Sadece greft uygulanan gruba (Grup 1) nazaran, Ksenogreft + Borik asit uygulanan grupta (Grup 2) kemik oluşumunun daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. (İnflamasyon ve fibrozis ise borik asit uygulananlarda bir miktar daha fazla gözlemlenmiştir.)



Resim 3: Grup 3, Graft + Bakteriyel Selüloz uygulanan grup, H&E x 200 ve MTC x 200 boyama görüntüleri

Sadece greft konulan gruba (Grup 1) nazaran, Ksenogreft + Bakteriyel selüloz uygulandığı grupta (Grup 3), hem ksenogreft hem de bakteriyel selüloz **alanlarının çevresinde daha iyi bir kemikleşme** olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle selüloz alanlarının çevresinde mor renkli mineralize kemik alanlarının bu grupta (Grup 3) yoğun olarak görüldüğü ve buna ilaveten fibrozisin ise daha az oranda görüldüğü gözlemlenmiştir.

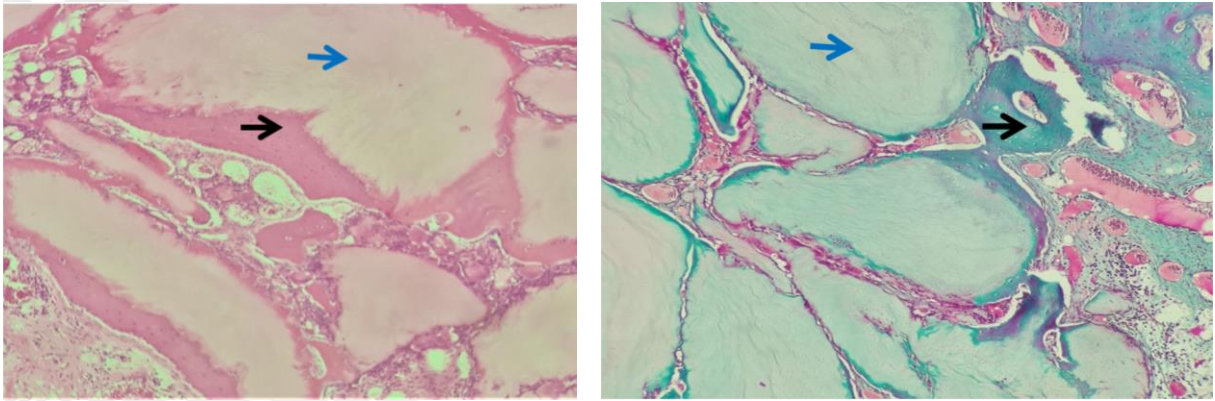


Resim 4: Grup 4, Graft + Borik Asit emdirilmiş Bakteriyel Selüloz uygulanan grup, H&E x 200 ve MTC x 200 boyama görüntüleri

Ksenogreft + Bakteriyel selüloz içeren gruba (Grup 3) nazaran, Ksenogreft + Borik Asit emdirilmiş Bakteriyel selüloz uygulanan grupta (Grup 4) **yeni kemik oluşumunun daha fazla**

olduğu gözlemlenmiştir. (Aynı zamanda inflamasyon ve fibrozis bir miktar daha fazladır) Bu nedenle de selüloz içerisine emdirilerek uygulanan bioaktif ajanlardan olan borik asitin diğer gruba göre pozitif bir iyileşme sağladığı burada gözlemlenmiştir.

Borik asit ilave edilen tüm gruplarda, selülozun ve kemik greft partiküllerinin küçük parçalara ayrılmış olduğu görülmektedir. Bu küçük parçaların etrafında yeni kemik oluşum alanları mevcuttur. Borik asit uygulanan materyallerde kullanılmayanlara oranla inflamasyon ve fibrozis bir miktar daha fazla görülmüştür.



Resim 5: Grup 5, Sadece bakteriyel selüloz uygulanan grup, H&E x 200 ve MTC x 200 boyama görüntüleri

Sadece selüloz kullanılan grupta (Grup 5) büyük sellüloz kitleleri etrafında yeni kemik oluşumu (Woven Kemik) mevcuttur. İnflamasyon ve fibrozis izlenmemiştir. Yabancı cisim reaksiyonu minimaldir.

Yeni kemik oluşum yüzdeleri değerlendirilmiş ve ortalama yüzde değerler; sadece ksenogreftin kullanıldığı Grup 1 de %19,5, borik asitin ksenogreftle karıştırılarak uygulandığı Grup 2’de % 33,3, ksenogreftte bakteriyel selülozun karıştırılarak kullanıldığı Grup 3’de % 38,3, ksenogreftte borik asit emdirilmiş selülozun karıştırılarak uygulandığı Grup 4’de % 43,3, sadece bakteriyel selülozun uygulandığı Grup 5’de % 30 olarak görülmüştür (Tablo 1).

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Ortalama yeni kemik oluşum yüzdeleri (%)	19,5	33,3	38,3	43,3	30

Tablo 1. Gruplara göre elde edilen ortalama yeni kemik oluşum yüzdeleri (Histomorfometrik analizlere göre)

Burada da görüldüğü üzere bioaktif ajan olarak kullanılan borik asit selüloza emdirilerek greft ile karıştırılıp uygulandığında tüm gruplara göre daha yüksek bir rejeneratif etki sağlamıştır. **Ayrıca sadece selüloz eklenen grup, sadece greft eklenen gruba göre daha yüksek yeni kemik oluşum yüzde değerleri göstermiştir.**

Tüm bu veriler ışığında;

1. Bakteriyel selüloz üretiminde uygun koşullarda selüloz üretiminin alınan görüntüleme metodlarında elde edildiği görülmüş ve borik asitin bakteriyel selüloza emdirilmesiyle hem yüzey analizlerinde hemde histolojik incelemelerde bakteriyel selülozdaki por alanlarında bir artış sağladığı ve bu alanlarda da kemikleşme odakları sağladığı görülmüştür.
2. Bakteriyel selülozun tek başına fibrotik doku oluşturmada ve enflamasyona neden olmadan biyouyumlu olarak kemik rejenerasyonu üzerinde tek başına etkili olabildiği görülmüştür.
3. Borik asitin enflematuar bir yanıt oluşturduğu, bununla birlikte eklendiği maddede parçalanmaya neden olarak kemik rejenerasyonu üzerinde önemli katkı sağladığı gözlemlenmiştir.
4. Borik asitin bakteriyel selüloza emdirilerek kullanılması ile selüloz içerisindeki rejeneratif potansiyeli olan bioaktif maddenin ortama yavaş ve uzun süreli salınımı ile üstün bir kemik rejenerasyonu sağladığı görülmüştür.
5. Bakteriyel selülozun takip peryodunun sonunda belirgin oranda rezorbe olmadan kaldığı görülmüş ve daha hızlı rezorbe olabilmesi için asetik asitle muamele edilerek porlar oluşturulmasına ve üretilirken inkubasyon süresinin 10 günden 6 güne çekilmesi yönünde yeni revizyonların yapılması kararlaştırılmıştır.

6. Bakteriyel selülozda kemikleşen alanların selüloz çevresinde olduğu borik asit emdirilerek kullanımında ise selüloz içerisinde de kemikleşme alanlarının olduğu görülmüştür. Bu nedenle selüloz içerisinde porların oluşturulması yönünden üretimde değişikliklerin yapılması uygun görülmüştür.
7. Bu çalışmada selülozun saf hali kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde hidroksiapatitin selüloz yapısına katılması hücre proliferasyonunu artırarak kemik rejenerasyonu üzerinde pozitif iyileşmeler sağladığı invitro ve invivo çalışmalarda gösterilmiştir. Bu nedenle de proje önerisinde hidroksiapatit içerikli bakteriyel selüloz kompozit peletlerin üretilerek çalışmada kullanılması uygun görülmüştür.



ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ

TARTIŞMA

Literatür incelendiğinde maksiller sinüs augmentasyonunda birçok greft materyalinin kullanıldığı ve bu greft materyallerinin birbirlerine göre etkinliklerinin birçok çalışmada değerlendirildiği görülmektedir (Hocaoğlu vd., 2018; Stumbras vd., 2019; Starch-Jensen vd., 2020; Oh vd., 2019). Pilot çalışmamızın histolojik ve histomorfometrik verilerine göre maksiller sinüs augmentasyonunda kullanılan ksenogreftin yeni kemik oluşumunu sağlayabildiği ve önceki çalışma bulgularını desteklediği görülmektedir (Hocaoğlu vd., 2018, Stumbras vd., 2019, Starch- Jensen vd., 2020, Oh vd., 2019).

Doğal hücre dışı matrisi taklit ederek çeşitli büyüme faktörlerinin bağlanması için yapı iskelesi ve taşıyıcı olarak çeşitli doğal ve sentetik malzemeler kullanılabilir. Rejeneratif tıpta hidrojel, kemik, kırık ve damar dokuları gibi çeşitli sert ve yumuşak dokuların yenilenmesini ve onarımını desteklemek için kullanılmaktadır (Tabata vd., 1998; Slauhter vd., 2009). Bu amaçla, yapılan çalışmalarda genellikle hidrojel kullanılarak, çalışmamıza benzer şekilde kemik defekt alanını dolduracak yeni greft ürünleri ve iskeleler geliştirilmeye çalışılmıştır (Barbeck vd., 2016; Shao vd., 2018; Bush vd., 2016; Lohmann vd., 2017).

Sert doku rejenerasyonunu amacıyla doku mühendisliği alanında doğal ve sentetik olarak üretilen birçok hidrojel tipinin literatürde yerini aldığı görülmektedir (Kabiri ve Zohuriaan-Mehir, 2008). Bu pilot çalışmada doğal bir hidrojel olan bakteriyel selüloz sert doku rejenerasyonu amacıyla kullanılmıştır. Özellikle çeşitli greft materyalleriyle bir arada kullanıma daha uygun olan dağılık formda hazırlanan küresel tipli bakteriyel selüloz hidrojelinin tek başına defekt alanlarında greft materyali gibi bir iskele olarak kullanılıp kullanılamayacağını ve ve greftlerle birlikte defekt alanlarında kemik rejenerasyonunu artırma amacıyla kullanılıp kullanılamayacağı temelde araştırılmıştır.

Literatür incelendiğinde bakteriyel selülozun sert doku rejenerasyonu üzerindeki etkinliklerinin birçok çalışmada incelendiği, bu çalışmalarda daha çok sert dokudaki defekt alanını dolduracak nitelikte bir greft materyali olarak değil de, bu pilot çalışmada kullanılan uygulama alanının aksine defekt alanının üzerini membran olarak örterek GBR amacıyla kullanıldığı ve bu şekilde sert doku rejenerasyonu üzerinde etkinliklerinin değerlendirildiği görülmektedir (Dutta vd.,2019; Rajwade vd., 2015; Carvalho vd.,2019; Pigossi vd.,2015). Bu

Çalışmalarda da sert doku rejenerasyonunda bakteriyel selüloz membran kullanımının pozitif iyileşme skorları sağladığı rapor edilse de (Lee vd., 2017; Luz vd., 2020), sert doku tamirinde etkili sonuçlar ortaya çıkarmadığını belirten, aksini iddia eden araştırmalar da yer almaktadır (Farnezi Bassi vd., 2020).

Sert doku rejenerasyonunda defekt alanının içerisini skaffold olarak dolduran bakteriyel selüloz ile ilişkili literatürdeki sınırlı sayıdaki çalışma incelendiğinde (Koike vd.,2019), bu çalışmalarda bakteriyel selülozun pilot çalışmamızda kullanılan şeklinden farklı olarak membran ya da jel formlarda hazırlandığı ve bu formların saf halde ya da bazı bioaktif maddelerin yapısına katılmış olduğu halleriyle elde edildiği kompozit selüloz formların defekt alanına yerleştirildiği ve sert doku rejenerasyonu üzerindeki etkinliklerinin değerlendirildiği gözlenmektedir. Literatürde, pilot çalışmamızda yer alan dağınık formda elde edilen bakteriyel selüloz formlarının defekt alanını doldurarak sert doku rejenerasyonlarında etkinliğinin değerlendirildiği herhangi bir çalışma yer almamaktadır.

Pilot çalışmanın bulgularında, tek başına bakteriyel selüloz ile yapılan maksiller sinüs augmentasyonlarında (Grup 5'te %30) elde edilen ortalama yeni kemik oluşum yüzdesinin, tek başına ksenogreftin kullanıldığı augmentasyonlarla (Grup 1'de %19,5) karşılaştırıldığında daha yüksek değerlerde olduğu ve fibrozis ve enflamasyonun minimal olduğu görülmüştür. Bu sonuç, önceki çalışma sonuçlarını doğrulayacak şekilde (Park vd., 2015), bakteriyel selülozun biouyumlu olduğunu, kemik defektlerinde tek başına greft materyali gibi kullanılabileceğini ve kemik rejenerasyonu üzerinde yeterli etkinlik sağlayabildiğini göstermektedir. Bu sonuçların aksine bakteriyel selülozun defekt alanlarında yeterli kemik rejenerasyonunu sağlayamadığını belirten çalışmalar da literatürde yer almaktadır (Farnezi Bassi vd., 2020).

Hidrojellerin kemik defekti alanında otojen veya diğer kemik greft materyalleri ile karıştırılarak kemik rejenerasyonu üzerindeki etkinliğini değerlendiren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Thoma vd., 2017; Jung vd., 2015; Cha vd., 2018). Ancak literatürde bakteriyel selülozun greft materyalleri ile karıştırılarak bir arada sert doku rejenerasyonu amacıyla defekt alanlarında kullanıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu pilot çalışmada, sadece ksenogreft konulan augmentasyon grubuna(Grup 1) nazaran, Ksenogreft + Bakteriyel selülozun uygulandığı grupta (Grup 3), hem ksenogreft hem de bakteriyel selüloz alanlarının çevresinde daha iyi bir kemikleşme olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle selüloz alanlarının çevresinde mor renkli mineralize kemik alanlarının bu grupta (Grup 3) yoğun olarak görüldüğü ve buna ilaveten fibrozisin ise daha az oranda görüldüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca ortalama yeni

kemik oluşum yüzde değerlerinin de Grup 1’de %19,5 iken, Grup 3’te 38,3 olduğu görülmüştür. Bu sınırlı sayıdaki çalışmalarda (Thoma vd., 2017; Jung vd., 2015; Cha vd., 2018) bizim çalışma bulgularının aksine, hidrojel ile greft materyalinin bir arada kullanıldığı defektlerde zaman içerisinde hidrojin greft partiküllerini stabilize edemediği, yeterli matriks stabilitesinin sağlanamayacağı ve yeni kemik alanı ve kemik-implant temas oranı açısından önemli bir farklılık oluşturmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmalarda bakteriyel selüloz kullanılmamıştır.

Bu pilot çalışmada bakteriyel selüloz kullanılan gruplarda daha az fibrozis ve enflemasyon görülmüş, yabancı cisim reaksiyonu görülmemiştir. Bu bulgular, bakteriyel selülozun sert ve yumuşak doku rejenerasyonlarında kullanıldığı önceki çalışma bulgularını desteklemekte (Koike vd., 2019) ve bakteriyel selülozun biouyumlu olduğunu göstermektedir.

Kollajen, trombositte zengin plazma, trombositte zengin fibrin, stromal vasküler fraksiyon, rekombinant insan kemik proteini 2 ve 7 (rhBMP-2, rhBMP-7) gibi ek biyoaktif ajanların sert dokudaki rejeneratif özellikleri artırabilmek amacıyla grefte eklenerek yeni kemik oluşumunu ve implant başarısını artırdığı bir çok çalışmada bildirilmiştir. (Stumbras vd., 2019). Literatür incelendiğinde bu biyoaktif ajanların çoğunlukla greft ile karıştırılarak kullanıldığı görülmektedir. Bu pilot çalışmada xenogreftte borik asit karıştırılarak maxiller sinüs augmentasyonu yapılmış ve çalışma sonuçlarında, sadece ksenogreft uygulanan gruba (Grup 1) nazaran, Ksenogreft + Borik asit uygulanan grupta (Grup 2) kemik oluşumunun daha fazla olduğu, bunun yanında borik asitin bir miktar daha fazla İnflamasyon ve fibrozise neden olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca ortalama yeni kemik oluşum yüzdelerinin Grup 1’de %19,5 iken, Grup 2’de %33,3 olduğu görülmüştür. Bu pilot çalışma sonuçları önceki çalışma sonuçlarını destekleyecek şekilde (Ulu vd., 2018; Kömürcü vd., 2015;), greft materyalleriyle borik asitin lokal olarak karıştırılarak uygulanmasının kemik rejenerasyonunda önemli pozitif iyileşme skorları sağladığını desteklemektedir.

Biyoaktif ajanların uygun bir taşıyıcı ile kemik rejenerasyonu istenen bölgelerde uygulanmasına yönelik çeşitli çalışmaların son zamanlarda önem kazandığı görülmektedir. Taşıyıcı olarak kullanılan bakteriyel selüloz yapısına antimikrobiyal ajanların, analjezikleri ve antiinflamatuvar ajanların, antibiyotiklerin, anestezi solüsyonların, biyoaktif ajanların ve çeşitli büyüme faktörleri ve kök hücrelerin eklenebildiği görülmektedir.(Shao vd., 2016; De Mattos vd., 2020; Junka vd., 2019; Gupta vd., 2020; Inoue vd., 2020; Wang vd., 2018). Bakteriyel

selüloz membrana daha iyi özellikler kazandırabilmek için çeşitli bioaktif maddelerin selülozun yapısına katılması ve bakteriyel selülozun taşıyıcı olarak kullanılması düşünülmüş ve bu maddelerin yavaş ve uzun süreli salınımları sağlanarak, kemik rejenerasyonda daha etkili sonuçlar ortaya çıkarabildiği düşünülmüştür. Çalışmamızda bakteriyel selüloza borik asit emdirilmiş ve bu şekilde elde edilen kompozit selülozun ksenogreftle karıştırılarak augmentasyon alanlarında kullanımı ile tüm gruplar arasında en üstün ortalama yeni kemik formasyon yüzdesi (Grup 4'te % 43,3) elde edilmiş ve daha üstün iyileşme skorları elde edilmiştir. Bu bulgular, bakteriyel selülozun yapısına bioaktif ajanların veya kök hücrelerin katılarak sert doku rejenerasyonunda etkinliklerinin değerlendirildiği önceki çalışma bulgularını da desteklemektedir (Coelho vd., 2019; Koike vd., 2019; Zang vd., 2014). Bizim çalışma bulgularımızın aksine, bakteriyel selülozun saf halde veya aktif ajan eklenmiş kompozit yapıları arasında yeni oluşan mineralize kemik dokusu açısından belirgin bir fark gözlemlenmediğini de belirten çalışmalar yer almaktadır (Zang vd., 2014).

Literatür incelendiğinde taşıyıcı bir hidrojel yapısına bor ilave edilerek elde edilen kompozit ürünlerin kemik rejenerasyonu ve osteoblastik hücre aktiviteleri üzerindeki etkinliklerini değerlendiren çok az sayıda çalışma olduğu görülmektedir (Shikhaliyeva, 2015; Tunçay, 2013). Bu çalışmalarda bizim bulgularımızı destekler şekilde, borun kemik rejenerasyonunda etkili olan preosteoblastik hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşması üzerinde olumlu etkiler sağladığı bildirilmiştir (Shikhaliyeva, 2015; Tunçay, 2013). Ancak literatürde borik asitin bakteriyel selüloza emdirilerek kullanıldığı ve bu emdirilmiş kompozit selüloz formun greft materyalleri ile karıştırılarak uygulandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda borun ilave edildiği gruplarda hem ksenogreftte hemde bakteriyel selülozda bir parçalanmaya neden olduğu ve borik asit ilavesinin fibrozis ve enflamasyonda bir miktar artış sağlamanın yanında, daha iyi kemik rejenerasyonu sağladığı görülmüştür. Bu bulgular selüloz dışında diğer hidrojellere borun katıldığı bazı çalışma bulgularını desteklemekte, bu çalışmalarda da bor ilavesinin yüzey ıslanabilirliğini ve membranların biyolojik olarak parçalanabilirliğini artırdığı, gerilme direnci ve young modülü değerinde önemli bir düşüş oluşturduğu ve ayrıca insan pulpa hücreleri üzerinde daha iyi bir bağlanma, yayılma ve proliferasyon sağlayabildiği rapor edilmiştir (Moonesi vd., 2019).

Bu pilot çalışmada tüm gruplarda yeni kemik oluşum alanlarındaki kemiğin ortalama %95'inin örgülü kemik ve %5'inin lameller kemikten oluştuğu görülmüştür. Alınan örneklerin sadece en dış kısmında lamelli kemiğin yer aldığı görülmüştür. Ayrıca bakteriyel selüloz örneklerinin

sadece dış kısımlarında yeni kemik rejenerasyonlarının görüldüğü, 8 haftalık takip periyodu sonunda saf halde kullanılan bakteriyel selülozun rezorbe olmadan kaldığı, borik asitin selüloza emdirildiği örneklerde selülozun daha küçük parçalara ayrıldığı ve bu alanlarda da daha iyi bir yeni kemik oluşumu sağlandığı görülmüştür. Bu bulgular önceki çalışma bulgularını destekler niteliktedir (Koike vd., 2019; Moonesi vd., 2019). Bakteriyel selülozun takip periyodu sonunda rezorbe olarak yerini yeni oluşacak kemik alanlarına bırakmasının sağlanması ve rezorpsiyon süreleri üzerinde daha derin araştırmaların yapılmasına ihtiyaç duyulduğu aşikârdır.

İnsanlarda ve hayvanlarda fazla bor vücuttan atılabileceğinden, sadece çok miktarda bor tüketmenin toksik reaksiyonlara neden olabileceği belirtilmiştir. Erişkinlerde öldürücü bor dozu 18-20 mg/kg olarak bildirilmesine rağmen, bor toksisitesine bağlı ölümün nadir olduğu bildirilmektedir. Hatta bazı kişilerde 80 ile 297 mg/kg arasında alınan bor miktarının tolere edilebileceği bildirilmiştir (Von Burg, 1992; Hunt, 2003; Devirian ve Volpe, 2003). Kemik rejenerasyonu üzerine lokal olarak uygulanan borik asitin lokal kullanım dozu sınırlı sayıda çalışmada ele alındığı ve dozun 3-8 mg/kg arasında değiştiği görülmektedir (Gölge vd., 2015; Ulu vd., 2018). Çalışmamızda önceki çalışmaları destekleyecek şekilde (Ulu vd., 2018) borik asit dozu 3mg/kg olarak güvenli ve düşük doz aralığında tutulmuş, borik asit kullanımıyla ilişkili etkin bir kemik rejenerasyonu sağlarken, toksik reaksiyonlar gözlenmemiş, denek kayıpları yaşanmamıştır.

Bakteriyel selülozun literatürde farklı yöntemlerle elde edildiği (Zeng, 2014; Song vd., 2009) ve daha sıklıkla statik ve çalkalama kültürü yöntemlerinin bu amaçla kullanıldığı belirtilmiştir (Kumbhar vd., 2017; Park vd., 2015; Shezad vd 2010; Tse vd., 2010). Sınırlı sayıda çalışmada (Hoshi vd., 2018; Zaborowska vd., 2010) bakteriyel selülozun dağınık tipte elde edilen küresel formları yer almış, bu in vitro hücre kültürü çalışmalarında yapılarına diğer hidrojel tiplerinin dahil edilmesi ve özelliklerinin geliştirmesi amaçlanmıştır. Fakat bu çalışmalarda küresel tipte hazırlanan bakteriyel selüloz ürünlerinin sert doku rejenerasyonundaki etkinlikleri değerlendirilmemiştir. Ayrıca bu küresel formun diğer yöntemlerle elde edilen bakteriyel selüloz ürünlerinden üstün ya da olumsuz yönlerini karşılaştırmalı olarak inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

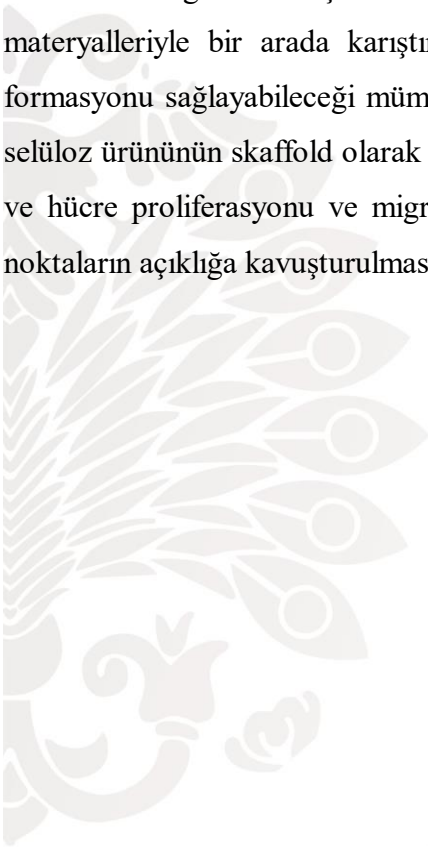
Bakteriyel selüloz membranlarına ilaç yüklemenin en yaygın yöntemi genellikle liyofilizasyon, ardından selüloz zarın ilaç veya bioaktif ajan çözeltisine daldırılması ve maksimum ilaç emilimini sağlamak için doygunluğa ulaştırılmasıdır (Swingler vd., 2019). Aktif ajanların bakteriyel selüloza eklendiği çalışmalar incelendiğinde, çoğunlukla bu ajanların üretim

aşamasında selüloza katıldığı (Inoue vd., 2020; Wang vd., 2018) ve daha az sayıdaki çalışmalarda ise bakteriyel selüloz üretildikten sonra bu ajanların 24 saat karanlıkta ve çalkalama yapılarak selüloza emdirildiği gözlemlenmiştir (Shao vd., 2016; De Mattos vd., 2020; Kumbhar vd., 2017). Bu pilot çalışmada borik asit bakteriyel selüloza 24 saat çalkalama altında emdirilmiştir. Bu pilot çalışmada da bakteriyel selülozun saf hali ve borik asit emdirilmiş kompozit formu, SEM, XRD ve FTIR yüzey analizleriyle incelenmiş, diğer çalışma sonuçlarını destekleyecek şekilde (Shao vd., 2016; De Mattos vd., 2020; Kumbhar vd., 2017) 24 saat çalkalama altında yapılan emdirme işleminin, bioaktif ajanların bakteriyel selülozun yapısına katılmasında etkili ve yeterli bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Bu pilot çalışmada yüzey özelliklerinin değerlendirildiği analizlere göre SEM analizi, diğer çalışmaların bulgularını destekleyecek şekilde (Koike vd., 2019) bakteriyel selülozun rastgele ve düzensiz bir şekilde bir araya gelen nanoliflerden oluştuğunu ve gözenekli üç boyutlu bir ağ yapısına sahip olduğunu göstermiştir. XRD görüntüleri, diğer çalışmaların bulgularını destekleyecek şekilde (Wasim vd., 2020) 14.6°, 16.9° ve 22.8°'de belirgin piklere sahip saf bir bakteriyel selüloz numunesi olduğunu göstermektedir. Kurutulmuş bakteriyel selülozun FTIR spektrumlarındaki piklerin konumu ve yoğunluğu, diğer çalışmaların bulgularını destekleyecek şekilde (Ghozali vd., 2021) aynı yapıya sahip bakteri selüloz numunelerinin farklı çalışmalarla da elde edildiğini ve polimerik bir forma sahip olduğunu göstermektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu pilot çalışma bulguları dikkate alındığında, bakteriyel selülozun saf halde çeşitli kemik içi defektlerde ve ya augmentasyon alanlarında greft materyali olarak kullanılabilmesi, özellikle dağınık formda hazırlanan küresel bakteriyel selülozun otojen ya da diğer greft materyalleriyle karıştırılıp bir arada sert doku rejenerasyonu amacıyla kullanılabilmesi mümkündür. Taşıyıcı olarak ister bioaktif ajanlar ister biyolojik ürünler olsun çeşitli ajanların emdirme yoluyla yapısına katılarak yavaş ve uzun süreli salınım yapma özelliği ile bakteriyel selülozun taşıyıcı olarak kullanılabileceği ve bu şekilde dağınık formda küresel olarak hazırlanmış selülozun greft materyalleriyle bir arada karıştırılarak sert doku rejenerasyonunda en yüksek yeni kemik formasyonu sağlayabileceği mümkündür. Aynı zamanda küresel formda hazırlanan bakteriyel selüloz ürününün skaffold olarak daha etkili kullanımı için, por genişlikleri, rezorbsiyon süreleri ve hücre proliferasyonu ve migrasyonu yönüyle yeni invitro araştırmalar yapılmalıdır. Eksik noktaların açıklığa kavuşturulması için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu da aşikârdır.



ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ

REFERANSLAR

1. Albrektsson, T., & Johansson, C. 2001. "Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration", *European spine journal*, 10, S96-S101.
2. Allegrini Jr, S., Yoshimoto, M., Salles, M. B., & König Jr, B. 2003. "The effects of bovine BMP associated to HA in maxillary sinus lifting in rabbits", *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 185, 343-349.
3. Allegrini Jr, S., Yoshimoto, M., Salles, M. B., & König Jr, B. 2004. " Bone regeneration in rabbit sinus lifting associated with bovine BMP", *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: 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*, 68, 127-131.
4. An, S. J., Lee, S. H., Huh, J. B., Jeong, S. I., Park, J. S., Gwon, H. J., ... & Lim, Y. M. 2017. "Preparation and characterization of resorbable bacterial cellulose membranes treated by electron beam irradiation for guided bone regeneration", *International journal of molecular sciences*, 18, 2236.
5. Andrés-García, R., Ríos-Santos, J. V., Herrero-Climent, M., Bullón, P., Fernández-Farhall, J., Gómez-Menchero, A., ... & Ríos-Carrasco, B. 2021. "Sinus Floor Elevation via an Osteotome Technique without Biomaterials", *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 1103.
6. Baker, S. J., Akama, T., Zhang, Y. K., Sauro, V., Pandit, C., Singh, R., ... & Maples, K. R. 2006. "Identification of a novel boron-containing antibacterial agent (AN0128) with anti-inflammatory activity, for the potential treatment of cutaneous diseases", *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 16, 5963-5967.
7. Barbeck, M., Hoffmann, C., Sader, R., Peters, F., Hübner, W. D., Kirkpatrick, C. J., & Ghanaati, S. 2016. "Injectable bone substitute based on β -TCP combined with a hyaluronan-containing hydrogel contributes to regeneration of a critical bone size defect towards Restitutio Ad Integrum", *Journal of Oral Implantology*, 42, 127-137.
8. Beekmann, U., Schmölz, L., Lorkowski, S., Werz, O., Thamm, J., Fischer, D., & Kralisch, D. 2020. "Process control and scale-up of modified bacterial cellulose production for tailor-made anti-inflammatory drug delivery systems", *Carbohydrate polymers*, 236, 116062.

9. Bielecki, S., Krystynowicz, A., Turkiewicz, M., & Kalinowska, H. 2005. "Bacterial cellulose", Polysaccharides and polyamides in the food industry: properties, production, and patents, 31-84.
10. Bilezikian, J. P., Raisz, L. G., & Martin, T. J. (Eds.). 2008. Principles of bone biology.(3.English ed.) Academic press: Elsevier.
11. Bingöl, M. S., & Çopur, M. 2019. Determination of optimum conditions for boric acid production from colemanite by using co2 in high-pressure reactor. *Journal of CO2 Utilization*, 29, 29-35.
12. Brown Jr, R. M. 2004. "Cellulose structure and biosynthesis: what is in store for the 21st century?", *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 42, 487-495.
13. Burdick, J. A., Mason, M. N., Hinman, A. D., Thorne, K., & Anseth, K. S. 2002. "Delivery of osteoinductive growth factors from degradable PEG hydrogels influences osteoblast differentiation and mineralization", *Journal of Controlled Release*, 83, 53-63.
14. Bush, J. R., Liang, H., Dickinson, M., & Botchwey, E. A. 2016. "Xylan hemicellulose improves chitosan hydrogel for bone tissue regeneration", *Polymers for advanced technologies*, 27, 1050-1055.
15. Cao, S., Li, Q., Zhang, S., Liu, K., Yang, Y., & Chen, J. 2022. Oxidized bacterial cellulose reinforced nanocomposite scaffolds for bone repair. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112316.
16. Carvalho, T., Guedes, G., Sousa, F. L., Freire, C. S., & Santos, H. A. 2019. "Latest Advances on Bacterial Cellulose-Based Materials for Wound Healing, Delivery Systems, and Tissue Engineering", *Biotechnology journal*, 14, 1900059.
17. Centeno, C., R Schultz, J., Cheever, M., Freeman, M., Faulkner, S., Robinson, B., & Hanson, R. 2011. "Safety and complications reporting update on the re-implantation of culture-expanded mesenchymal stem cells using autologous platelet lysate technique", *Current stem cell research & therapy*, 6, 368-378.
18. Cha, J. K., Jung, U. W., Thoma, D. S., Hämmerle, C. H., & Jung, R. E. 2018. "Osteogenic efficacy of BMP-2 mixed with hydrogel and bone substitute in peri-implant dehiscence defects in dogs: 16 weeks of healing", *Clinical oral implants research*, 29, 300-308.

19. Codreanu, A., Balta, C., Herman, H., Cotoraci, C., Mihali, C. V., Zurbau, N., ... & Hermenean, A. 2020. "Bacterial Cellulose-Modified Polyhydroxyalkanoates Scaffolds Promotes Bone Formation in Critical Size Calvarial Defects in Mice", *Materials*, 13, 1433.
20. Coelho, F., Cavicchioli, M., Specian, S. S., Scarel-Caminaga, R. M., Penteado, L. D. A., Medeiros, A. I. D., ... & Capote, T. S. D. O. 2019. "Bacterial cellulose membrane functionalized with hydroxiapatite and anti-bone morphogenetic protein 2: A promising material for bone regeneration", *Plos one*, 14, e0221286.
21. Corinaldesi, G., Piersanti, L., Piattelli, A., Iezzi, G., Pieri, F., & Marchetti, C. 2013. "Augmentation of the floor of the maxillary sinus with recombinant human bone morphogenetic protein-7: a pilot radiological and histological study in humans", *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 51, 247-252.
22. Czaja, W., Romanovicz, D., & Malcolm Brown, R. 2004. "Structural investigations of microbial cellulose produced in stationary and agitated culture", *Cellulose*, 11, 403-411.
23. Davarpanah, M., Martinez, H., Tecucianu, J. F., Hage, G., & Lazzara, R. 2001. "The modified osteotome technique", *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 21.
24. de Mattos, I. B., Nischwitz, S. P., Tuca, A. C., Groeber-Becker, F., Funk, M., Birngruber, T., ... & Holzer, J. C. 2020. "Delivery of antiseptic solutions by a bacterial cellulose wound dressing: Uptake, release and antibacterial efficacy of octenidine and povidone-iodine", *Burns*, 46, 918-927.
25. Devirian TA, Volpe SL. 2003. The physiological effects of dietary boron. *Crit Rev Food Sci Nutr* 43: 219– 231.
26. Drury, J. L., & Mooney, D. J. 2003. "Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications", *Biomaterials*, 24, 4337-4351.
27. Dutta, S. D., Patel, D. K., & Lim, K. T. 2019. "Functional cellulose-based hydrogels as extracellular matrices for tissue engineering", *Journal of biological engineering*, 13, 1-19.
28. Farnezi Bassi, A. P., Bizelli, V. F., Brasil, L. F. D. M., Pereira, J. C., Al-Sharani, H. M., Momesso, G. A. C., ... & Lucas, F. D. A. 2020. "Is the Bacterial Cellulose Membrane Feasible for Osteopromotive Property?" *Membranes*, 10, 230.

29. Fu, L., Zhang, J., Yang, G., 2013. "Present Status and Applications of Bacterial Cellulose-Based Materials for Skin Tissue Repair", *Carbohydrate Polymer*, 92, 1432–1442
30. Ghozali, M., Meliana, Y., & Chalid, M. 2021. Synthesis and characterization of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* using liquid tapioca waste. *Materials Today: Proceedings*, 44, 2131-2134.
31. Gill, H. S., Nagpal, A., Vaidya, S., & Jindal, V. 2020. "Maxillary Sinus Floor Elevation Techniques", *International Journal of Drug Research And Dental Science*, 2, 29-44.
32. Gkioni, K., Leeuwenburgh, S. C., Douglas, T. E., Mikos, A. G., & Jansen, J. A. 2010. "Mineralization of hydrogels for bone regeneration", *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 16, 577-585.
33. Gorustovich, A. A., Steimetz, T., Nielsen, F. H., & Guglielmotti, M. B. 2008. "A histomorphometric study of alveolar bone modelling and remodelling in mice fed a boron-deficient diet", *Archives of oral biology*, 53, 677-682.
34. Gölge, U. H., Kaymaz, B., Arpacı, R., Kömürcü, E., Göksel, F., Güven, M., ... & Cevizci, S. 2015. "Effects of boric acid on fracture healing: an experimental study", *Biological trace element research*, 167, 264-271.
35. Gupta, A., Briffa, S. M., Swingler, S., Gibson, H., Kannappan, V., Adamus, G., ... & Radecka, I. 2020. "Synthesis of silver nanoparticles using curcumin-cyclodextrins loaded into bacterial cellulose-based hydrogels for wound dressing applications", *Biomacromolecules*, 21, 1802-1811.
36. Hakki, S. S., Bozkurt, B. S., & Hakki, E. E. 2010. "Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1)", *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24, 243-250.
37. Han, J., Shim, E., & Kim, H. R. 2019. "Effects of Cultivation, Washing, and Bleaching Conditions on Bacterial Cellulose Fabric Production", *Textile Research Journal*, 89, 1094-1104.
38. Hocaoglu, T. P., Gençoğlu, S., Arslan, M., Benlidayı, M. E., & Kürkçü, M. 2018. "Histomorphometric assessment of the impact of bovine demineralized bone graft on bone healing versus autogenous, allogeneic and synthetic grafts in experimentally-induced critical size bone defects in rats", *Cumhuriyet dental journal*, 21, 387-395.

39. Hoshi, T., Yamazaki, K., Sato, Y., Shida, T., & Aoyagi, T. 2018. "Production of hollow-type spherical bacterial cellulose as a controlled release device by newly designed floating cultivation", *Heliyon*, 4, e00873.
40. Hu, Y., Catchmark, J. M., Zhu, Y., Abidi, N., Zhou, X., Wang, J., & Liang, N. 2014. Engineering of porous bacterial cellulose toward human fibroblasts ingrowth for tissue engineering. *Journal of Materials Research*, 29(22), 2682-2693.
41. Hunt, C. D. 2003. "Dietary boron: an overview of the evidence for its role in immune function", *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine: The Official Publication of the International Society for Trace Element Research in Humans*, 16, 291-306.
42. Inoue, B. S., Streit, S., dos Santos Schneider, A. L., & Meier, M. M. 2020. "Bioactive bacterial cellulose membrane with prolonged release of chlorhexidine for dental medical application", *International journal of biological macromolecules*, 148, 1098-1108.
43. Iturriaga, M. T. M., & Ruiz, C. C. 2004. "Maxillary sinus reconstruction with calvarium bone grafts and endosseous implants", *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 62, 344-347.
44. Iviglia, G., Cassinelli, C., Torre, E., Baino, F., Morra, M., & Vitale-Brovarone, C. 2016. "Novel bioceramic-reinforced hydrogel for alveolar bone regeneration", *Acta biomaterialia*, 44, 97-109.
45. Jablonski, S. 1982. Illustrated dictionary of dentistry. Saunders: Philadelphia, 779-780.
46. Jeong, J. O., Han, J. W., Kim, J. M., Cho, H. J., Park, C., Lee, N., ... & Yoon, Y. S. 2011. "Malignant tumor formation after transplantation of short-term cultured bone marrow mesenchymal stem cells in experimental myocardial infarction and diabetic neuropathy", *Circulation research*, 108, 1340-1347.
47. Ji, S. Q., Cao, J., Zhang, Q. Y., Li, Y. Y., Yan, Y. Q., & Yu, F. X. 2013. "Adipose tissue-derived stem cells promote pancreatic cancer cell proliferation and invasion", *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 46(9), 758-764.
48. Johnson, D.C. and Neogi, A.N. 1989. "Sheeted products formed from reticulated microbial cellulose", US Patent, 4863565.
49. Jozala, A. F., de Lencastre-Novaes, L. C., Lopes, A. M., de Carvalho SantosEbinuma, V., Mazzola, P. G., Pessoa-Jr, A., Chaud, M. V., 2016. "Bacterial Nanocellulos

Production and Application: a 10-year Overview”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 2063-2072.

50. Jung, U. W., Lee, I. K., Park, J. Y., Thoma, D. S., Hämmerle, C. H., & Jung, R. E. 2015. “The efficacy of BMP-2 preloaded on bone substitute or hydrogel for bone regeneration at peri-implant defects in dogs. *Clinical oral implants research*, 26, 1456-1465.
51. Junka, A., Bartoszewicz, M., Dziadas, M., Szymczyk, P., Dydak, K., Żywicka, A., ... & Fijałkowski, K. 2020. “Application of bacterial cellulose experimental dressings saturated with gentamycin for management of bone biofilm in vitro and ex vivo”, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 108, 30-37.
52. Kabiri, K., Zohuriaan-Mehr, M. J., 2008. “Superabsorbent polymer materials: A review”, *Iranian Polymer Journal*, 17, 451
53. Kanoriya, D., Singhal, S., Garg, V., Pradeep, A. R., Garg, S., & Kumar, A. 2018. “Clinical efficacy of subgingivally-delivered 0.75% boric acid gel as an adjunct to mechanotherapy in chronic periodontitis: A randomized, controlled clinical trial”, *Journal of investigative and clinical dentistry*, 9, e12271.
54. Kaya, A., 2007. *Acetobacter Xylinum*’un Suşlarında Selüloz Üretimi ile Yağ Asidi Kompozisyonunun Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 34s, Ankara.
55. Kim, J., Hefferan, T. E., Yaszemski, M. J., & Lu, L. 2009. “Potential of hydrogels based on poly (ethylene glycol) and sebacic acid as orthopedic tissue engineering scaffolds”, *Tissue Engineering Part A*, 15, 2299-2307.
56. Kim, Y. S., Kim, S. H., Kim, K. H., Jhin, M. J., Kim, W. K., Lee, Y. K., ... & Lee, Y. M. 2012. “Rabbit maxillary sinus augmentation model with simultaneous implant placement: differential responses to the graft materials”, *Journal of periodontal & implant science*, 42, 204.,
57. Klemm, D., Kramer, F., Moritz, S., Lindström, T., Ankerfors, M., Gray, D., Dorris, A., 2011. “Nanocelluloses: a New Family of Nature-Based Materials”, *Angewante Chemie International Edition*, 50, 5438–5466.
58. Koike, T., Sha, J., Bai, Y., Matsuda, Y., Hideshima, K., Yamada, T., & Kanno, T. 2019. “Efficacy of Bacterial Cellulose as a Carrier of BMP-2 for Bone Regeneration in a Rabbit Frontal Sinus Model”, *Materials*, 12, 2489.

59. Kouda, T., Yano, H., & Yoshinaga, F. 1997. "Effect of agitator configuration on bacterial cellulose productivity in aerated and agitated culture", *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 83, 371-376.
60. Kömürcü, E., Özyalvaçlı, G., Kaymaz, B., Gölge, U. H., Göksel, F., Cevizci, S., ... & Ozden, R. 2015. "Effects of local administration of boric acid on posterolateral spinal fusion with autogenous bone grafting in a rodent model", *Biological trace element research*, 167, 77-83.
61. Kumbhar, J. V., Jadhav, S. H., Bodas, D. S., Barhanpurkar-Naik, A., Wani, M. R., Paknikar, K. M., & Rajwade, J. M. 2017. "In vitro and in vivo studies of a novel bacterial cellulose-based acellular bilayer nanocomposite scaffold for the repair of osteochondral defects", *International journal of nanomedicine*, 12, 6437.
62. Lambert, F., Léonard, A., Drion, P., Sourice, S., Layrolle, P., & Rompen, E. 2011. "Influence of space-filling materials in subantral bone augmentation: blood clot vs. autogenous bone chips vs. bovine hydroxyapatite", *Clinical oral implants research*, 22, 538-545.
63. Larsen, B., Petrovic, M., & De Seta, F. 2018. "Boric acid and commercial organoboron products as inhibitors of drug-resistant *Candida albicans*", *Mycopathologia*, 183, 349-357.
64. Lee, K. Y., Alsberg, E., & Mooney, D. J. 2001. "Degradable and injectable poly (aldehyde guluronate) hydrogels for bone tissue engineering", *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*, 56, 228-233.
65. Lee, S. H., Lim, Y. M., Jeong, S. I., An, S. J., Kang, S. S., Jeong, C. M., & Huh, J. B. 2015. "The effect of bacterial cellulose membrane compared with collagen membrane on guided bone regeneration", *The journal of advanced prosthodontics*, 7, 484.
66. Lee, Y. J., An, S. J., Bae, E. B., Gwon, H. J., Park, J. S., Jeong, S. I., ... & Huh, J. B. 2017. "The effect of thickness of resorbable bacterial cellulose membrane on guided bone regeneration", *Materials*, 10, 320.
67. Lin, S. P., Calvar, I. L., Catchmark, J. M., Liu, J. R., Demirci, A., Cheng, K. C., 2013. "Biosynthesis, Production and Applications of Bacterial Cellulose", *Cellulose*, 20, 2191-2219

68. Liu, J., Chinga-Carrasco, G., Cheng, F., Xu, W., Willför, S., Syverud, K., & Xu, C. 2016. "Hemicellulose-reinforced nanocellulose hydrogels for wound healing application", *Cellulose*, 23, 3129-3143.
69. Liu, W., Du, H., Zhang, M., Liu, K., Liu, H., Xie, H., ... & Si, C. 2020. Bacterial cellulose-based composite scaffolds for biomedical applications: a review. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(20), 7536-7562.
70. Lohmann, P., Willuweit, A., Neffe, A. T., Geisler, S., Gebauer, T. P., Beer, S., ... & Langen, K. J. 2017. "Bone regeneration induced by a 3D architected hydrogel in a rat critical-size calvarial defect", *Biomaterials*, 113, 158-169.
71. Luan, Q., Desta, T., Chehab, L., Sanders, V. J., Plattner, J., & Graves, D. T. 2008. "Inhibition of experimental periodontitis by a topical boron-based antimicrobial", *Journal of dental research*, 87, 148-152.
72. Luz, E. P. C. G., das Chagas, B. S., de Almeida, N. T., de Fátima Borges, M., Andrade, F. K., Muniz, C. R., ... & Vieira, R. S. 2020. "Resorbable bacterial cellulose membranes with strontium release for guided bone regeneration", *Materials Science and Engineering: C*, 116, 111175.
73. Mohamad, N., Loh, E. Y. X., Fauzi, M. B., Ng, M. H., & Amin, M. C. I. M. 2019. "In vivo evaluation of bacterial cellulose/acrylic acid wound dressing hydrogel containing keratinocytes and fibroblasts for burn wounds", *Drug delivery and translational research*, 9, 444-452.
74. Mondal, S., & Banthia, A. K. 2005. Low-temperature synthetic route for boron carbide. *Journal of the European Ceramic society*, 25(2-3), 287-291.
75. Moonesi Rad, R., Atila, D., Evis, Z., Keskin, D., & Tezcaner, A. 2019. "Development of a novel functionally graded membrane containing boron-modified bioactive glass nanoparticles for guided bone regeneration", *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 13, 1331-1345.
76. Murugan, R., & Ramakrishna, S. 2005. "Development of nanocomposites for bone grafting", *Composites Science and technology*, 65, 2385-2406.
77. Naghii, M. R., Mofid, M., Asgari, A. R., Hedayati, M., & Daneshpour, M. S. 2011. "Comparative effects of daily and weekly boron supplementation on plasma steroid hormones and proinflammatory cytokines", *Journal of trace elements in medicine and biology*, 25, 54-58.

78. Nandgaonkar, A. G., Wang, Q., Fu, K., Krause, W. E., Wei, Q., Gorga, R., & Lucia, L. A. 2014. "A one-pot biosynthesis of reduced graphene oxide (RGO)/bacterial cellulose (BC) nanocomposites", *Green Chemistry*, 16, 3195-3201.
79. Nizam, N., Eren, G., Akcalı, A., & Donos, N. 2018. Maxillary sinus augmentation with leukocyte and platelet-rich fibrin and deproteinized bovine bone mineral: A split-mouth histological and histomorphometric study. *Clinical oral implants research*, 29, 67-75.
80. Noh, Y. K., Da Costa, A. D. S., Park, Y. S., Du, P., Kim, I. H., & Park, K. 2019. "Fabrication of bacterial cellulose-collagen composite scaffolds and their osteogenic effect on human mesenchymal stem cells", *Carbohydrate polymers*, 219, 210-218.
81. O. Borokhov and D. Schubert. 2007. "Antimicrobial Properties of Boron Derivatives", *ACS Symposium Series*, Oxford University Press, Oxford, ,412–435.
82. Oh, J. S., Seo, Y. S., Lee, G. J., You, J. S., & Kim, S. G. 2019. "A Comparative Study with Biphasic Calcium Phosphate and Deproteinized Bovine Bone in Maxillary Sinus Augmentation: A Prospective Randomized Controlled Clinical Trial", *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 34.,
83. Park, M., Lee, D., Shin, S., & Hyun, J. 2015. "Effect of negatively charged cellulose nanofibers on the dispersion of hydroxyapatite nanoparticles for scaffolds in bone tissue engineering", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 130, 222-228.
84. Patel, A., Zaky, S. H., Schoedel, K., Li, H., Sant, V., Beniash, E., ... & Sant, S. 2020. "Design and evaluation of collagen-inspired mineral-hydrogel nanocomposites for bone regeneration", *Acta Biomaterialia*, 112, 262-273.
85. Picheth, G. F., Pirich, C. L., Sierakowski, M. R., Woehl, M. A., Sakakibara, C. N., de Souza, C. F., de Freitas, R. A., 2017. "Bacterial Cellulose in Biomedical Applications: A Review", *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 97-106.
86. Postlethwaite, A. E., Seyer, J. M., & Kang, A. H. 1978. "Chemotactic attraction of human fibroblasts to type I, II, and III collagens and collagen-derived peptides", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75, 871-875.
87. Poyrazoğlu Çoban, E., Bıyık, HH., 2008. "Asetik Asit Bakterilerinden Elde Edilen Alternatif Selüloz", *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 6(, 19–26.
88. Poyrazoğlu, E., 2007. Yüzey Kültür Fermentasyon Yöntemi ile Bazı Asetik Asit Bakterilerinden Ekstrasellüler Polisakkarit Üretimi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 207s, Aydm.

89. Qiu, K., Netravali, A. N., 2014. "A Review of Fabrication and Applications of Bacterial Cellulose Based Nanocomposites", *Polymer Reviews*, 54, 598-626.
90. Raghoobar, G. M., Timmenga, N. M., Reintsema, H., Stegenga, B., & Vissink, A. 2001. "Maxillary bone grafting for insertion of endosseous implants: results after 12–124 months", *Clinical Oral Implants Research*, 12, 279-286.
91. Rajwade, J. M., Paknikar, K. M., & Kumbhar, J. V. 2015. "Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine", *Applied microbiology and biotechnology*, 99, 2491-2511.
92. Ran, J., Jiang, P., Liu, S., Sun, G., Yan, P., Shen, X., & Tong, H. 2017. Constructing multi-component organic/inorganic composite bacterial cellulose-gelatin/hydroxyapatite double-network scaffold platform for stem cell-mediated bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 78, 130-140.
93. Rickert, D., Slater, J. H., Meijer, H. J. A., Vissink, A., & Raghoobar, G. M. 2012. "Maxillary sinus lift with solely autogenous bone compared to a combination of autogenous bone and growth factors or (solely) bone substitutes. A systematic review", *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 41(2), 160-167
94. Rouwkema, J., Boer, J. D., & Blitterswijk, C. A. V. 2006. "Endothelial cells assemble into a 3-dimensional prevascular network in a bone tissue engineering construct", *Tissue engineering*, 12, 2685-2693.
95. Sağlam, M., Arslan, U., Buket Bozkurt, Ş., & Hakki, S. S. 2013. "Boric acid irrigation as an adjunct to mechanical periodontal therapy in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial", *Journal of periodontology*, 84, 1297-1308.
96. Sağlam, M., Köseoğlu, S., & Enhoş, Ş. 2013. "Boron in periodontology", *Erciyes Sağlık Bilimleri Dergisi (J Erc Health Sci)*, 22, 70-5.
97. Schwarz, F., Rothamel, D., Herten, M., Sager, M., & Becker, J. 2006. Angiogenesis pattern of native and cross-linked collagen membranes: An immunohistochemical study in the rat. *Clinical oral implants research*, 17, 403-409.
98. Shao, R. X., Quan, R. F., Wang, T., Du, W. B., Jia, G. Y., Wang, D., ... & Yang, D. S. 2018. "Effects of a bone graft substitute consisting of porous gradient HA/ZrO₂ and gelatin/chitosan slow-release hydrogel containing BMP-2 and BMSCs on lumbar vertebral defect repair in rhesus monkey", *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 12, e1813-e1825.

99. Shao, W., Wang, S., Liu, X., Liu, H., Wu, J., Zhang, R., ... & Huang, M. 2016. "Tetracycline hydrochloride loaded regenerated cellulose composite membranes with controlled release and efficient antibacterial performance", *RSC advances*, 6, 3068-3073.
100. Shezad, O., Khan, S., Khan, T., & Park, J. K. 2010. Physicochemical and mechanical characterization of bacterial cellulose produced with an excellent productivity in static conditions using a simple fed-batch cultivation strategy. *Carbohydrate Polymers*, 82(1), 173-180.
101. Shikhaliyeva, İ., 2015. Mezenkimal kök hücrelerin osteojenik farklılaşmasının bor katkılı HAp-kaplı kitosan doku iskelelerinde incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
102. Singh, A. K., Kewalramani, N., Mani, V., Sharma, A., Kumari, P., & Pal, R. P. 2021. "Effects of boric acid supplementation on bone health in crossbred calves under tropical condition", *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 63, 126647.
103. Singhal, S., Pradeep, A. R., Kanoriya, D., Garg, S., & Garg, V. 2018. "Boric acid gel as local drug delivery in the treatment of class II furcation defects in chronic periodontitis: A randomized, controlled clinical trial", *Journal of investigative and clinical dentistry*, 9, e12279.
104. Slaughter, B. V., Khurshid, S. S., Fisher, O. Z., Khademhosseini, A., & Peppas, N. A. 2009. "Hydrogels in regenerative medicine", *Advanced materials*, 21, 3307-3329.
105. Sofi, H. S., Akram, T., Shabir, N., Vasita, R., Jadhav, A. H., & Sheikh, F. A. (2021). Regenerated cellulose nanofibers from cellulose acetate: Incorporating hydroxyapatite (HAp) and silver (Ag) nanoparticles (NPs), as a scaffold for tissue engineering applications. *Materials Science and Engineering: C*, 118, 111547.
106. Song, H. J., Li, H., Seo, J. H., Kim, M. J., & Kim, S. J. 2009. Pilot-scale production of bacterial cellulose by a spherical type bubble column bioreactor using saccharified food wastes. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 26(1), 141-146.
107. Starch-Jensen, T., Deluiz, D., Bruun, N. H., & Tinoco, E. M. B. 2020. "Maxillary Sinus Floor Augmentation with Autogenous Bone Graft Alone Compared with Alternate Grafting Materials: a Systematic Review and Meta-Analysis Focusing on Histomorphometric Outcome", *Journal of oral & maxillofacial research*, 11.

108. Stumbras, A., Januzis, G., Gervickas, A., Kubilius, R., & Juodzbalsys, G. 2020. "Randomized and Controlled Clinical Trial of Bone Healing After Alveolar Ridge Preservation Using Xenografts and Allografts Versus Plasma Rich in Growth Factors", *Journal of Oral Implantology*, 46, 515-525.
109. Stumpf, T. R., Yang, X., Zhang, J., & Cao, X. 2018. In situ and ex situ modifications of bacterial cellulose for applications in tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 82, 372-383.
110. Swinger, S.; Gupta, A.; Heaselgrave, W.; Kowalczyk, M.; Radecka, I. 2019. "An investigation into the anti-microbial properties of bacterial cellulose wound dressings loaded with curcumin:hydroxypropyl- β -cyclodextrin supramolecular inclusion complex", *Access Microbiol*, 1, 19.
111. T.A. Devirian and S.L. Volpe. 2003. "The physiological effects of dietary boron", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43 , 219-231.
112. Tabata, Y., Yamada, K., Miyamoto, S., Nagata, I., Kikuchi, H., Aoyama, I., ... & Ikada, Y. 1998. "Bone regeneration by basic fibroblast growth factor complexed with biodegradable hydrogels", *Biomaterials*, 19, 807-815.
113. Tanskul, S., Amornthathree, K., & Jaturonlak, N. 2013. A new cellulose-producing bacterium, *Rhodococcus* sp. MI 2: Screening and optimization of culture conditions. *Carbohydrate polymers*, 92(1), 421-428.
114. Tazi, N., Zhang, Z., Messaddeq, Y., Almeida-Lopes, L., Zanardi, L. M., Levinson, D., & Rouabhia, M. 2012. Hydroxyapatite bioactivated bacterial cellulose promotes osteoblast growth and the formation of bone nodules. *Amb Express*, 2(1), 1-10.
115. Thoma, D. S., Jung, U. W., Park, J. Y., Bienz, S. P., Hüsler, J., & Jung, R. E. 2017. "Bone augmentation at peri-implant dehiscence defects comparing a synthetic polyethylene glycol hydrogel matrix vs. standard guided bone regeneration techniques", *Clinical oral implants research*, 28, e76-e83.
116. Toker, H., Ozdemir, H., Yuce, H. B., & Goze, F. 2016. "The effect of boron on alveolar bone loss in osteoporotic rats", *Journal of dental sciences*, 11, 331-337.
117. Toledano-Osorio, M., Manzano-Moreno, F. J., Ruiz, C., Toledano, M., & Osorio, R. 2021. "Testing Active Membranes for Bone Regeneration: a Review", *Journal of Dentistry*, 103580.

118. Torres, J., Tamimi, F., Martinez, P. P., Alkhraisat, M. H., Linares, R., Hernández, G., ... & López-Cabarcos, E. 2009. "Effect of platelet-rich plasma on sinus lifting: a randomized-controlled clinical trial", *Journal of clinical periodontology*, 36, 677-687.
119. Trovatti, E., Freire, C. S., Pinto, P. C., Almeida, I. F., Costa, P., Silvestre, A. J., ... & Rosado, C. 2012. "Bacterial cellulose membranes applied in topical and transdermal delivery of lidocaine hydrochloride and ibuprofen: in vitro diffusion studies", *International Journal of Pharmaceutics*, 435(1), 83-87.
120. Tunçay Ekin Ö. 2013. "Biyomimetik Yöntemle Bor Katkılı Doku İskelelerinin Geliştirilmesi ve Kemik Doku Mühendisliğindeki Etkinliklerinin Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. S. 4-7, Ankara.
121. Tuskan, C., & Yaltrık, M. 2002. "Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan biyomateryaller", *İÜ Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul*, 19-26.
122. Ulu, M., Kütük, N., Cıçık, M. F., Bilge, S., Akçay, H., Saygılı, S., ... & Alkan, A. 2018. "Effects of boric acid on bone formation after maxillary sinus floor augmentation in rabbits", *Oral and maxillofacial surgery*, 22, 443-450.
123. Von Burg, R. 1992. "Boron, boric acid, borates and boron oxide", *Journal of applied toxicology*, 12, 149-152.
124. Wallace, S. S., Froum, S. J., Cho, S. C., Elian, N., Monteiro, D., Kim, B. S., & Tarnow, D. P. 2005. "Sinus augmentation utilizing anorganic bovine bone (Bio-Oss) with absorbable and nonabsorbable membranes placed over the lateral window: histomorphometric and clinical analyses", *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 25
125. Wang, Y., Yuan, X., Yu, K., Meng, H., Zheng, Y., Peng, J., ... & Qiao, K. 2018. "Fabrication of nanofibrous microcarriers mimicking extracellular matrix for functional microtissue formation and cartilage regeneration", *Biomaterials*, 171, 118-132.
126. Wasim, M., Khan, M. R., Mushtaq, M., Naeem, A., Han, M., & Wei, Q. (2020). Surface modification of bacterial cellulose by copper and zinc oxide sputter coating for UV-resistance/antistatic/antibacterial characteristics. *Coatings*, 10(4), 364.
127. Watanabe, K., Niimi, A., & Ueda, M. 1999. "Autogenous bone grafts in the rabbit maxillary sinus", *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 88, 26-32.

128. Wojda, S. J., Marozas, I. A., Anseth, K. S., Yaszemski, M. J., & Donahue, S. W. 2020. "Thiol-ene Hydrogels for Local Delivery of PTH for Bone Regeneration in Critical Size defects", *Journal of Orthopaedic Research®*, 38, 536-544.
129. Woo, I., & Le, B. T. 2004. "Maxillary sinus floor elevation: review of anatomy and two techniques", *Implant dentistry*, 13, 28-32.
130. Yamamoto, M., Takahashi, Y., & Tabata, Y. 2006. "Enhanced bone regeneration at a segmental bone defect by controlled release of bone morphogenetic protein-2 from a biodegradable hydrogel", *Tissue engineering*, 12, 1305-1311.
131. Yildirim, M., Spiekermann, H., Biesterfeld, S., & Edelhoff, D. 2000. "Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss® in combination with venous blood: A histologic and histomorphometric study in humans", *Clinical oral implants research*, 11, 217-229.
132. Ying, X., Cheng, S., Wang, W., Lin, Z., Chen, Q., Zhang, W., ... & Zhu Lu, C. 2011. "Effect of boron on osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells", *Biological trace element research*, 144, 306-315.
133. Yoshikawa, H., Nakase, T., Myoui, A., & Ueda, T. 2004. "Bone morphogenetic proteins in bone tumors", *Journal of Orthopaedic Science*, 9, 334-340.
134. Zang, S., Zhuo, Q., Chang, X., Qiu, G., Wu, Z., & Yang, G. 2014. "Study of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells (HASCs) on bacterial cellulose", *Carbohydrate polymers*, 104, 158-165.
135. Zeng M, Laromaine Sagué A, Roig Serra A. 2014. "Bacterial cellulose: fabrication, characterization and biocompatibility studies", Autonomous University of Barcelona; 148.
136. Zhang, S., Guo, Y., Dong, Y., Wu, Y., Cheng, L., Wang, Y., ... & Yuan, Q. 2016. "A novel nanosilver/nanosilica hydrogel for bone regeneration in infected bone defects", *ACS applied materials & interfaces*, 8, 13242-13250.
137. Zhang, W., Wang, X. C., Li, X. Y., & Jiang, F. 2020. "A 3D porous microsphere with multistage structure and component based on bacterial cellulose and collagen for bone tissue engineering", *Carbohydrate polymers*, 236, 116043.



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük

Sayı : E-75296309-050.01.04-2100138322
Konu : HADYEK Kararı.

01.06.2021

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 27.04.2021 tarihli ve E-25330273-929-2100114965 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazımız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 27.05.2021 tarihli ve 4 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 120 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu: A74797B967D

Belge Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/ataturk-universitesi-ebys>

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik A : <http://www.atauni.edu.tr/#birim-veteriner-fakultesi>
Kop Adresi: atauni@hs01.kap.tr

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vutfak@atauni.edu.tr



TOPLANTI TARİHİ : 27.05.2021

TOPLANTI SAYISI : 4

KARAR N0 120: Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı, Klinik Diş Hekimliği Bölümü, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Songül CÖMERT KILIÇ'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **“Deneysel Maksiller Sinüs Augmentasyonunda, Bakteriyel Selülozun Tek Başına ve Ksenogreftle Birlikte Kullanılmasının Aynı Zamanda Ksenogreft ve Bakteriyel Selüloza Eklenen PRP, HIF-1α ve borik asit İçeren Bioaktif Ajanların Kemik Rejenerasyonu Üzerindeki Etkinliklerinin Karşılaştırmalı Olarak Histolojik, Histomorfometrik ve İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi: Bir Tavşan Çalışması”** isimli araştırma çalışması ile ilgili Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığının 27.04.2021 tarihli ve E-25330273-929-2100114965 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

Atatürk University

LOCAL ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL STUDIES

CERTIFICATE FOR USE OF ANIMALS IN EXPERIMENTAL STUDIES

Songül CÖMERT KILIÇ

is awarded to participate 40 hours teaching and 40 hours practice (Category B) certificate use of animals in experimental studies course organized according to "Working Rules and Conditions for Ethical Committees in Charge of Animal Studies" (2007/11) regulations of the Ministry of Forestry and Water Affairs.

Certificate Number: 235
Date: 19/09/2014


Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
President of the Local Ethical
Committee for Animal Studies


Prof. Dr. Hikmet KOÇAK
Rector

ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ

Atatürk Üniversitesi

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

Songül CÖMERT KILIÇ

Orman ve Su İşleri Bakanlığı tarafından belirlenen Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programına dair genelge (2007/11)'ye uygun olarak düzenlenen 40 saat teorik + 40 saat pratik (Kategori B) eğitimini başarı ile tamamlayarak bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

Belge No: 235
Tarih: 19/09/2014

Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Hayvan Deneyleri
Yerel Etik Kurul Başkanı



Prof. Dr. Hikmet KOÇAK
Rektör

ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ