



TC.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**OVARİYEKTOMİ UYGULANMIŞ RATLARDA GENİSTEİNİN
TİTANYUM İMPLANTLARIN OSSEOİNTEGRASYON DÜZEYİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Cansu Büşra UZUN

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Serkan DÜNDAR

**Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
DHF.18.05 nolu proje numarası ile desteklenmiştir.**

ELAZIĞ, 2021

ONAY SAYFASI

.....

Prof. Dr. Filiz ACUN KAYA

Diş Hekimliği Fak. Dekanı

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Filiz ACUN KAYA

Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Serkan DÜNDAR _____

Danışman

Uzmanlık Tez Değerlendirme Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Filiz ACUN KAYA _____

Doç. Dr. Serkan DÜNDAR _____

Doç. Dr. Tuba TALO YILDIRIM _____

Dr. Öğr. Üyesi Arife ÇİÇEK _____

Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Fatih ÖZÜPEK _____



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Cansu Büşra UZUN

İmza

Doç. Dr. Serkan DÜNDAR

Danışman

Periodontoloji Anabilim Dalı

ELAZİĞ

İTHAF

Biricik yeğenim Kaan Kadir UZUN'a



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle her zaman desteğini hissettiğim, teorik ve pratik olarak üzerimde büyük emeği olan, tezimin her aşamasında rehberlik edip yardımını esirgemeyen Değerli Hocam Doç. Dr. Serkan DÜNDAR'a sonsuz teşekkür, saygı ve şükranlarımı sunarım. Uzmanlık eğitimim sonunda tanıştığım, bilgi ve tecrübelerini esirgmeden bu kısa süre zarfında bize aktaran ve mesleki vizyonumuzu genişleten Dekanımız ve Anabilim Dalı Başkanımız çok Kıymetli Hocam Prof. Dr. Filiz ACUN KAYA'ya, uzmanlık eğitimimin başından sonuna kadar kendilerinden çok şey öğrendiğim, hiçbir konuda bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Değerli Hocam Doç. Dr. Tuba TALO YILDIRIM'a ve Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Alihan BOZOĞLAN'a sonsuz teşekkür, saygı ve şükranlarımı sunarım. Fırat Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Kliniği asistanları, hemşireleri ve diğer çalışanlarına, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanları ve personellerine çalışmam sırasındaki yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım. Bu tez çalışmasını DHF.18.05 no'lu proje ile destekleyen FÜBAP'a ve tüm deney süresince desteğini ve yardımlarını esirgemeyen zamansız bir şekilde aramızdan ayrılan Suat DOĞAN'a ve tüm FÜDAM personellerine desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Bu günlere gelmemde büyük emeği olan, tüm kararlarımda, doğrularımda ve yanlışlarımda arkamda duran, beni her zaman maddi ve manevi destekleyen Annem, Babam ve Abime şükranlarımı sunarım. Son olarak tüm çalışma arkadaşlarım, dostlarım ve sevdiklerime, teşekkür ederim.

Arş. Gör. Cansu Büşra UZUN

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	II
ETİK BEYAN	III
İTHAF	IV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLO LİSTESİ	X
RESİM LİSTESİ	XI
ŞEKİL LİSTESİ	XII
KISALTMALAR	XIII
1. ÖZET	1
2.ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Genel Bilgiler	6
3.1.1. Diş İmplantları	6
3.1.1.1. Diş İmplant Tanımı ve Tarihçesi	6
3.1.1.2. Diş İmplantlarının Sınıflandırılması	8
3.1.1.2.1. Yerleştirildikleri Yere Göre Sınıflama	8
3.1.1.2.2.İmplant Şekillerine Göre Sınıflama	8
3.1.1.2.3. Kullanılan Materyale Göre Sınıflama	9
3.1.1.2.4. Yüzey Özelliklerine Göre İmplantların Sınıflandırılması	9
3.1.1.3. İmplant Materyalleri	10
3.1.1.3.1. İmplant Materyallerinde Aranılan Özellikler	11
3.1.1.4. Diş İmplant Tasarımı	12
3.1.1.5. Diş İmplant Yüzey Morfolojisi	13
3.1.1.5.1. Diş İmplant Yüzey Özellikleri	15
3.1.1.5.2.Yüzey işlem yöntemleri	15
3.1.1.5.2.1.Tornalanmış-makine yüzeyli (Cilalı) diş implantları	15
3.1.1.5.2.2. Kumlama ile Pürüzlendirme (blasting)	16
3.1.1.5.2.3. Asitle Dağlayarak (asit etching) Pürüzlendirme	17
3.1.1.5.2.4. Kumlanmış ve Asitlenmiş (SLA) İmplant Yüzeyi	18

3.1.1.5.2.5. SLActive Yüzey	19
3.1.1.5.2.6. Oksitlenmiş Yüzeyler	20
3.1.1.5.2.7. Plazma Sprey Kaplı Yüzeyler	20
3.1.1.5.2.8. Eriyebilen Materyalle Püskürtme İşlemi (EMP)	21
3.1.1.5.2.9. Kalsiyum fosfat (CaP) kaplı yüzeyler	21
3.1.1.5.2.10. Hidroksi apatit (HA) Kaplı Yüzeyler	22
3.1.1.5.2.11. Trikalsiyum Fosfat (TCP) Kaplı Yüzeyler	23
3.1.1.5.2.12. Lazerle Pürüzlendirilmiş Yüzeyler	23
3.1.2. Kemik Dokusu ve Metabolizması	24
3.1.2.1. Sağlıklı Kemik Dokusu	24
3.1.2.2. Kemik Hücreleri	26
3.1.2.2.1. Osteoblastlar	26
3.1.2.2.2. Osteoklastlar	27
3.1.2.2.3. Osteositler	30
3.1.2.2.4. Osteoprogenitör Kök Hücreler	30
3.1.3. Kemik Gelişimi, Kemiğin Yapılanması ve Kemiğin Tekrar Yapılanması	30
3.1.3.1. Kemiğin Yapılanması	32
3.1.3.2. Kemiğin Yeniden Yapılanması	34
3.1.3.3. Yeniden Yapılanmanın Aktivasyon Aşaması	35
3.1.3.4. Yeniden Yapılanmanın Rezorpsiyon Aşaması	36
3.1.3.5. Yeniden Yapılanmanın Geri Dönüş Aşaması	36
3.1.3.6. Yeniden Yapılanmada Oluşum Aşaması	37
3.1.3.7. Yeniden Yapılanmada Mineralizasyon Aşaması	38
3.1.3.8. Yeniden Yapılanmada Dinlenme Aşaması	39
3.1.3.9. Doruk Kemik Kütlesi	40
3.1.4. Kemik Döngüsünün Biyokimyasal Belirteçleri	42
3.1.4.1. Kemik Yapımının Biyokimyasal Belirteçleri	44
3.1.4.2. Kemik Yıkımının Biyokimyasal Belirteçleri	45
3.1.5. Kemik Yoğunluğu Sınıflaması	49
3.1.6. Osseointegrasyon	50
3.1.6.1. Yara İyileşme Aşamaları	51

3.1.6.2. Osseointegrasyon Süreci ve Bu Süreci Etkileyen Faktörler	53
3.1.7. Osteoporoz	54
3.1.7.1. Osteoporozun Sınıflandırılması	56
3.1.7.1.1. Primer Osteoporoz	57
3.1.7.1.2. Sekonder Osteoporoz	58
3.1.7.2. Osteoporozun Epidemiyolojisi	58
3.1.7.3. Osteoporozda Klinik Bulgular	62
3.1.7.4. Osteoporozda Tanı Yöntemleri	63
3.1.7.4.1. Görüntüleme	63
3.1.7.4.1.1. Direkt Radyografik İncelemeler	63
3.1.7.4.1.2. Kemik Sintigrafisi	64
3.1.7.4.1.3. Ultrasonografi	64
3.1.7.4.1.4. Absorbsiyometrik Yöntemler	64
3.1.7.4.1.4.1. Dual Enerji X-Ray Absorbsiyometri (DEXA)	65
3.1.7.4.1.4.2. Single Foton Absorbsiyometri (SPA)	66
3.1.7.4.1.4.3. Dual Foton Absorbsiyometri (DPA)	66
3.1.7.4.1.4.4. Single Enerji X-Ray Absorbsiyometri (SEXA)	67
3.1.7.4.1.4.5. Kantitatif Kompüterize Tomografi (QCT)	67
3.1.7.4.1.5. Manyetik Rezonans Görüntüleme	67
3.1.7.4.2. Laboratuvar Tetkikleri	68
3.1.8. Osteoporozda Tedavi Yaklaşımları	68
3.1.8.1. Farmakolojik Olmayan Tedavi Yaklaşımı	69
3.1.8.2. Farmakolojik Tedavi Yaklaşımı	69
3.1.8.2.1. Kemik Yıkımını Azaltan İlaçlar (yıkım önleyici etkenler) :	69
3.1.8.2.2. Kemik Yapımını Uyaran İlaçlar (yapım etkisi olan etkenler):	72
3.1.8.3. Osteoporoz Tedavisinin Geleceği	73
3.1.8.4. Osteoporozun İmplant Osseointegrasyonuna Etkisi	74
3.1.8.4.1. Diş İmplantlarında Stabilitate Tayini	75
3.1.9. Fitoöstrojenler	76
3.1.9.1. Genistein	78
3.1.9.1.1. Profilaksi ve Tedavide Genistein	83
3.1.9.1.2. Meme ve Prostat kanseri	84

3.1.9.1.3. Polikistik Over Sendromu	85
3.1.9.1.4. Kardiovasküler Hastalıklar	85
3.1.9.1.5. Genisteinin Olumsuz Etkileri	86
3.1.9.1.6. Menopoz ve Postmenopozal Osteoporoz	87
4. GEREÇ VE YÖNTEM	90
4.1. Deney Hayvanları ve Deneysel Düzenek	90
4.2. Overiyektomi işlemi	93
4.3. İmplantların Cerrahi Yöntemle Yerleştirilmesi	95
4.4. Hayvanların Beslenmesi	99
4.5. Kan Örneklerinin Alınması	101
4.6. Serum Örneklerinin Biyokimyasal Analizleri	101
4.7. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	102
4.8. Dekalsifiye edilmemiş histomorfometrik değerlendirme	102
4.8. Kemik implant kaynaşması (KİK) analizleri	103
4.9. Yiv doluluk yüzdesi (YDY) analizleri	104
4.10. Kemik Yoğunluğunun Değerlendirilmesi	105
4.11. İstatistiksel İncelemeler	106
5. BULGULAR	107
6. TARTIŞMA	119
7. SONUÇ VE ÖNERİLER	133
8. KAYNAKLAR	135
9. EKLER	155
10. ÖZGEÇMİŞ	156

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Doruk Kemik Kütlesi ilişkili parametreler ve etki seviyeleri	41
Tablo 2. Dünya Sağlık Örgütü osteoporoz tanımı	55
Tablo 3. Tip I ve Tip II osteoporoz	58
Tablo 4. T skor sınıflaması(DSÖ sınıflaması)	66
Tablo 5. Gruplar arasında ALP, Ca, Fosfor, AST ve ALT parametrelerinin değerlendirilmesi	107
Tablo 6. Gruplar arasında KİK ve YDY parametrelerinin değerlendirilmesi	111
Tablo 7. Gruplar arasında çene ve femur parametrelerinin değerlendirilmesi	117

RESİM LİSTESİ

Resim 1.	Cerrahi alanın tıraş edilmesi ve transvers yönde insizyonla karın boşluğunun açılması.	93
Resim 2.	Overlerin diseke edilerek çift taraflı eksize edilmesi.	94
Resim 3.	Karın duvarı, ciltaltı ve cildin 5/0 vicryl ile ayrı ayrı dikilerek yaranın primer kapatılması.	94
Resim 4.	15 nolu bistüri ve implant taşıma parçası.	95
Resim 5.	15 nolu bistüri ile sağ tibia kemiğinin sırtında kesi yapılması.	96
Resim 6.	İmplant yuvasının hazırlanması.	97
Resim 7.	Hazırlanan implant yuvası.	97
Resim 8.	Hazırlanan implant yuvasına özel taşıma parçasıyla implantın yerleştirilmesi.	98
Resim 9.	Periost ve yumuşak dokuların 4-0 ipek suturela kapatılması.	98
Resim 10.	Antibiyotik (40 mg/kg sefalosporin) ve analjeziğin (0.1 mg/kg tramadolhidroklorid) intramusküler enjeksiyonu.	99
Resim 11.	En az %98 genistein içeren Bonistein	100
Resim 12.	Bonisteinin tartıldığı hassas tartı.	100
Resim 13.	Kanların santrifüj edildiği NF 200 santrifüj cihazı.	101
Resim 14.	KİK ölçümü yapılması 4x optik büyütme	104
Resim 15.	YDY ölçümü için bir yiv boşluğundaki kemik alanının hesaplanması	105
Resim 16.	Çene ve sağ femurların kemik mineral yoğunluklarının kaydedilmesi.	106
Resim 17.	Kontrol-İmplant grubunun yukarıdan aşağıya sırasıyla 2x, 4x, 10x (x=10 kat) büyütmedeki histolojik kesit görüntüleri.	113
Resim 18.	Ovariyektomi-İmplant grubunun yukarıdan aşağıya sırasıyla 2x, 4x, 10x (x=10 kat) büyütmedeki histolojik kesit görüntüleri.	114
Resim 19.	Ovariyektomi-İmplant-Genistein grubunun yukarıdan aşağıya sırasıyla 2x, 4x, 10x (x=10 kat) büyütmedeki histolojik kesit görüntüleri.	115
Resim 20.	İmplant-Genistein grubunun yukarıdan aşağıya sırasıyla 2x, 4x, 10x (x=10 kat) büyütmedeki histolojik kesit görüntüleri.	116

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Osteoklast farklılaşması ve farklılaşmada etkili olan moleküller	28
Şekil 2.	OPG RANK RANKL etkileşiminin osteoklast farklılaşmasındaki rolü	29
Şekil 3.	Kemikte Yıkım Bölgesine Tutunmuş Osteoklast Hücresi	29
Şekil 4.	Mekanostat teorisi	31
Şekil 5.	Kemikte kullanım durumu ve dirence bağlı olarak yapılanma işlemi	33
Şekil 6.	Yeniden yapılanmanın aktivasyon, rezorpsiyon, geri dönüş, oluşum, dinlenme aşamaları ve bu aşamalarda görev alan hücreler	40
Şekil 7.	Kadın ve erkekte yaş-kemik kütlesi ilişkisi	42
Şekil 8.	Osseointegrasyonu etkileyen endojen faktörler	54
Şekil 9.	Osseointegrasyonu etkileyen eksojen faktörler	54
Şekil 10.	Normal ve osteoporotik kemik	55
Şekil 11.	OPG/RANK/RANKL sistemi	62
Şekil 12.	İmplant stabilite tayini, invaziv olmayan ve olan yöntemler	75
Şekil 13.	17- β estradiol ve genisteinin kimyasal yapısı	79
Şekil 14.	Genisteinin adipogeneze ve osteogeneze doza bağımlı etkisi	81
Şekil 15.	Genisteinin osteoblast ve osteoklast hücreleri ve bunların öncüleri üzerindeki potansiyel etkilerinin şematik gösterimi.	81
Şekil 16.	Deneysel çalışma düzeneği	92
Şekil 17.	Grupların ALP düzeylerinin grafiklerle gösterilmesi.	108
Şekil 18.	Grupların Ca düzeylerinin grafiklerle gösterilmesi.	108
Şekil 19.	Grupların fosfor düzeylerinin grafiklerle gösterilmesi.	109
Şekil 20.	Grupların AST düzeylerinin grafiklerle gösterilmesi.	110
Şekil 21.	Grupların ALT düzeylerinin grafiklerle gösterilmesi.	111
Şekil 22.	Grupların KİK düzeylerinin grafiklerle gösterilmesi.	112
Şekil 23.	Grupların YDY düzeylerinin grafiklerle gösterilmesi.	112
Şekil 24.	Grupların çene KMY'nin grafiklerle gösterilmesi.	117
Şekil 25.	Grupların femur KMY'nin grafiklerle gösterilmesi.	118

KISALTMALAR

°C	: Derece Santigrat
µm	: Mikrometre
µM	: Mikromolar
Al₂O₃	: Alumina
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferans
ark.	: Arkadaşları
AST	: Aspartat Aminotransferans
ATP	: Adenozin Trifosfat
BH	: Büyüme hormonu
BUA	: Broadband Ultrasonic Attenuation
Ca	: Kalsiyum
CaP	: Kalsiyum Fosfat
CD4+	: Yardımcı T hücresi
CD8+	: Sitotoksik T hücresi
CL	: Klor
cm	: Santimetre
cm³	: Santimetre küp
CO₂	: Karbondioksit
Cu	: Bakır
DEXA	: Çift Enerjili X Işını Absorpsiyometrisi
DKK	: Doruk Kemik Kütlesi
dl	: Desilitre
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPA	: Dual Foton Absorbsiyometri
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EMP	: Eriyebilen Materyalle Püskürtmeli Yüzey
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi
H⁺	: Hidrojen İyonu

H₂SO₄	: Sulfirik Asit
HA	: Hidroksiapatit
HCl	: Hidroklorik Asit
HCO₃	: Bikarbonat
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (High Density Lipoprotein)
HF	: Hidrojen Florür
HNO₃	: Nitrik Asit
IL-1	: İnterlökin
İBBF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
İGF	: İnsan Gingival Fibroblast
K-ALP	: Kemiğe Özgü Olan Alkalen Fosfataz
kcal /mol	: Kilo Kalori Bölü Mol
kg/m²	: Kilogram bölü metrekare
KİK	: Kemik İmplant Kaynaşması
KMY	: Kemik Mineral Yoğunluğu
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
M	: Molar
M-CSF	: Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
Mn	: Manganez
MR	: Manyetik Rezonans
nm	: Nanometre
nM	: Nanomolar
OH	: Hidroksit
OPG	: Osteoprotegerin
ÖR	: Östrojen Reseptörleri
P	: Fosfor
PAS	: Periodik Asit Şeması
PCa	: Prostat Kanseri İnsidansı
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

PGE2	: Prostoglandin E2
PICP	: Prokollagen Tip Propeptid
PO₄	: Fosfat
PPAR	: Peroksizom Proliferatör ile Aktive Edilmiş Reseptör
PTH	: Paratiroid/Parat hormon
PTHrP	: Paratiroid Hormonla İlişkili Protein
PTK	: Protein Tirozin Kinaz
QCT	: Dual Enerji Kantitatif Kompüterize Tomografi
RANK	: Nükleer Faktör Kappa β Ligand Reseptör Aktivatörü (Receptor activator of nuclear factor kappa-B)
RANKL=OPGL=ODF	: Nükleer Faktör Kappa β Ligand Reseptör Aktivatörü Ligandı (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı (Revolutions Per Minute)
SD	: Standart Sapma (Standart Deviation)
SEXA	: Single Enerji X-ray Absorbsiyometri
SLA	: Kumlanmış ve Asitlenmiş (Sand-blasted, Acid-etched)
SOS	: Speed of Sound
SPA	: Single Foton Absorbsiyometri
TCP	: Trikalsiyumfosfat
TGF-α	: Tromboksan, Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta
TiAl₆V₄	: Saf Titanyum ve Alaşımları
TiF₄	: Titanyum Tetraflorür
TiO₂	: Titanyum Dioksit
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TNFL	: Tümör Nekroz Faktör Ligandı
TPS	: Titanyum Plazma Sprey
U/L	: Ünite / Litre
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
YDY	: Yiv Doluluk Yüzdesi
Zn	: Çinko
μg	: Mikrogram

1. ÖZET

Osteoporozlu bireylerin diş implantı tedavisinde yeterli osseointegrasyon elde edilemeyebilir. Genistein osteoporoz tedavisinde kullanılan bir fitoöstrojendir.

Bu çalışmanın amacı genistein desteğinin, ovariyektomi uygulanan deneklerde titanyum implantların osseointegrasyon düzeyi üzerine etkisinin histolojik incelenmesidir. Bu amaç doğrultusunda denekler; Kontrol Grubu (n=8), Kontrol-İmplant Grubu (n=8), Ovariyektomi-İmplant Grubu (n=8), Ovariyektomi-İmplant-Genistein Grubu (n=8), İmplant-Genistein Grubu (n=8) olmak üzere 5 eşit gruba ayrıldı. Deneklerin tamamı 3 ay sonunda sakrifiye edildi. Deneklerden alınan kan örneklerinden alkalen fosfataz (ALP), kalsiyum (Ca), fosfor (P), aspartat aminotransferans (AST), alanin aminotransferans (ALT) analizleri yapıldı. Örneklerin kemik implant kaynaşması (KİK) ve yiv doluluk yüzdesi (YDY) dekalsifiye edilmemiş histolojik analiz yöntemine göre analiz edildi. Deneklerin çene ve femur kemik mineral yoğunluğu çift enerjili X ışını absorpsiyometrisi (DEXA) ile değerlendirildi.

İmplant genistein grubunun ALP düzeyleri, diğer gruplardan düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol grubunun Ca düzeyleri, Ovariyektomi-İmplant ve Ovariyektomi-İmplant-Genistein gruplarından yüksek bulunmuştur. ($p<0.05$). Kontrol grubu fosfor düzeyleri, Ovariyektomi-İmplant ve Ovariyektomi-İmplant-Genistein gruplarından yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ovariyektomi-İmplant grubunun fosfor düzeyleri, Ovariyektomi-İmplant-Genistein ve İmplant-Genistein gruplarından düşük bulunmuştur ($p<0.05$). İmplant-Genistein grubunun ALT düzeyleri, Kontrol, Kontrol-İmplant, Ovariyektomi-İmplant ve Ovariyektomi-İmplant-Genistein gruplarından düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol-İmplant

grubunun KİK düzeyleri, Ovariyektomi-İmplant, Ovariyektomi-İmplant-Genistein ve İmplant-Genistein gruplarından istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ovariyektomi-İmplant grubunun KİK düzeyleri, Ovariyektomi-İmplant-Genistein ve İmplant-Genistein gruplarından düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol grubunun çene kemik mineral yoğunluğu (KMY), Ovariyektomi-İmplant ve İmplant-Genistein gruplarından yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ovariyektomi-İmplant-Genistein grubunun çene kemik mineral yoğunluğu (KMY), Ovariyektomi-İmplant ve İmplant-Genistein gruplarından istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Çalışmamızın verileri incelendiğinde genisteinin ovariyektominin kemik üzerindeki olumsuz etkilerini iyileştirebileceği ve osseointegrasyonu arttırabileceği ifade edilebilir.

Anahtar Kelimeler: : osseointegrasyon, ovariyektomi, osteoporoz, fitoöstrojen, genistein

2.ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF GENISTEIN ON OSSEOINTEGRATION LEVEL OF TITANIUM IMPLANTS IN OVARIECTOMISED RATS

Adequate osseointegration may not be achieved in the dental implant treatment of individuals with osteoporosis. Genistein is a phytoestrogen used in the treatment of osteoporosis.

The aim of this study is to histologically examine the effect of genistein supplementation on the osseointegration level of titanium implants in subjects undergoing ovariectomy. For this purpose, the subjects; Being Control Group (n = 8), Control-Implant Group (n = 8), Ovariectomy-Implant Group (n = 8), Ovariectomy-Implant-Genistein Group (n = 8), Implant-Genistein Group (n = 8) It was divided into 5 equal groups. All subjects were sacrificed at the end of 3 months. Alkaline phosphatase (ALP), calcium (Ca), phosphorus (P), aspartate aminotransference (AST), alanine aminotransference (ALT) analyzes were performed from blood samples taken from the subjects. Bone implant contact (BIC) and thread filling percentage (%) of the samples were analyzed according to the non-decalcified histological analysis method. The jaw and femur bone mineral density of the subjects were evaluated by dual energy X-ray absorptiometry (DEXA).

ALP levels of implant genistein group were lower than other groups ($p < 0.05$). Ca levels of the control group were higher than the Ovariectomy-Implant and Ovariectomy-Implant-Genistein groups. ($p < 0.05$). Phosphorus levels in the control group were found higher than the Ovariectomy-Implant and Ovariectomy-Implant-Genistein groups ($p < 0.05$). Phosphorus levels of the Ovariectomy-Implant group

were lower than the Ovariectomy-Implant-Genistein and Implant-Genistein groups ($p < 0.05$). ALT levels of the Implant-Genistein group were lower than the Control, Control-Implant, Ovariectomy-Implant and Ovariectomy-Implant-Genistein groups ($p < 0.05$). The ICB levels of the Control-Implant group were statistically higher than the Ovariectomy-Implant, Ovariectomy-Implant-Genistein and Implant-Genistein groups ($p < 0.05$). ICB levels of the Ovariectomy-Implant group were lower than the Ovariectomy-Implant-Genistein and Implant-Genistein groups ($p < 0.05$). The jaw bone mineral density (BMD) of the control group was higher than the Ovariectomy-Implant and Implant-Genistein groups ($p < 0.05$). The jaw bone mineral density (BMD) of the Ovariectomy-Implant-Genistein group was statistically higher than the Ovariectomy-Implant and Implant-Genistein groups ($p < 0.05$).

When the data of our study are examined, it can be stated that genistein can improve the negative effects of ovariectomy on the bone and increase osseointegration.

Keywords: osseointegration, ovariectomy, osteoporosis, phytoestrogen, genistein

3. GİRİŞ

Diş kaybı ile ilgili problemler fonksiyonel ve estetik açıdan insanlığı yüzyıllardır rahatsız etmektedir. Eski zamanlardan beri, eksik bir dişin yerini tutacak çözümler aranmıştır. Başlangıçta, fildişi, kemik, metaller ve değerli taşlar da dahil olmak üzere çok çeşitli malzemeler kullanılarak doğal dişin anatomik bir kopyası hazırlanmıştır. Ünlü cerrah Ambrosius Paré (1517-1590) yeni çekilmiş çürük olmayan dişleri bile bunun için kullanmıştır (1). Günümüzde diş implantları, çiğneme ve konuşma fonksiyonunu zayıflatan, estetiği olumsuz yönde etkileyen kısmi ve tam dişsizliğin tedavisinde önemli bir tedavi seçeneği olarak yer almaktadır (2).

Osseointegrasyon, fonksiyonel yükleme sırasında alloplastik materyallerin klinik olarak asemptomatik rijit fiksasyonunun sağlandığı ve korunduğu zamana bağlı iyileşme süreci olarak tanımlanmaktadır (3). Cerrahi konular, kemik kalitesi ve miktarı, hastaların beslenme durumu gibi konakçı ile ilişkili faktörler dahil olmak üzere diş implantlarının osseointegrasyonunu etkileyen çeşitli faktörler vardır. Birçok mikro besin, diş çekimi sonrası diş çevresi kemik iyileşmesi gibi bazı alveolar kemik parametrelerini etkileyerek diş implant osseointegrasyonunda önemli bir rol oynayabilir (4).

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi ve kemik dokusunun mikro mimarinin bozulmasının sonucunda kemik kırılabilirliğinde artış ve kırılmaya yatkınlık ile karakterize sistemik bir iskelet hastalığı olarak tanımlanmıştır. Trabeküler ve kortikal kemikte kütleli kemik kaybına neden olan osteoporoz, diğer vücut kemiklerini etkilediği gibi çene kemiklerini de etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda osteoporozun özellikle trabeküler kemikte kemik implant kaynaşmasını olumsuz

yönde etkilediği gösterilmiştir. Bu yüzden osteoporoz diş implantları için göreceli bir kontrendikasyon olarak kabul edilmektedir (5).

Fitoöstrojenler östrojene benzer kimyasal yapıya sahip geniş bir heterosiklik fenol grubudur. Bitkilerde bol miktarda bulunan fitoöstrojenler, insan sağlığının çeşitli yönlerini etkileyebilecek diyet bileşeni olarak artan bir ilgi görmüştür. Fitoöstrojenlerin osteoporuzu önleyebileceği son zamanlarda ortaya konulmuştur. Postmenopozal kadınların ve osteoporotik deney hayvanlarının kemiğinde, sentetik fitoöstrojen uygulamasının kemik dokusuna olumlu etkisi gösterilmiştir (6, 7). Bir fitoöstrojen olarak görev yapan genistein tipik bir soya fasulyesi isoflavonudur (8).

Bu çalışmanın amacı bir fitoöstrojen olan genisteinin, ovariyektomi yapılan ratların tibiyalarına uygulanan titanyum implantlarda kemik implant kaynaşması düzeyine etkisinin incelenmesidir.

3.1. Genel Bilgiler

3.1.1. Diş İmplantları

3.1.1.1. Diş İmplant Tanımı ve Tarihçesi

Latince “in: içersine, içersinde” ve “planto: ekme, yerleştirme, dikme, gömme” anlamına gelir ve bu sözcüklerin birleştirilmesinden “İmplant” sözcüğü oluşmuştur (8). Bu sözcüğün anlamı ise; fonksiyon elde etmek için uygun olan yere yerleştirilen organik veya inorganik cisme verilen addır (9).

Diş implantları; ağız bölgesinde diş kaybına uğrayan yerleri tamamlayarak diş eksikliğini gidermeye yönelik, çene kemiği içine, üzerine veya mukozaya yerleştirilen ve dişin yerini tutması amaçlanan yapılardır (10, 11). Bu amaçlarla implant maddesi olarak tarih boyunca çekilmiş dişler, fil dişi, kurumuş kemik, tahta

parçaları, altın, altın teller, gümüş alaşımları kullanılmıştır (9). Milattan önce 3216 ve 2637 yıllarında akapunktur, altın ve gümüş iğneler, diş reimplantasyonları gibi diş implantlarına yönelik en eski bilgiye rastlanmaktadır (12). Türkiye’de ise en eski kanıtlara İzmir yakınlarında Kalabak Metropolis’te ulaşılmıştır. Milattan önce 550 yıllarına ait kalıntılarda bulunan başta takıya benzetilen objelerin üst kaninlere benzeyen dişler olduğu anlaşılmıştır (13, 14).

Reimplantasyon 16. Yüzyıldan 19. Yüzyıla kadar popülerliğini sürdürmüş, başarısız vakaların duyulması ve tranplantasyonla bulaşıcı hastalıkların taşınması yüzünden bundan vazgeçilmiştir ve böylece alloplastik implant devri başlamıştır (9). İlk defa 1938’de Strock, içi dolu vida şeklinde kemik içi olarak tanımlanan bir implant geliştirmiştir ve ardından aynı araştırmacı 1940’ta yine ilk defa endodontik implantı geliştirmiştir (15). İlk supperiosteal implantı 1938’de Dahl geliştirmiştir (15). Kemiğin implant yivleri arasına ilerlemesi ve tutuculuk sağlaması için 1947 yılında Formiggini içi boş vida şeklinde implantı tasarlamıştır (16).

Solier ve ark.’nın 1953 yılında yaptıkları çalışmada, kemik içi implantların dikey olarak boyunu uzatarak, implantın kemiği delip geçtikten sonra sabitlenmesi prensibine dayalı olan transosseoz implantı geliştirmişlerdir (17). Birçok histolojik çalışmalar yapan Peron-André, bu çalışmaların sonunda implantın kıvrımlarında bir kemik kaynaşması olduğunu ifade etmiştir ve bu implantın kemik ile kaynaşmasından ilk bahsedilişidir (15).

İlk modern implant cerrahisi, 1960 yılında Bränemark tarafından yapılmıştır. Bränemark ve ark. yaptıkları çalışmayla, kemik ve implant arasındaki fonksiyonel ve yapısal birleşmeyi tanımlamışlar ve ‘osseointegrasyon’ terimini böylece literatüre kazandırmışlardır (11). 1969 yılında Branemark tarafından diş implantlarının

titanyumdan üretilmesiyle geliştirilen diş implantı ve kemik dokusu arasındaki biyouyum, tüm dünyada kabul görmüştür (18). Diş implantı üretiminde ilk sırada tercih edilen metal, titanyum ve alaşımları olmuştur. Bunun en önemli sebebi titanyumun sahip olduğu biyokimyasal ve fiziksel özelliklerdir (19).

Diş implantları hem materyal hem de tasarım olarak 1960'lı yıllardan günümüze kadar çok gelişmiştir. Protetik olarak total veya parsiyel dişsiz hastaların tedavisinde rutin tedavi seçeneği olarak son yıllarda uygulanmaya başlanmış, bilimsel açıdan kabul görmüş bir tedavidir (20, 21). Kök formunda, titanyumdan ve farklı yüzey işlemleri uygulanarak elde edilen implantlar günümüzde kullanılan modern implantlardır.

3.1.1.2. Diş İmplantlarının Sınıflandırılması

3.1.1.2.1. Yerleştirildikleri Yere Göre Sınıflama

- a) Kemik içi (İntraosseoz) implantlar
 - Silindir şeklindeki kemik içi implantlar
 - Blade-Vent implantlar
- b) Kemik üstü (Subperiosteal) implantlar
- c) İntramukozal (Subdermal) implantlar
- d) Transmandibular implantlar
- e) Transdental (Endodontik) implantlar

3.1.1.2.2. İmplant Şekillerine Göre Sınıflama

- a. Silindir
- b. Vida
- c. İğne

- d. Kök
- e. Düz (Blade)

3.1.1.2.3. Kullanılan Materyale Göre Sınıflama

1- Metal ve alaşımlar

- a) Titanyum ve titanyum-6 Alüminyum-4 Vanadyum
- b) Kobalt-Krom-Molibden alaşımlar
- c) Demir-Krom-Nikel alaşımlar
- d) Diğer metal ve alaşımlar (altın, platin, palladyum)

2- Seramik ve karbonlar

- a) Alüminyum-Titanyum-Zirkonyum oksitler
- b) Kalsiyumfosfat kaynaklılar
- c) Hidroksiapatit
- d) Karbon ve Karbon Silikon Bileşikleri

3- Polimer ve Kompozitler

- a) Politetrafloretillen
- b) Polimetilmetakrilat
- c) Ultramoleküler ağırlıklı polietilen
- d) Polipropilen, Polisülfat

3.1.1.2.4. Yüzey Özelliklerine Göre İmplantların Sınıflandırılması

- 1. İşlenmemiş yüzeyli implantlar,
- 2. İşlenmiş yüzeyli implantlar,
 - a) Parlatılmış yüzeyli implantlar,
 - b) Kumlanarak pürüzlendirilmiş yüzeyli implantlar,

- c) Asitle pürüzlendirilmiş yüzeyli implantlar,
- d) Kumlanarak ve asitle pürüzlendirilmiş yüzeyli implantlar,
- e) Lazerle pürüzlendirilmiş yüzeyli implantlar,
- f) Pöröz yüzeyli implantlar,
- g) Pöröz sinterlenmiş yüzeyli implantlar,

3. Kaplanmış yüzeyli implantlar:

- a) Plazma spreysi kaplanmış yüzeyli implantlar
 - Eriyebilen materyalle püskürtmeli yüzey (EMP)
- b) Seramik kaplanmış yüzeyli implantlar,
 - Trikalsiyum fosfat (TCP) kaplanmış yüzeyli implantlar,
 - Hidroksiapatit (HA) kaplanmış yüzeyli implantlar

4. Kombine implantlar (22)

3.1.1.3. İmplant Materyalleri

İmplant materyalleri olarak günümüzde en fazla saf titanyum ve alaşımları ($TiAl_6V_4$) kullanılmaktadır (23).

Titanyum; biyouyumlu, biyoetkisiz, antibakteriyel olması; ayrıca kemiğe yakın elastisiteye, düşük özgül ağırlığa ve korozyona karşı yüksek dirence sahip olması sebebiyle en uygun implant materyali olarak bildirmiştir (24). Saf titanyumun dört türü içinde en fazla tercih edilen türü $TiAl_6V_4$ 'tür. Biyouyumluluğu saf titanyumdan geri kalmayan titanyum bileşiklerinin, saf titanyumdan daha sağlam ve oklüzal kuvvetlere karşı dayanıklı olduğu bilinmektedir (17).

Dental implantlarda kullanılmak için yıllar içinde paslanmaz çelik, karbon, titanyum, kobalt-krom alaşımları, alüminyum oksitleri ve altın alaşımları gibi çeşitli biyomateriyaller geliştirilmiştir. Titanyum üstün biyouyumluluğu sayesinde implant

tedavilerinde ön plana çıkmıştır. Titanyum yüzeyinin oksidinin özellikleri, titanyumun yüksek biyouyumluluğunu kanıtlamıştır. Oksijene maruz bırakıldığında 4 nm kalınlığında yoğun bir oksit tabakası titanyumun yüzeyinde meydana gelmektedir. Titanyum dioksit (TiO_2), bu tabakada en fazla bulunan oksittir ayrıca son derece kararlı ve korozyona dirençlidir (25).

3.1.1.3.1. İmplant Materyallerinde Aranılan Özellikler

Biyolojik Özellikler:

- Alerjik olmamalı,
- Yangıya neden olmamalı,
- Sitotoksik, irritan, karsinojenik olmamalı.

Kimyasal Özellikler:

- İnert olmalı,
- Korozyona uğramamalı,
- Hafif, dayanıklı, aşınmaya dirençli ve üstün şekillendirilme yeteneğine sahip olmalı.

Mekanik Özellikler:

- Sağlam olmalı (Elastisite modülü kemiğe yakın, çekme dayanıklılığı yeterli olmalı).
- Biyomekanik olarak dokuların fiziksel özelliklerine uyum gösterebilmeli.
- Mekanik basınçlarla fiziksel değişimlere uğramamalı.

Diğer Özellikler:

- Ekonomik olmalı.
- Kullanım ve uygulama kolaylığı olmalı.
- Steril edilebilmeli.

3.1.1.4. Diş İmplant Tasarımı

İmplantın tasarımı, kemik ve dişeti ile olan bağlantısını etkileyebilmektedir. İmplantta gelen kuvvetlerin kemiğe aynı şekilde iletilmesi gerekmektedir. Kemiğe iletilen kuvvetler az olursa kullanılmamaya bağlı atrofi, çok olursa da aşırı yüke bağlı kemik yıkımı oluşur.

Guillem-Marti ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada mikro oluklu yüzeylerin kullanılmasının, polisajlı yüzeylere göre diş eti bölgesinde implant bütünleşmesini arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca mikro oluklu yüzeylerin doku bütünleşmesini geliştiren erken fibroblast yapışması ve aktivasyonunu arttırdığı gözlenmiştir. Bu çalışmada geniş oluklu yüzeyler, dar oluklu yüzeylere göre daha iyi sonuç vermiştir (26).

Dişli vida şeklindeki implantların kemikle kenetlenmesi daha iyidir. Bu, implanta yük geldiğinde kemiğin daha güçlü olmasını sağlar. Ayrıca implant yüzeyindeki yivler yüzey alanını arttırdığı için, implantın kemik ve dişeti ile olan bütünleşmesinin başarısı da artmaktadır (27).

Aşırı baskıların kemik yıkımını arttırdığı bilinmektedir. Primer stabilitesinin iyi olması için implantı kemiğe sıkıca yerleştirmek o implantın kaybedilme riskini artırır. Aksi halde eğer implant kemiğe iyi yerleştirilmezse de primer stabilite kötü olur ve implant kemiğin içerisinde mikro düzeyde hareket eder. Böylece kemik implant kaynaşması gerçekleşmez, bu da yivlerin tasarımının ne kadar önemli olduğunu bize göstermektedir (26).

Diş implant gövdesi; tutucu özelliği olan veya olmayan, silindirik tip, vidalı tip veya bu özelliklerin bir birleşimi olarak sınıflandırılabilir. Vida tipi implant gövdesi günümüzde en yaygın kullanılan implant gövdesi tipidir, çünkü implantın başlangıç

stabilitesine bu implant gövdesi tipiyle ulaşılabilmektedir. Ayrıca yiv özellikleri oklüzal yüklerin kemik arayüzünde yönünü değiştirmektedir (28).

Kemik yoğunluğunda radyografik açıdan herhangi bir ayrım olmamasına rağmen; ters yelken (butress) yivli ve V-şekli implantlara göre, kare yivli implantların kemik implant teması ve geri çevirme tork değerinin anlamlı olarak daha yüksek sonuçları olduğu bildirilmiştir (29).

Çeşitli implant tasarımlarında odaklanılan şeylerden bir başkası da, yumuşak doku yangısını azaltmaktır. Dolayısıyla krestal kemik kaybı, implant tasarımındaki birçok gelişmeye yön vermiştir. Plak birikimini azaltma temeline dayanan ‘hijyenik krest modülü’ buna bir örnek olarak verilebilir (30).

Bir implantın krest modülünün, kemik cerrahisi alanını bakteri veya yumuşak doku girişine tamamen kapatması için, implant gövdesinin boyun çapından biraz daha büyük olması gerekmektedir (31). Ek olarak krest modülünün büyük olması, özellikle yumuşak kemikte, krestal kemik bölgesini sıkıştırdığından başlangıç stabilitesini iyileştirmektedir.

3.1.1.5. Diş İmplant Yüzey Morfolojisi

Yüzey morfolojisi, yüzeyin pürüzlülük derecesine ve yüzey düzensizliklerinin uyumlanmasına bağlıdır (32). İmplantın tasarımı kadar yüzey morfolojisi de kemik implant kaynaşmasında ve implant çevresi dokuların davranışlarında büyük önem taşır. Bu yüzden implant yüzeyleri pürüzlendirilmektedir (33).

Pürüzlendirmenin faydaları:

1- Yüzey yaklaşık 5 misli genişler, kuvvet dağılımı daha dengeli olur.

Birim alana uygulanan kuvvet azalacağından implant çevresindeki kemikte yoğunlaşan stres belirgin bir biçimde dağıtılmış olur.

2- İmplantın mikro mekanik tutuculuğu artar; bu da başlangıç stabilizasyon açısından önemlidir.

3- Özellikle döndürme ve çekme kuvvetlerine karşı implantın direnci artar.

4- Pürüzlü yüzeylere kemik implant çevresi dokular daha iyi nüfuz etmekte ve tutunmaktadır. Böylece yalnızca malzemenin yüzey topografyası değiştirilerek malzemeye daha üstün özellikler kazandırılmış olur (27).

Eğer pürüzlü yüzey transmukozal kısımda yer alırsa implant çevresi mukozada yangı meydana gelir. Yüzey pürüzlülüğü, implantın kemiğe bitişik kısmındaki yüzey alanını, implant yüzeyindeki hücre atışmasını, implant yüzeyinde kemik miktarını artırır. Aynı zamanda, yüzey pürüzlülüğünün aşırı miktarda artmış olması implant çevresi bölgede oral bakterilerin tutunması için de elverişli bir bölge oluşturmaktadır (34).

Pürüzlülük 100 mikrometreden büyükse makropörözite, 100 mikrometre ile nanometre arasındaysa mikropörözite oluşturulmuş olur. Mikro pürüzlülük sadece mekanik kilitlenme ile açıklanamayacak şekilde implantın kemiğe tutuculuğunu artırır, hücresel fonksiyonları etkileyerek matriks birikimi ve mineralizasyonunu uyarır. Yani hücreler, yüzeyin mikro yapısına karşı hassastır ve bu yapıyı uyumlanma ve göç için kullanırlar. Ayrıca bu mikro yapı, mezenşim hücrelerinin fibroblast, kondroblast veya osteoblastlara farklılaşmasında rol oynar. Bu pürüzlülüğün ideal ölçüsü her ne kadar kemiğin kalitesi ve implanta gelen yüke göre farklılık gösterse de yaklaşık $1.0-1.5 \geq \mu\text{m}$ olarak saptanmıştır. Bu da $25-75 \geq \mu\text{m}$ arasındaki Al_2O_3 partikülleri tarafından oluşturulur. Daha büyük partiküller daha fazla pürüzlülük yaratmasına rağmen, kemik cevabını olumlu yönde etkilemez ve

implant-kemik temasını arttırmaz. Tüm bunlar kemik hücrelerinin oluk biçimli alanları sevdiğini ve yüzey pürüzlülüğüne steoid matriks birikimi ve mineralizasyonu ile cevap verdiğini göstermektedir. Kemik hücreleri $1,0-1,5 \geq \mu\text{m}$ 'lik pürüzlülükleri tanıyıp ve hücresel fonksiyonlarını ona göre ayarlarken, ondan daha büyük pürüzlülükleri sanki yüzey düzmüş gibi algılamaktadır (35).

3.1.1.5.1. Diş İmplant Yüzey Özellikleri

Bir diş implantının en dış tabakasını implant yüzeyi oluşturmaktadır. İmplant yüzeyi terimi bilim insanlarını, implant kemik arasında histolojik ve biyomekanik teorileri, implant yüzeyindeki mikro ve nano ölçekli özelliklerle implant yüzeyinin kimyası ve sinyal verme hipotezi, yüzey mühendisliği ve yüzey araştırmaları gibi farklı konular hakkında düşünmeye itmiştir. Yüzey işlemlerinin geniş uygulama yöntemleri, diş implantlarının kalitesine etki etmektedir (36).

3.1.1.5.2.Yüzey işlem yöntemleri

3.1.1.5.2.1.Tornalanmış-makine yüzeyli (Cilâlı) diş implantları

Kullanılan ilk implant yüzeyi, onun ardından geliştirilen implant yüzeyleri için bir kontrol grubu olmuştur. Cilâlı implant yüzeyleri oluklar ve sırtları içeren biyomekanik bağlantı açısından pürüzlü olmayan yüzeylerdir. Cilâlı implant yüzeylerine osteoblast hücrelerinin bütünleşmesi için daha fazla zaman gerekmektedir, bu da yükleme öncesinde iyileşme süresini uzatır (37).

İmplantın başlangıç stabilitesini arttırmak ve böylece kemik bütünleşmesini hızlandırmak için yüzey pürüzlülüğü artırılması ile yüzey değişkeleri başlatılmıştır.

Fakat yüzey pürüzlüğündeki artış beraberinde implant tedavisinde başarısızlığa neden olan bakteri yapışmasını ortaya çıkarmıştır (38).

Günümüzde yüzey teknolojisi, titanyum yüzeylerin kimyasal özelliklerine odaklanarak mikro ölçekten nano ölçeğe kadar fiziksel özellikleri, özellikle düşük kemik niteliğine sahip hastalar için stabil hızlı iyileşme sürecini ve diş implantlarının uzun vadeli başarısını en uygun hale getirmiştir (39).

3.1.1.5.2.2. Kumlama ile Pürüzlendirme (blasting)

Kum püskürtme işlemi, farklı büyüklükteki seramik parçacıklarının, basınçlı hava ile yüksek hızda implant yüzeyine pürüzlü bir yüzey oluşturma amacıyla yönlendirilmesi işlemidir. Genelde titanyum dioksit, alümina, silika ve emilebilir biyoseramik parçacıklar kullanılmaktadır (40).

Cilâlı (tornalanmış-makineli) implant yüzeyi ile alümina kum püskürtme uygulanmış implantları karşılaştıran histolojik çalışmalar yapılmış; sonuç olarak kemik implant kaynaşma yüzdesi kumlanmış implantlarda istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur (41).

Canlı dokulardaki çalışmalarda, titanyum dioksit ve alümina püskürtülerek üretilen implant yüzeyleri arasında kemik implant kaynaşma yüzdesi ve ters döndürme torku karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir (39). Cilâlı yüzeylerin ilk değişkesi, kum püskürtmesi ve asitle aşındırma işleminin farklı asitler kullanılarak değiştirilmesinin ardından oluşturulmuştur.

3.1.1.5.2.3. Asitle Dağlayarak (asit etching) Pürüzlendirme

Asit karışımlarından HCl, HF, HNO₃ ve H₂SO₄ kullanılarak implant yüzeylerinin mikro pürüzlülüğü kolaylaştırılmıştır. Bu işlemde amaç, yüzeylerde mikro çukurlar oluşturarak hücre yapışmasını artırmaktır (42). Florür iyonlarına karşı titanyum, çok reaktiftir ve florik asit solüsyonları uygulandığında çözünerek TiF₄ oluşturur. Bu yüzden titanyum diş implantlarının yüzeyine hidroflorik asit solüsyonu uygulanmaktadır (37).

Yapay koşullarda yapılan çalışmalarda, hidroflorik asit uygulanarak aşındırılmış implant yüzeyi üzerinde florit oksit oluştuğu, bunun implant biyouyumluluk oranını arttırdığı gösterilmiştir (43). Kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında bu kimyasal uygulamanın implant yüzeyinde osteoblastik farklılaşmayı ve baskı kuvvetlerine dayanımı artırdığı, bu implantların yüksek geri çevirme torkuna sahip olduğu görülmüştür (44). İmplant yüzeyinde artan nano seviyesindeki yüzey pürüzlülüğünün, osteoporotik kemiklerde kemik implant kaynaşmasını arttırdığı gösterilmiştir (45).

İmplant yüzeyinde mikro pürüzlü yüzey oluşturmak için kullanılan diğer teknik çift asitle pürüzlendirme tekniğidir. Bu teknikte titanyum implantlar 100°C'nin üzerinde ısıtılmış konsantre HCl ve H₂SO₄ karışımına birkaç dakika daldırılır. Bu işlem sonucunda yüzeylere fibrin ve osteojenik hücreler tutunarak osteokondüktif süreci iyileştirir ve implant yüzeyinde doğrudan kemik oluşumunu sağlar (46). Bu tekniğin avantajı, osteoblastların bölgedeki kolonizasyonuna yardım eden ve osseointegrasyonu destekleyen trombosit hücreleri ile hücre dışı genlerin daha fazla salınımına ve yapışmasına imkan vermesidir. Çift asit ile pürüzlendirilmiş yüzeylerde, cilalı veya titanyum plazma püskürtme yüzeylere kıyasla daha yüksek

kemik implant kaynaşması ve daha az kemik rezorpsiyonu olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (47).

Asitle pürüzlendirme, yüksek sıcaklıkta uygulandığında ise implant yüzeyinde homojen mikro-gözenekler meydana getirmiş; bu da hücre yapışmasında artış ve titanyum plazma püskürtme yüzeylerine göre daha yüksek kemik implant kaynaşması göstermesini sağlamıştır. Başka bir çalışmada da çift asit pürüzlendirme uygulanan implantların yüzeylerinin, fibrin iskeletine osteojenik hücrelerin yapışmasını kolaylaştırdığı ve bunun da kemik yapımını arttırdığı savunulmuştur (48). Fibrin yapışmasını arttırmada ayrıca yüzeyin ıslanabilirliğinin fazla olması da vurgulanmıştır. Çünkü yüzey boyunca göç eden osteoblastların teması için rehberliği fibrin yapışması oluşturmaktadır (49).

3.1.1.5.2.4. Kumlanmış ve Asitlenmiş (SLA) İmplant Yüzeyi

Kumlanmış ve asitlenmiş (SLA) titanyum implant yüzeyi; cilalanmış ve asitlenmiş titanyum yüzeylere göre daha fazla mekanik ve biyolojik özellikler göstermektedir (50). Kumlama işlemi esnasında 250-500 µm püskürtme süreciyle, yüzey pürüzlendirilmesi gerçekleşir. Asitleme işleminde hidroklorik / sülfürik asit kullanılarak yüzey temizlenir ve mikro yapılar oluşur (51). Bu yüzeyler diğer yüzey değişik yöntemleriyle klinik ve histolojik olarak karşılaştırıldığında, bu yüzeylerin kemik teması kapasitesinin daha iyi olduğu görülmüştür (52-54).

Biyomekanik ve histomorfometrik deneysel sonuçlara dayanan SLA yüzey; son zamanlarda diğer yöntemlerin önüne geçmektedir (54). Günümüzde SLA yüzeyler, kanıta dayalı klinik ve histolojik başarısından dolayı yeni geliştirilen yüzeyler için bir kontrol grubu olarak kullanılmaktadır (55, 56).

3.1.1.5.2.5. SLActive Yüzey

Kumlanmış ve asitlenmiş (SLA) implant yüzeyine suyu seven (hidrofilik) özellik kazandırılarak SLActive yüzey elde edilmektedir. Bu implant salin solüsyonu içeren özel ambalajında muhafaza edilmektedir. Yerleştirilinceye kadar salin solüsyonunda korunan hidrofilik implant yüzeyi, doku içerisine konulduğunda, kanı mikroporlarına doğru çeker (57).

Hidrofilik yüzeyli implantlar 2007'den itibaren kullanıma girmiştir. Yapılan çalışmalar implant tedavi başarısını hidrofilik yüzeyli implantların arttırdığını göstermiştir. Bilimsel çalışmalara göre hidrofilik implant yüzeyinin en büyük avantajı vücuda yerleştirildiği andan itibaren iyileşmenin başlıyor olmasıdır (58).

SLActive yüzeylerin, SLA yüzeylerle karşılaştırıldığında daha fazla kemik implant teması ve daha yüksek klinik başarı oranına sahip olduğu bulunmuştur (59). Hidrofilik olmayan implant yüzeyinde iyileşme, implant çevresinde oluşan asidik tabakanın vücut tarafından ortadan kaldırılmasından sonra başlamaktadır. Bir İsviçre implant firmasının patentli olan hidrofilik yüzey teknolojisinde fabrikasyon aşamasında titanyum hiçbir şekilde havayla temas etmeden implant haline getirilerek sıvı içerisinde ambalajlanmaktadır. Bu sayede hep doku içindeymiş gibi ıslak kalan implant, vücuda yerleştirildiğinde vücut tarafından hep orada varmış gibi algılanarak iyileşme hızla devreye girmektedir. İyileşmenin hızlanmasıyla implant yerleştirildikten sonra bekleme süresi de kısalarak üç haftaya inmiştir (60).

Yapılan bilimsel araştırmalar aynı firmanın hidrofilik olmayan implantının başarı oranını %98 olarak verirken hidrofilik implantta bu oran %99.9'a ulaşmış ve 10 kat artış göstermiştir (61).

3.1.1.5.2.6. Oksitlenmiş Yüzeyler

Yüzey oksit tabakası anotlama ya da termal oksidasyon süreciyle oluşmaktadır. Titanyum implant yüzeyinin pürüzlülüğünü artıran anodik oksidasyon, bir elektrokimyasal süreçtir. Oksit tabakasının biyouyumluluğu oksitleme işlemiyle artırılır. Uygun bir elektrolitin içine batırılan implant, elektrokimyasal bir hücrede anot haline gelir. Bu örneğe bir elektriksel potansiyel verildiğinde, hücre içinden şarjın iyonik taşınımı sağlanır ve anotta bir elektrolitik reaksiyon meydana gelir, bu da oksit filmin büyümesini sağlar. Artmış hücre eklentisi ve çoğalmasını gösteren mikro gözenekli bir yüzey oluşturulur (62). Yapılan çalışmalarda kumlama ve asitle muamele etme (SLA) işleminden sonra elektrokimyasal oksidasyon yapılmasının biyolojik performansı iyileştirdiği görülmüştür (63).

3.1.1.5.2.7. Plazma Sprey Kaplı Yüzeyler

Maddenin katı, sıvı ve gaz hali dışında çok yüksek sıcaklıklarda karşılaşılan dördüncü haline plazma adı verilir. Plazma terimi Langmuir'e göre: içinde molekül, atom, iyon ve elektron bulunduran maddenin iyonize halini ifade eder (64). Plazma sprej kaplamanın amacı implantın kemikle bağlanma kuvvetini arttırmak için pürüzlü bir implant yüzeyi oluşturmaktır. Metaller ile seramiklerde kullanılan bu teknik yeni bir uygulama değildir (45).

Titanyum Plazma Sprej (TPS) 1974'ten itibaren Schroeder ve ark (1976) tarafından implantların yüzey alanlarını, yani kemiğe tutunmayı arttırmak için kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknikte $40 \geq \mu\text{m}$ büyüklükte titanyum partikülleri plazma aleviyle ısıtılarak yüksek ısı ve hızla titanyum yüzeye püskürtülerek pürüzlü kaplama elde edilir (65).

3.1.1.5.2.8. Eriyebilen Materyalle Püskürtme İşlemi (EMP)

Eriyebilen materyalle püskürtme işlemi (EMP) uygulanmış implant yüzeyleri, makinede işlenmiş implantlara göre daha yüksek bir çıkarma torkuna ve daha fazla implant kemik temasına sahiptir, bu da erken kemik oluşumu ve başlangıç stabilitesi üzerinde daha fazla fayda sağlamaktadır (66). Eriyebilen materyalle püskürtme işlemi uygulanmış implantları, makinede işlenmiş implantlardan önemli ölçüde daha yüksek çıkarma torku değerleri ve kemik implant teması yüzdeleri göstermiştir (67). İmplant tedavisinde EMP işlemi uygulanmış implantların kullanılmasının erken kemik rezorpsiyonunu bloke ettiği iyi bilinmektedir (68).

Eriyebilen materyalle püskürtme işlemi uygulanmış implant yüzeyleri osteokondüktif özelliklere sahiptir, bu nedenle kemik hücrelerinin olgunlaşmasını artırır. Eriyebilen materyalle püskürtme işlemi, implantlara osteoblast hücrelerinin toplanmasını artıran çok temiz yüzeyler sağlar. Ayrıca, EMP ile işlenen yüzeyler hidrofilik hale gelir ve bu da kan ve kan hücrelerinin hızla implant yüzeyine çekilmesine olanak tanır. Bu, implant restorasyonlarının başarısı için faydalıdır çünkü hücreler, implant üzerinde kemik oluşumunu uyarmak için gereklidir. Eriyebilen materyalle püskürtmeli yüzey işleminde, implantların yüzey alanını ve kemik implant temasını artırmak için biyolojik olarak uyumlu bir madde olan kalsiyum fosfat (CaP) kullanılır (69). Kaba öğütülmüş kalsiyum fosfatla uygulanan EMP işlemi, implant yüzeyine kalıntı bırakmadan kaba bir görünüm verir (67).

3.1.1.5.2.9. Kalsiyum fosfat (CaP) kaplı yüzeyler

Kemik dokusundaki ana inorganik bileşen olan kalsiyum fosfat (CaP), insan vücudunda biyomalzeme olarak uygulandığında doğal biyouyumluluğa sahip

olmaktadır. Kalsiyum fostat kaplamalar, metalik implantların yüzey morfolojisini ve kimyasını önemli ölçüde değiştirebilir ve böylece kemik implant kaynaşması, korozyon ve yıkım performansı ve antibakteriyel özellik dahil yüzey biyofonksiyonlarını iyileştirebilir (70).

İmplantasyon işlemi normalde lokal pH düşüşüne neden olur ve böylece metalik substrat ve yüzey kaplamasında korozyon veya çözünmeyi başlatır. Serbest bırakılan metalik iyonlar, Ca^{2+} ve PO_4^{3-} , implantı çevreleyen hücreler ve dokularla etkileşime girebilir ve ayrıca apatit veya kolajenli kompozitler şeklinde yeniden çökebilir. Örneğin, CaP'lar kemik oluşum sürecinde osteoblast ve osteoklastın hücre davranışlarını da etkileyebilir (71). Kimyasal bileşim, çözünürlük ve yüzey topografyası yukarıdaki işlemlerde önemli rol oynamaktadır (72). Bazı elementlerle (örn. Stronsiyum, silikon) birleştirilen CaP'lar, osteoklast farklılaşmasını inhibe ederken osteoblast aktivitelerini daha da arttırabilir (73). Genel olarak CaP bazlı seramiklerin, başlangıç aşamasında üstün kemik implant kaynaşma oranı ile hızlı biyolojik bağlanma ve dolayısıyla iyi klinik performans başlatabileceği kabul edilmiştir (74).

3.1.1.5.2.10. Hidroksi apatit (HA) Kaplı Yüzeyler

Hidroksiapatit (HA) kaplamanın implant yüzeyinde kemik büyümesini arttıracak gösterilmiştir. Hidroksiapatitin osteokondüktif etkisinden yararlanılarak, kemik kalitesi düşük olan tip 3 ve 4 kemiklerde hidroksi apatit kaplamanın implant ankrajını arttıracak düşünülmüştür. Daldırarak kaplama-sinterleme, elektroforetik deposizyon, daldırma-kaplama, sıcak izostatik baskılama, iyon-ışın demeti püskürtme ile kaplama, plazma-sprey, elektro-mıknatıs püskürtme gibi tekniklerle

HA kaplama uygulanmaktadır (75). Bu tekniklerin içinde en sık tercih edilen plazma sprej kaplama yöntemidir (76).

3.1.1.5.2.11. Trikalsiyum Fosfat (TCP) Kaplı Yüzeyler

Küçük ve orta büyüklükteki kemik defektlerinde kullanılan sentetik, multikristal ve poröz yapıda bir implant yüzey materyalidir. İlk olarak 1970'lerin başlarında bulunmuştur. Fizyolojik ortamda açığa çıkan iyonlar çevre dokuya dağılarak vücut tarafından kullanılırlar. Bu poröz özellik, yeni oluşan kemiğin implant içine doğru büyümesine olanak sağlar.

Osseointegrasyonu iyileştirerek implant gevşemesi sorunun önüne geçmek için implant ile kemik arayüzünü değişikliğine gidilmiştir. Bunun için hidroksiapatit (HA) ya da trikalsiyum fosfat (TCP) kaplama kullanılmaktadır. Bu kaplamaların implant yüzeylerine olan adezyonları ve kaplamanın kendi katmanları içindeki bağlantılar zayıftır.

Yapılan çalışma sonuçlarında TCP seramiklerin kemik için uygun bir matriks görevi yaptığı ve mandibulanın direncini arttırdığı, lokal ve sistemik toksik etki göstermediği ve dolayısıyla dokuyla biyolojik uyumunun tam olduğu, özetle kemik yapısını olumlu etkilediği bulunmuştur. TCP seramikler zaman içinde rezorbe olarak kemik yapımını da olumlu etkilemektedir (77).

3.1.1.5.2.12. Lazerle Pürüzlendirilmiş Yüzeyler

Lazerle pürüzlendirme son yıllarda kullanılmaya başlanmış bir tekniktir. Nd: Yag lazer, Diode pompalı katı lazer, CO₂ lazer, Fiber lazer gibi değişik lazerler bu teknikte kullanılmaktadır. Lazer ile pürüzlendirilen titanyum implant yüzeyi, diğer

yöntemler uygulanarak hazırlanan implant yüzeylerinden daha üstün özellikler göstermektedir.

Lazer uygulanmış titanyum yüzeylerin insan gingival fibroblast (İGF) canlılığına, çoğalmasına ve adezyonuna etkilerinin incelendiği bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada cilalı (parlatılmış) ve kumlanmış titanyum diskler kontrol grubu olarak kullanılmış, lazer uygulanmış yüzeylerde İGF adezyonu daha başarılı bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre modifiye titanyum yüzeylerin İGF'lerin yaşayabilirliğini etkilemediği, farklı lazer uygulanmış gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür (76).

Yapılan başka bir çalışmada, implant yüzeyine KrF Excimer lazer kullanarak polisajlı implant yüzeylerinde delikli yapılar oluşturulmuştur. Çalışmanın sonucuna göre fibroblast hücreleri tercihen bu delikli yapılara bağlanmakta ve delikli yüzeyi kapayacak şekilde iç köprüler oluşturmakta olduğu görülmüştür (78).

3.1.2. Kemik Dokusu ve Metabolizması

3.1.2.1. Sağlıklı Kemik Dokusu

Mineralize kollajen çatısı olan özelleşmiş canlı ve dinamik bir bağ dokusu olan kemik, kaslarla birlikte hareketi sağlar ve vücudun geri kalanına destek olur. Ayrıca, mineral homeostazı ile asit baz dengesini sağlama, organ ve yapıları koruma, büyüme gelişme faktörleri ve sitokinlere depo görevi görme, hematopoez için ortam hazırlama gibi görevleri de vardır (79).

Kemik inorganik ve organik bileşenlerden oluşur. Kemiğin kütlesinin %60'ını mineral veya inorganik maddeler (hidroksiapatit) oluştururken, %10'unu su, geriye kalanı ise organik veya ekstraselüler matriksten oluşmaktadır (80).

Organik matriks kemiğin kimyasal ve biyomekanik özelliklerini belirlemektedir. Bunu; içerdiği sitokinler büyüme faktörleri ve matriks proteinleriyle birlikte kemik yapımı, minerilizasyon, kemik hücre farklılaşması, büyüme ve gelişiminde rol alarak sağlar. Organik matriksin yapısında matriks proteinleri (kollajen, proteoglikanlar, osteokalsin, osteonektin ve osteopontin) ile az miktarda sitokin ve büyüme faktörleri vardır. Kemiğe gerilme direnci sağlayan organik matriksin en önemli bileşeni kollajendir ve birincil olarak tip 1 kollajen şeklinde bulunmaktadır.

İnorganik bileşenin büyük çoğunluğunu (%95'ini) kalsiyum hidroksiapatit kristalleri oluşturmaktadır. İnorganik bileşen kalsiyum fosfat, bikarbonat, sodyum, potasyum ve magnezyum içermektedir.

Kemik kütlesinin %80'ini oluşturan mekanik ve koruyucu görevi gören kısmı kortikal (kompakt) kemiktir. Geriye kalan %20'sini ise metabolik fonksiyondan sorumlu olan trabeküler (spongiyöz) kemik oluşturmaktadır. Makroskopik olarak bakıldığında kemiğin dış kısmında kortikal iç kısmında spongios kemik görülmektedir.

Dışta periostal yüzey ve içte endostal yüzey içeren kortikal kemik uzun kemiklerin diafizinde ve yassı kemiklerin yüzeyinde bulunmaktadır. Periostal yüzey, büyüme ve kırık tamiri gibi olaylarda görev alır. Yaşla birlikte kemiklerin uzaması periostal yüzeydeki kemik yapımının yıkımından fazla olmasıyla gerçekleşir. Endostal yüzeyde ise yaşla birlikte kemik yıkımı, yapımını geçtiği için, kemik iliğinin bulunduğu alan genişlemektedir. 'Yeniden yapılanma' olayı endostal yüzeyde periostal yüzeye göre daha fazladır. Çünkü endostal bölge kemik iliği bileşenlerine daha yakındır.

Trabeküler kemiğin kortikal kemiğe göre yoğunluğu daha az ve yapısı güçsüzdür fakat yüzey alanı kortikal kemikten daha fazladır. Uzun kemiklerin genişlemiş uçları, kaburgalar, omuzlar, kafatasındaki yassı kemikler ve vücudun diğer bölümlerindeki kısa yassı kemikler gibi bölgelerde bulunmaktadır. Kemik yapımı ve yıkımı yüzeye bağımlı bir işlemdir bu yüzden trabeküler kemikte yeniden yapılanma kortikal kemiğe kıyasla daha fazla olmaktadır. Trabeküler kemikler ayrıca yaşlanma ve menopoza sonucunda artan kemik yıkımından daha fazla etkilenmektedir. Kortikal kemiklere kıyasla trabeküler kemiklerde kırık ve kemik kaybı da çok daha fazla olmaktadır. Bu sebeple osteoporoz hastalığında trabeküler kemik kortikal kemikten daha fazla etkilenmektedir.

3.1.2.2. Kemik Hücreleri

Kemik hücreleri; osteoblast, osteoklast, osteosit ve osteoprogenitör (kök) hücreler, total kemik kütlelerinin %2'sini oluşturmaktadır (81).

3.1.2.2.1. Osteoblastlar

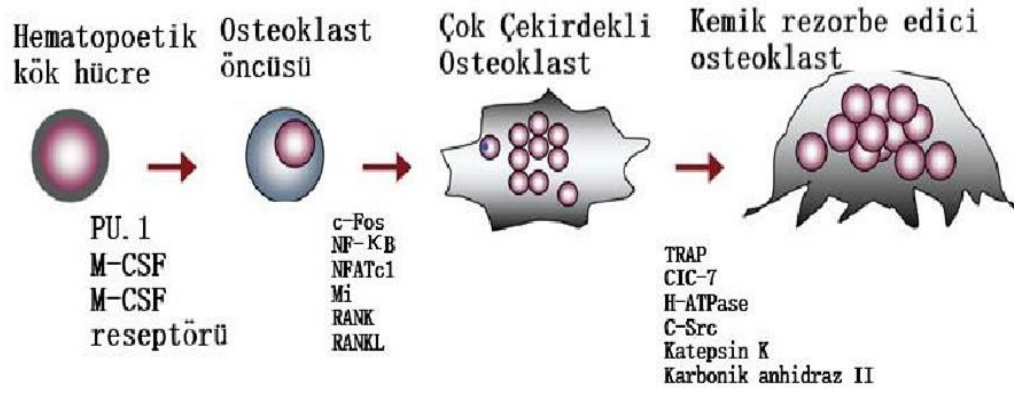
Osteoblastlar kemik yapan kübik şeklinde hücrelerdir. Kemik yüzeyinde bulunup toplam kemik hücrelerinin %4-6'sını oluşturmaktadır (82). Kollajen Tip1- α , osteokalsin ve alkalın fosfataz (ALP) gibi matriks proteinlerini osteoblastlar sentezlemektedirler (83). Osteoblastlar; parathormon, seks steroidleri, glukokortikoidler, 1,25(OH) vitamin D3, insülin benzeri büyüme faktörü gibi kemik metabolizmasında rol alan mediatörler için de reseptörlere sahiptirler.

Kemik hücrelerinin mezenşimal kök hücrelerine farklılaşmasıyla osteoblastlar oluşmaktadır (84). İlk olarak osteoblast progenitör hücreleri gen dışavurumuna başlamakta ve bu aşamaya proliferasyon aşaması denilmektedir. Bu

aşamada osteoblast progenitörleri alkalen fosfataz aktivitesi gösterip preosteoblast olarak adlandırılmaktadır (82). Osteokalsin, kemik sialoproteini ve kollajen tip 1 gibi kemik matriks proteinleri salgılandıktan sonra preosteoblastlar daha geniş ve kübik hücrelere farklılaşarak yetişkin osteoblastlara dönüşmektedir (85). Osteoblastlar bolca PAS (periodik asit şeması) pozitif granüller içermektedir. Bu yüzden mikroskopta pembe renginde küçük stoplazmik vakuoller biçiminde gözlenmektedir. Kireçlenmemiş kemik matriksinin organik kısmını oluşturan yapıya ‘osteoid’ adı verilmektedir. Osteoblastlar; glikozaminoglikanları, glikoproteinleri, kolajen fibrilleri ve proteoglikanı üreterek bu yapıyı oluşturmaktadır (86).

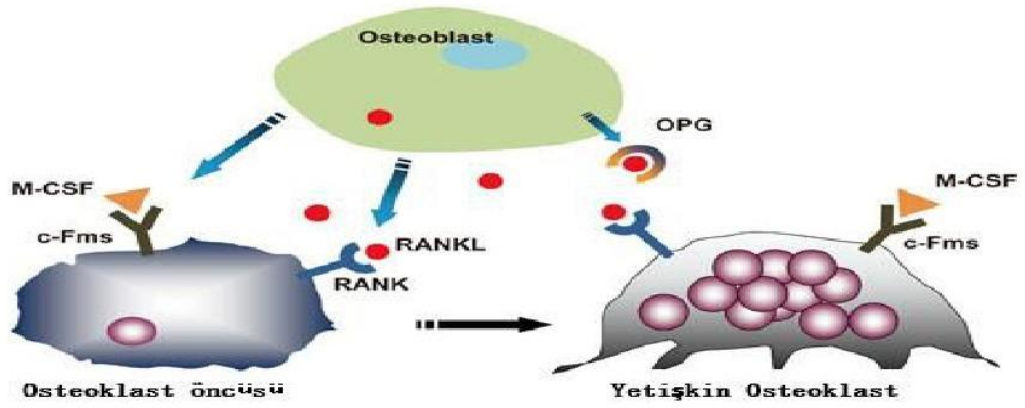
3.1.2.2.2. Osteoklastlar

Osteoklastlar monosit-makrofajların tek çekirdekli öncü hücrelerinden farklılaşarak meydana gelmektedir. Kemik hücreleri içinde kemiği sindirebilen dolayısıyla kemik yıkımında görev alan tek hücredir (87). Öncü hücrelerin osteoklastlara farklılaşmasında ‘makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF)’ ve ‘nükleer faktör kappa B ligand reseptör aktivatörü (RANKL)’ sitokinlerinin varlığı ayrıca öncü hücre sayısındaki artış rol oynamaktadır (88, 89). Öncü kök hücreler makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) reseptörü ve PU.1 (hematopoetik kök hücrelerde orta düzeyde eksprese edilen Ets ailesi transkripsiyon faktörlerinin bir üyesidir.) transkripsiyon faktörü ile osteoklast öncü hücrelerine dönüştükten sonra füzyon yapıp, çok çekirdekli hücrelere dönüşürler. Yetişkin osteoklast oluşumu ise ‘RANK/RANKL’ sinyalinin farklı moleküllerin aktivasyonunu uyarmasıyla sağlanmaktadır (90) (Şekil 1).



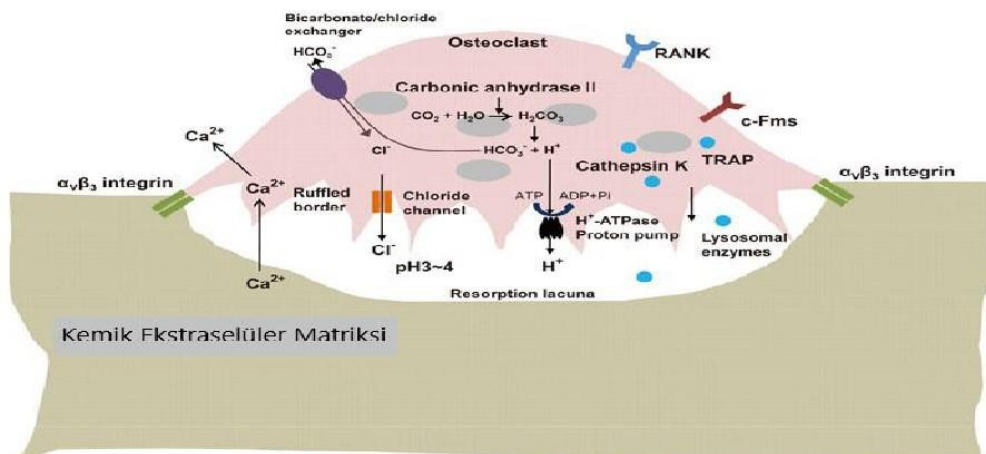
Şekil 1. Osteoklast farklılaşması ve farklılaşmada etkili olan moleküller (90)

Osteoklast oluşumunda kritik rol oynayan RANKL ve M-CSF sitokinleri genelde kemik iliği stromal hücreleri ve osteoblastlar tarafından üretilmektedir, yani osteoklastogenez işlemi kemik iliğinde stromal hücreler ve osteoblast varlığını gerektirmektedir (91). Tümör nekroz faktörü (TNF) üst ailesinin içinde bulunan RANKL osteoklast oluşumu için kritik rol oynamaktadır. Osteoblast öncül hücresinde RANKL, RANK'a bağlanıp, osteoklast oluşumunu uyarmaktadır (92). Başka bir faktör olan osteoprotegerin (OPG) RANKL'ye bağlanıp RANK-RANKL etkileşimini engelleyebilmekte ve böylece osteoklast yapımını önleyebilmektedir (93). Bu RANKL-RANK-OPG sistemi osteoklast yapımı için ana yöneticilerden biridir (90) (Şekil 2). Makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) ise osteoklast öncülerinin çoğalması, canlılığı, farklılaşması ve kemik yıkımı durumunda osteoklastların hayatta kalması ve hücre iskeleti yeniden yapılanması olaylarında görev almaktadır (90).



Şekil 2. OPG RANK RANKL etkileşiminin osteoklast farklılaşmasındaki rolü (90)

Farklılaşması bitmiş osteoklast hücreleri asidik bir mikro çevre haline getirdikleri sindirim alanı adı verilen bölgede kemiğin mineral bileşenlerini sindirebilmektedir. Osteoklast hücrelerinde var olan $\alpha V\beta 3$ integrini matriks proteinlerindeki *Arjinin-Glisin-Asparajin* motiflerine bağlanıp kemik ekstraselüler matriksinde sindirilecek bölgeyi tespit etmektedir. Tespit edilen bu bölgelerdeyse osteoklastlar H^+ -ATPase proton pompası, Cl/HCO_3 değişimi, klor kanallarının aktivitesi ile birlikte bölgeyi asidik hale getirerek lizozomal enzimlerle kemik yıkımı gerçekleştirmektedir (90) (Şekil 3).



Şekil 3. Kemikte Yıkım Bölgesine Tutunmuş Osteoklast Hücresi (90)

3.1.2.2.3. Osteositler

Osteositler, osteoblastların ürettikleri kemik matriksinde gömölüp, kalsiyum tuzlarıyla kireçlenmesi sonucunda oluşmaktadır (81). Osteositler, yassı şeklinde kemiğin ana hücreleridir. İnce sitoplazmik uzantıları sayesinde, kanalikuli adındaki küçük kanalcıklar içinden geçerek komşu osteosit ile bağlantı kurmaktadır. Işık mikroskopundan bakıldığında görüntüleri osteoblastlarla hemen hemen aynıdır (81). Osteositler kalsitonin ile uyarılmakta ve parathormon ile inhibe olmaktadır. Böylece fosfor ve kalsiyumun hücre dışı yoğunluğunun düzenlenmesinde görev almaktadır. Bu hücreler ayrıca kemik yapım ve yıkımının düzenlenmesinde de rol almaktadır (94).

3.1.2.2.4. Osteoprogenitör Kök Hücreler

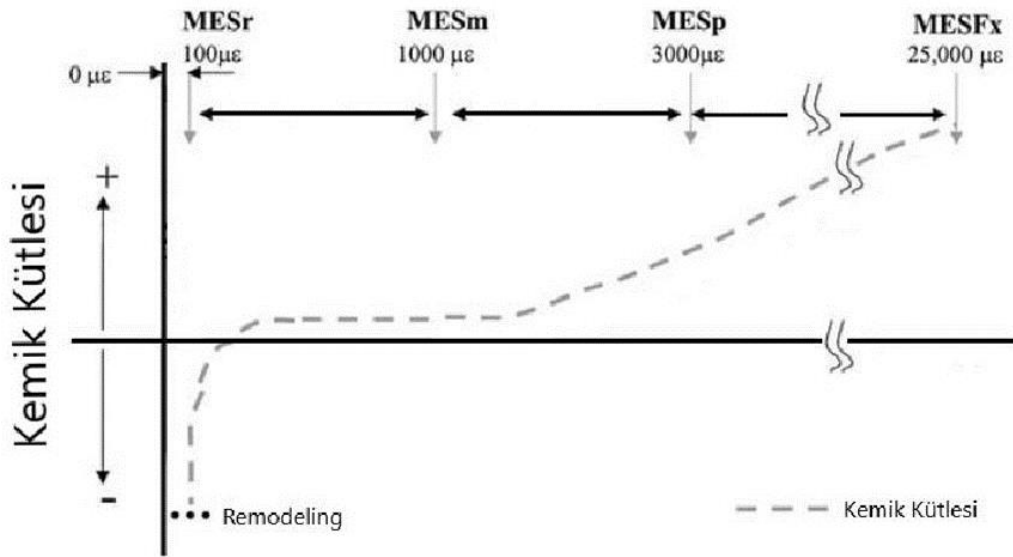
Osteoprogenitör hücreler mezenşimal hücrelerden türemektedir. Kök hücre topluluğunu oluşturarak farklı hücrelere dönüşme gücüne sahiptir. Bu hücreler kemik iliği ve kanalları, endosteom ve periosteomde bulunup kemik yapım ve yıkımda kemik yeniden yapılanma bileşenlerinin üretilmesinde görev almaktadır (94).

3.1.3. Kemik Gelişimi, Kemiğin Yapılanması ve Kemiğin Tekrar Yapılanması

Kemik büyüme veya şeklini değiştirmek için yaşam boyu yapılanma ve yeniden yapılanma safhalarından geçmektedir. İskelete gelen mekanik güçler veya fizyolojik etkenlerle oluşan tepkilere karşı kemiğin hacim ve şekil değiştirmesine kemik yapılanması denilir. Kemiğin gücünü ve mineral homeostazını koruyabilmesi için gerçekleşen aktiviteye kemiğin yeniden

yapılanması denilir. Erken çocukluk döneminde yapılanma ve yeniden yapılanma olayları birlikte gerçekleşse de baskın olan kemik yapılanmasıdır (95). Yeniden yapılanma yetişkin bireylerde baskın hale gelmektedir (96). Bunun nedeni olarak ilerleyen yaşın etkileri ve hipotiroid gibi hastalıklar görülmektedir (97).

Kemikte yapılanma olayının temeli sayılan mekanostat teorisi, kemiğin mekanik direnç kazanmak amacıyla şeklini en iyi hale getirme çabası olarak bilinip, Frost tarafından öne sürülmüştür (98). Kemikte meydana gelen deformasyonu μ strain adı verilen üniteler ölçmektedir. Oluşan bu deformasyon, mekanoduyarlı kemik hücreleri osteositler aracılığı ile sinyalin durumuna bağlı olarak osteoblast veya osteoklast hücrelerini uyarmaktadır. Mekanostat teorisi şekilde diagram aracılığı ile gösterilmiştir (99) (Şekil 4).



Şekil 4. Mekanostat teorisi (99)

Kemik yeniden yapılanması olayında önce eski kemik ortadan kaldırılır. Sonra yeni oluşan kemik matriksi (osteoid) tarafından yeri doldurulur. Ardından matriksin mineralizasyonu ile birlikte yeni kemik meydana gelir (100). Doğumdan önce başlayıp ölene kadar devam eden bu olayın amacı mikro hasarların

birikmesini engellemektir. Kemik yeniden yapılanmasının tamir gereken bölgelerde olması beklenirken genelde rastgele dağılım göstermektedir (101). Remodelling olayında kemik yapım ve yıkımı bir denge içinde ilerlemektedir. Eğer bu aşamaların dengesi bozululursa kemik yıkımı sonucunda osteoporoz, aşırı kemik yapımı sonucundaysa osteopetrozis hastalıkları meydana gelmektedir.

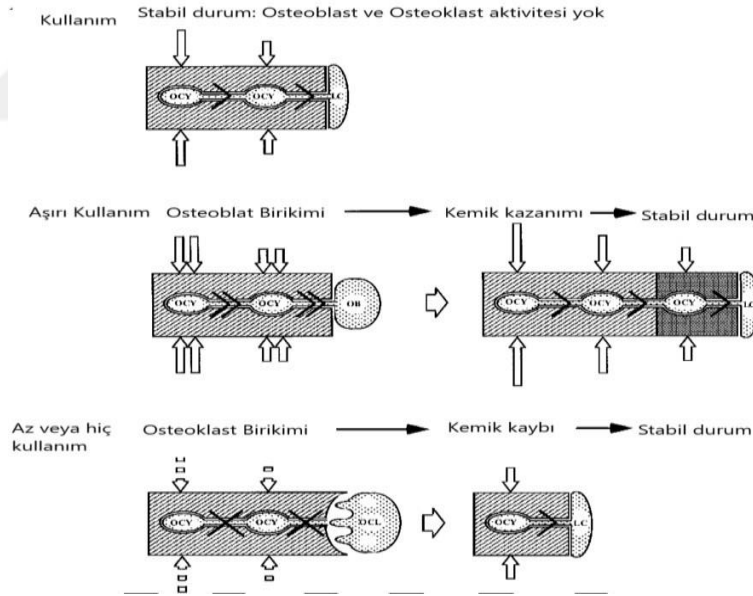
3.1.3.1. Kemiğin Yapılanması

Kemiğin yapılanması aşaması, iskelete gelen mekanik güçler veya fizyolojik etkenlerle oluşan tepkilere karşı kemiğin hacim ve şekil değiştirmesini sağlayan aşamadır. Biyomekanik güçlere osteoblast ve osteoklastların vereceği cevaplarla kemik enine ve boyuna değişim gösterebilmektedir. Kemikte yapılanma işlemi osteoblastlar tarafından yeni kemik formasyonu ile yapılanma (formasyon yapılanması) ve osteoklast aracılı yıkım ile yapılanma (rezorptif yapılanma) olarak ikiye ayrılır.

Bu iki yapılanma tipinde de esas amaç kemik kütlesini arttırmaya ek olarak kemiğin mevcut şeklini korumak veya yeni duruma uygun şeklin kazanımıyla stabil hale gelmesini sağlamaktır. Çocukluk ve gençlik dönemlerinde kemik yapılanması kemiklerin şeklinin, boyunun ve pozisyonunun görevlerini yerine getirebilecek hale gelmesi açısından önemlidir. Yetişkin dönemdeyse kemik yapılanması patoloji varlığı dışında çocukluk dönemine göre çok daha az görülmektedir.

Kemik yapımı işleminde ana sinyal, lokal dokunun maruz kaldığı direnç miktarıdır. Şayet direnç belli bir seviyeyi aşarsa kemik matriksinin eklenmesi için formasyon modellemesi başlamaktadır. Eğer direnç düşük olursa resorptif yapılanma uyarılıp, kemik yok edilmektedir (102).

Yapılanma olayı aktivasyon sonrası formasyon veya rezorpsiyon olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır. İlk olarak aktivasyon aşaması gerçekleşir. Bu aşamada öncü hücreler yapılanma olayının gerçekleşeceği bölgede yetişkin osteoblast veya osteoklastlara dönüşmek üzere toplanmaktadır. Aktivasyon aşaması gerekli hücreler aktive olduktan sonra bitmektedir. Kemğin yapılanması formasyon veya rezorpsiyon aşaması yeteri kadar kemik kütlesi yok edilene veya üzerine eklenene kadar sürmektedir. Kullanılan ve maruz kaldıkları mekanik direnç seviyesi çok yüksek olmayan kemikler yapılanma açısından stabil durumda kabul edilmektedir. Aşırı kullanılan ve bunun sonucunda yüksek dirençle karşılaşan kemikler ve kullanılmadıkları için hiç bir direnç ile karşılaşmayan kemikler yapılanmayla stabil duruma getirilmektedir (103) (Şekil 5)



Şekil 5. Kemikte kullanım durumu ve dirence bağlı olarak yapılanma işlemi (103)

3.1.3.2. Kemiğin Yeniden Yapılanması

Kemik dokusu bir taraftan yıkılıp doku kaybederken diğer taraftan kaybedilen dokunun yerine yenisini koyarak devamlı yenilenen canlı ve dinamik bir dokudur. Yeniden yapılanma, iskelet gelişiminin tamamlanmasının ardından kortikal ve süngerimsi kemikte eski kemiğin yenilenmesi ile sonuçlanan ve ölüme kadar devam eden bir süreçtir. Yeniden yapılanma süreci küçük kırıkların tamiri ile mekanik destek ve mineral homeostazının sağlanması, kemikte strese karşı adaptasyon oluşumu açısından önemlidir. Bu süreçte dört ayrı kemik hücresinin eşgüdümlü çalışması gerekmektedir. Yeniden yapılanma sürecinde kemik osteoklastlar tarafından yaklaşık 30-40 günde yıkılmakta, yaklaşık 150 günde ise yıkılan kemiğin yerine yeni kemik yapılmaktadır (104). Bu süreç ortalama altı ay içinde tamamlanmaktadır. Fakat hastalıklar ve kişinin biyolojik yapısı gibi etkenlerle daha uzun sürebilmektedir.

Kemiğin yeniden yapılanması sürecinde kemik yapımı ve yıkımındaki dengesizlik hastalıkları beraberinde getirmektedir. Artan kemik yapımı sonrasında yetersiz kemik yapımı görülürse osteoporoz hastalığı meydana gelmektedir.

Kemik yeniden yapılanması periostal, endokortikal, trabeküler ve intrakortikal olmak üzere dört farklı kemik yüzeyinde meydana gelmektedir. Büyüme, gelişim ve yetişkinlik dönemlerinde yaygın şekilde endokortikal/kansellöz ve intrakortikal yeniden yapılanma görülmekteyken, periostal yüzeyde diğerlerine göre hayatın tüm aşamalarında çok daha az görülmektedir. Mikro-hasar sonrası oluşan sinyaller ve buna bağlı oluşan osteosit apoptoz, hedefli yeniden yapılanma için kabul görmüş olan iki sinyal tipidir.

Osteositler mikro-hasar sonrasında aralarındaki sitoplazmik bağlantıların kopmasıyla hasar görüp, bağlantı ağından ayrılmakta ve apoptoz yolağına girmektedir. Osteositler apoptoza uğramadan hemen önce nükleer faktör kappa B ligand reseptör aktivatörü ligandı (RANKL) gibi osteoklast aktive edici faktörleri salgılamaktadır. Yani ölmek üzere olan osteositler osteoklastlara kendilerini yeniden yapılanma aktivitelerine başlamaları için hedef olarak göstermektedir (105).

Rastgele yeniden yapılanma işlemiyse plansız gerçekleşmektedir. Osteoklastlar bu olayda bölgeye özgül bir sinyal almadan kemiği eritmeye başlamaktadır. Rastgele yeniden yapılanma olayları ise kalsiyum homeostazında rol oynarken hedefli yeniden yapılanma olayı mekanik baskı görmüş bölgelerde tamiri sağlamaktadır. Hem hedefli hem rastgele yeniden yapılanma işlemi aktivasyon, rezorpsiyon, geri dönüş, formasyon ve mineralizasyon şeklinde aşamaları içeren aynı hücresel olaylar çerçevesinde ilerlemektedir. Beş aşamalı bu döngüye yeniden yapılanma döngüsü denilmektedir (105) (Şekil 6).

3.1.3.3. Yeniden Yapılanmanın Aktivasyon Aşaması

Yeniden yapılanma döngüsünün ilk aşaması aktivasyon aşamasıdır. İstirahat halindeki kemiğe gelen sinyallerle bu süreç başlamaktadır. Bu sinyalleri, östrojen veya parathormon gibi hormonal değişiklikler ve mekanik sinyaller oluşturmaktadır. Mekanik tepki ve mikro-hasar oluşturabilecek fiziksel güçler osteositler tarafından algılanabilen biyolojik sinyallere dönüştürülmekte ve aktivasyon aşamasında kullanılmaktadır (106). Aktive edici sinyalin iletimi ardından osteoklast öncü hücreleri aktive edilir. Bu aktivasyon RANK-RANKL etkileşimi ile sağlanmaktadır (107). Osteoklastlar farklılaşarak büyük ve çok

çekirdekli hücrelere dönüşüp, kemik yüzeyine bağlanarak hidrojen iyonları ve katepsin k gibi enzimler ile kemik matriksini eritmeye başlamaktadır (108).

3.1.3.4. Yeniden Yapılanmanın Rezorpsiyon Aşaması

Ortalama 2-4 hafta içinde yeniden yapılanmanın osteoklast bağımlı kemik rezorpsiyonu aşaması gerçekleşmektedir (109). Osteoklastlar kemikte pH'ı 4.5'e kadar düşüren hidrojen iyonlarını proton pompaları ve hücre zarlarındaki klor kanalları ile rezorpsiyon bölgesine salgılamakta ve böylece kemik mineralinin parçalanmasını sağlamaktadır (110).

Organik kemik matriksinin sindirimini osteoklastların salgıladığı matriks metalloproteinaz 9, katepsin k ve benzer diğer enzimler gerçekleştirmektedir (111). Sindirim neticesinde trabeküler kemiklerin yüzeyinde Howship Lagünü, kortikal kemiklerin yüzeyinde ise Haversian Kanalı adı verilen boşluklar meydana gelmektedir. Rezorpsiyon evresi bitince çok çekirdekli osteoklastlar apoptoza uğramaktadır. Apoptoz sistemi aşırı yıkımı engellemek için kemiğe destek sağlamaktadır (112).

3.1.3.5. Yeniden Yapılanmanın Geri Dönüş Aşaması

Yeniden yapılanmanın geri dönüş aşaması yıkımdan yapıma geçilen bir dönemdir. Rezorpsiyon işleminin ardından oluşan boşluklar sindirilmemiş demineralize kollajen matriksi ile kaplı bir şekildedir (113). Kökeni bilinmeyen tek çekirdekli bir hücre, bu kollajen kalıntılarını temizleyerek osteoblastların kemik yapımını gerçekleştirebileceği bir yüzey hazırlamaktadır.

Rezorpsiyon aşaması sonunda meydana gelen rezorpsiyon boşlukları monosit, osteosit ve osteoblast öncüleri de dahil olmak üzere bir çok hücreyi

içermektedir. Kemik yapımının başlaması için bu hücreler gerekli bölgelere toplanmaktadır. Kemik yıkımının bitişi ile kemik yapımının başlayış dönemini bağlayan sinyaller ise hâlâ keşfedilememiştir. Kemik matriksinden türeyen faktörlerden transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) gibi sinyallerin bu görevi gerçekleştirdiği düşünülmektedir (114). Osteoblastlar tarafından RANKL üretimini TGF- β engellemekte ve böylece osteoklastlar tarafından gerçekleşen rezorpsiyona olumsuz etki etmektedir (115). Bu esnada osteoklastların yerini kemik yapıyla ilişkili osteoblast kökenli hücreler almaktadır.

Rezorpsiyonun ardından kemik yüzeyinde kollajen parçaları kalmakta ve bu parçalarının temizlenmesi gerekmektedir. Stromal hücreler bu temizleme işlemi için özelleşmiş hücrelerdir. Aynı zamanda bu özelleşmiş hücreler yeni kemik matriksini oluşturmakta, osteon ve hemiosteonları çevrelerini saran eski matriksten ayırmaktadır.

3.1.3.6. Yeniden Yapılanmada Oluşum Aşaması

Kemik yapımı 4 ile 6 ay arası bir zaman diliminde gerçekleşmektedir (116). Osteoklastların oluşturduğu boşlukları osteoblastlar protein bazlı yeni matriksi sentezleyerek doldurmaktadır (117). Bu yeni kemik matriksi tip 1 kollajen gibi proteinleri içermektedir. Tip 1 kollajen fiberlerinin görevi organik olmayan hidroksiapatit kristalleri için bir temel oluşturmaktır. Osteoblastlar membran bağlı veziküllerinde fosfat, kalsiyum ve proteoglikanlar gibi mineralizasyon inhibitörlerini yok edebilecek enzimleri taşıyarak mineralizasyonu düzenlemektedir (117). Kemik hacminin %50'si kemik matriksinden, %40'ı kemik kütlesinden meydana gelmektedir (101). Yeni kemik matriksi iki farklı aşamada mineralize edilerek yeni kemiği oluşturmaktadır. İlki olan primer mineralizasyon

aşaması 2-3 hafta sürmektedir. Martiksin son mineral bileşeninin %70'i olan kalsiyum ve fosfat iyonlarının kollajen matrikse katılması da bu aşamada gerçekleşmektedir. Diğer aşama olan sekonder mineralizasyon aşamasında, mineral kristalleri eklenmekte ve bu kristallerin matürasyonu gerçekleşmektedir. Primer mineralizasyon aşamasına göre sekonder mineralizasyon aşaması çok daha uzun sürmektedir. Kemik yapılanmasının bitmesinin ardından osteoblastların %50 ile %70'i arasındaki bir grubu apoptoza uğrarken, geri kalan hücreler osteosit veya kemiği kaplayan hücrelere (bone lining) farklılaşmaktadır. Kemiği kaplayan hücrelerin doğru uyaranlar altında tekrar osteoblastlara farklılaşabilme özelliği vardır. Ayrıca bu hücreler, kemikten hücre dışı sıvılara mineral iyonlarının taşınmasını düzenleyip, kan beyin bariyeri benzeri görevi görmektedir (117).

3.1.3.7. Yeniden Yapılanmada Mineralizasyon Aşaması

Kemik matriksi oluşumundan 30 gün sonra yeniden yapılanma sürecinin son aşaması olan mineralizasyon (kalsifikasyon) aşaması başlamaktadır. Bu aşama trabeküler kemikte 90 gün sürerken kortikal kemikte 130 gün sürmektedir. Kemik matriksini oluşturan osteoblastlar bu işlemin ardından, matriksin mineralizasyonunu da gerçekleştirmektedir (118). Kemik mineralizasyonu aşamasında hidroksiapatit kristalleri kollajen fibrilleri arasına dağıtılmaktadır. Mineralizasyon aşamasının ne şekilde ilerlediği tam bilinmemekle beraber kalsiyum ve fosfat konsantrasyonunun sistematik düzenlenmesi ve osteopontin, pirofosfatlar gibi lokal mineralizasyon inhibitörlerinin, mineralizasyonun kontrolünü gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Mineralizasyon olayının kritik düzenleyicilerinden biri de inorganik fosfatın, fosfata oranıdır (119).

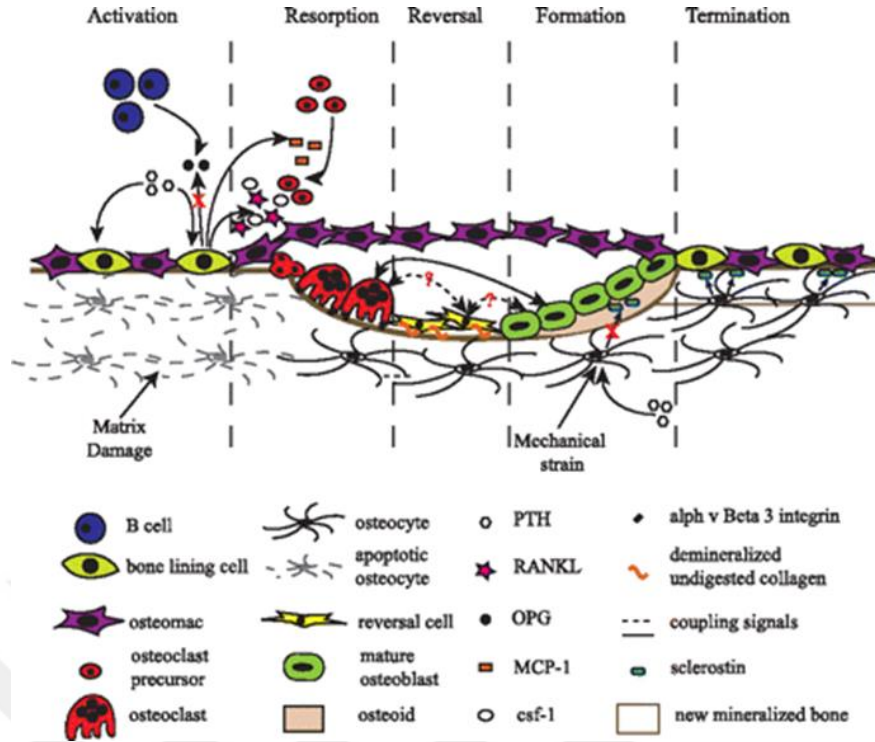
Mineralizasyon aşamasının ardından kemik, dinlenme aşamasına girmekte ve bu durumda yapılan ve yıkılan kemiğin miktarı eşit olmaktadır (120).

Mineralizasyonun bitmesinin ardından osteoblastlar apoptoza uğrar, kemiği kaplayan hücrelere dönüşür veya kemik matriksi içine gömülerek osteositlere farklılaşırlar. Farklılaşmış osteositler ‘WNT sinyal yolağı’ gibi osteogenezi destekleyen yolların karşıtı olan ‘SOST’ gibi moleküllerin salgılanmasıyla kemiğin yeniden yapılanmasının bitiş sinyalini kemiğe vermektedir (121).

3.1.3.8. Yeniden Yapılanmada Dinlenme Aşaması

Kemik yüzeyi tamamen, yeniden yapılanma sürecinin bitmesiyle kemiği kaplayan hücreler ile kaplanmaktadır. Artık kemik dinlenme aşamasına girmiştir. Yeniden yapılanma süreci bittikten sonra bile yeniden yapılanmanın gerçekleştiğı bölgedeki kemik matriksi mineralize olmaya devam etmektedir.

Yeniden yapılanmanın aktivasyon, rezorpsiyon, geri dönüş, oluşum, dinlenme aşamaları ve bu aşamalarda görev alan hücreler aşağıdaki şekilde şematize edilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Yeniden yapılanmanın aktivasyon, rezorpsiyon, geri dönüş, oluşum, dinlenme aşamaları ve bu aşamalarda görev alan hücreler (105)

3.1.3.9. Doruk Kemik Kütlesi

Yapım ve yıkım işlemleri kemik dokusunda yaşam süresince devam etmektedir. Genç yaşta kemik yapımı, ileri yaşta ise kemik yıkımı daha baskın olmaktadır. Genç bireylerde kemik yapımındaki artış, kemikteki mineralizasyonu artırmaktadır. Böylece kemik kütle ve hacim kazanmaktadır.

Doruk kemik kütlesi (DKK) büyüme ve gelişme sırasında artarak, en yüksek seviyeye ulaşan maksimum kemik yoğunluğu olarak tanımlanmıştır (122). Doruk kemik kütlesinin yaklaşık % 90'ı kadınlarda 18, erkeklerde 20 yaşına kadar yapılmaktadır. Bu yaşa kadar olan dönem bu nedenle kemik sağlığı için önem taşımaktadır (123). Yirmili yaşların bitimine kadar gelişmeye ve büyümeye devam eden kemik dokusu, bu yaşlarda en yüksek seviyeye ulaşarak maksimum güç ve

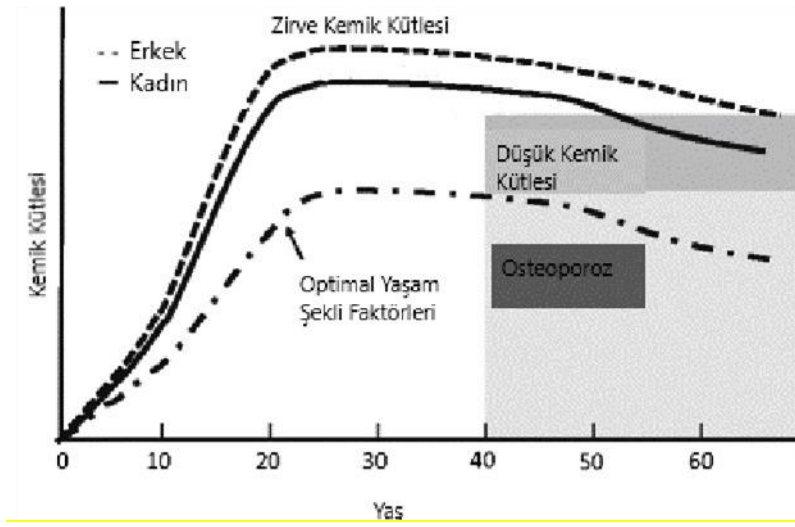
yoğunluğa ulaşmaktadır. Doruk kemik kütlesi bileşenleri %75 genetik bileşenler ve %25 oranında çevresel etmenleri içermektedir (124). Doruk kemik kütlesi seviyesini cinsiyet, ırk, hormonal faktörler, beslenme, fiziksel aktivite, yaşam alışkanlıkları ve çocuk emzirme gibi aktivitelerin etkilediği düşünülmektedir (125). Doruk kemik kütlesini bu parametrelerin hangi seviyelerde etkilediği tabloda gösterilmiştir (126) (Tablo 1).

Tablo 1. Doruk Kemik Kütlesi ilişkili parametreler ve etki seviyeleri

Etki seviyesi	Makrobesin	Mikrobesin	Yemek Düzeni	Bebek Emzirme	Ek Madde Kullanımı	Fiziksel Aktivite
A		Kalsiyum				Kemik Kütlesi ve Dansitesi üstüne etkisi
B		D vitamini	Süt ürünleri			Kemik Yapısı Üstüne etkisi
C			Lifli besinler Meyve ve sebze		Sigara kullanımı	
D	Yağ	Kalsiyum ve d vitamini dışındaki mikrobesinler		Anne sütü	Alkol kullanımı	

A-güçlü ilişki, B-orta seviyede ilişki, C-sınırlı seviyede ilişki, D-yetersiz ilişkiyi göstermektedir (126).

İlerleyen yaş, hormonlar, genetik faktörler, hastalık veya ilaç kullanımı gibi nedenlerden dolayı otuzlu yaşlardan itibaren kemik kütlesi azalmaya başlamaktadır. Kemik kütlesindeki bu azalma osteoporoza sebep olabilmektedir (126) (Şekil 7). İleri yaşlarda fiziksel aktivite ve düşme sonucu oluşmamış olan kırıkların sebebi olarak düşük kemik kütlesi gösterilmektedir (127). Doruk kemik kütlesinin yüksek seviyede olmasının yaşamın ileri dönemlerinde osteopoz ve kırık riskini azaltacağı bilinmektedir. Bu yüzden gençlerde yüksek doruk kemik kütlesini oluşturacak faktörlere daha çok dikkat edilmelidir.



Şekil 7. Kadın ve erkekte yaş-kemik kütlesi ilişkisi (126)

3.1.4. Kemik Döngüsünün Biyokimyasal Belirteçleri

Biyokimyasal belirteçlerden, metabolik kemik hastalıklarının ayırıcı tanısının yapılması, osteoporoz patogenezinin belirlenmesi, erken hastalık tanısının konması, ilaç etkinliğinin izlenmesi, osteoporotik kırık riski taşıyan hastaların saptanması, tedavi seçimi ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesi amacıyla yararlanılmaktadır (127).

Kemik döngüsünün değerlendirilmesi, kemik yapımı/yıkımı esnasında dolaşıma geçen matriks elemanlarının, osteoklast ve osteoblastların enzimatik aktivitelerinin ölçülmesiyle gerçekleşmektedir (128). Kemik dokusunun biyokimyasal belirteçleri kemik yapımı ve yıkımını gösteren belirteçler şeklinde ikiye ayrılmaktadır. Aşağıdaki tabloda bu belirteçler ayrıntılı verilmiştir (129) (Tablo 2).

Tablo 2. Kemik yapımı ve yıkımının biyokimyasal belirteçleri (129)



3.1.4.1. Kemik Yapımının Biyokimyasal Belirteçleri

Aktif osteoblastların osteoblast gelişiminin farklı evrelerinde salgıladıkları direkt veya indirekt ürünler kemik yapım belirteçlerini oluşturmaktadır. Bu belirteçler kemik formasyonunun ve osteoblast fonksiyonunun farklı yönlerini yansıtmaktadırlar (130).

a. Serum Osteokalsin Düzeyi

Osteoblastlardan sentezlenen serum osteokalsin, kemik matriksinin kollajen olmayan en önemli proteinlerinden biridir ve kemik için spesifiktir. Menopozdan sonra kemik dönüşümündeki osteoblastik aktiviteyi yansıtır ve yaşa bağımlıdır. Dolaşımdaki ömrü çok kısa olan osteokalsin diurnal bir ritim göstermektedir (131).

Serum osteokalsin düzeyi kemik döngüsünün arttığı metastatik kemik hastalıkları, hipertroidi, osteomalazi, primer hiperparatroidi, akromegali, renal osteodistrofi gibi durumlarda artmaktadır (131).

b. Serum Alkalen Fosfataz (ALP) Düzeyi

Menopoz sonrası dönemde yaş ilerledikçe alkelen fosfataz aktivitesi de artmaktadır. Alkalen fosfataz, yeni sentezlenen osteoid dokuya hidroksiapatit kristallerinin yerleşmesini pirofosfatı hidrolize ederek sağlamaktadır (128). Total alkalen fosfatazı düzeyi paget hastalığı, osteomalazi, renal osteodistrofi, çocuklarda büyüme dönemi, kırıklardan sonra, primer hiperparatiroidi, malign iskelet hastalıkları, hepatobiliyer hastalık gibi durumlarda artmaktadır (132).

Serumda bulunan alkalen fosfatın %95'i karaciğer ve kemikten kaynaklanmaktadır. (K-ALP) kemik yapımı esnasında osteoblastlardan salgılanarak dolaşıma katılmaktadır. Yaş ile kemik döngüsünü arttıran osteoblast yapımının arttığı zamanlarda serumdaki seviyesi artmaktadır. Serumda artan K-ALP

aktivitesi kemik formasyonunu ve kemik mineralizasyonunu bize göstermektedir. Kemige özgü olan alkalen fosfataz, yeni sentezlenmiş mineralize olan kemik dokusuna hidroksiapatit kristallerinin yerleşmesinde ve pirofosfatın hidrolize edilmesinde görev almaktadır (133).

c. Prokollagen Tip I Propeptidleri (PICP)

Tip I kollajen, kemik organik matriksinin %90'ını oluşturmaktadır. Kollajen sentezi esnasında, aminoterminal ve prokollajen karboksiterminal olarak isimlendirilen propeptidlerin C ve N terminalleri molekülü terk edip dolaşıma karışmaktadır.

Prokollagen Tip propeptidlerinin (PICP) kemik yapımının biyokimyasal belirleyicisi olarak kullanılmasının yanı sıra; diş, tendon ve deri gibi diğer dokularda da farklı miktarlarda bulunması sebebiyle kemik yapımına özgü belirleyici faktör olarak kabul edilmemektedir. Sirkadiyen ritimden ve dolaşımdaki seviyelerinin gıda alımından etkilenmemesi, oda ısısında stabil olması PICP'nin avantajları arasında sayılmaktadır (134).

3.1.4.2. Kemik Yıkımının Biyokimyasal Belirteçleri

Kemik yıkımı belirteçlerinin kemik kaybının ve kırık riskinin göstergesi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Dolaşıma osteoklast aktivasyonunun son ürünü olarak geçmektedir ve atılımları büyük oranda renal yolla olmaktadır (135).

a. Kemik Siyaloprotein II: Kemik mineralizasyonunun başlangıcında ve hidroksi apatit kristallerinin yapılanmasında rol oynamaktadır (136).

b. Serum Katepsin K: Kemik yıkımı esnasında osteoklastlar tarafından tip I kollajenin yıkımında kullanılmaktadır. Birincil protein yıkan serum katepsin k enziminin kullanımı yaygın değildir (137).

c. 24 Saatlik İdrar Kalsiyumu: Kullanımı kolay olmasına rağmen kalsiyumun geri emilimi böbrek eşik değerinden ve diyetteki kalsiyum miktarından etkilendiği için Ca geri emilimi duyarlılığı ve özgülüğü düşüktür (139).

d. Hidroksilizin Glukozidler: Birincil olarak kollajen ve kollajen benzeri peptidlerde bulunan aminoasitlerdir. Kemik yıkımının duyarlı bir göstergesidir fakat kullanımı yaygınlaşmamıştır. Sıklıkla çalışmalarda kullanılmaktadır (138).

e. Serum Tartarat Dirençli Asit Fosfataz (TRAP) Aktivitesi

Dalak, eritrosit, kemik, trombosit ve prostat olmak üzere çeşitli dokularda bulunan asit fosfataz lizozomal bir enzimdir. Serum seviyeleri kemik döngüsünün arttığı durumlarda (Metastatik kemik tümörü, paget, kadınlarda ooferektomiden sonra ve multipl myelom) artmaktadır (139).

f. Tip I Kollajen N-Telopeptid ve C-Telopeptid Yıkım Ürünleri

Kemik yıkım belirteci olarak kullanılır ve büyük oranda kemikte bulunmaktadır (140). Tip I kollajen karboksi ve amino terminalinde iki adet çapraz bağ içermektedir. Menopoz sonrasında, paget hastalığında, primer hiperparatiroidide ve hipertiroidide, üriner sistemden telopeptid salınımı artmaktadır. Osteoporozu olan hastalar rezorpsiyon önleyici tedavi gördükleri zaman telopeptidlerin üriner seviyeleri ciddi biçimde azalmıştır (130).

g. İdrar Hidroksiprolin ve Hidroksilizin Düzeyi

Kullanılan en eski kemik yıkım belirteçlerinden biri idrar hidroksiprolinidir. Yeni kemik yıkım belirteçlerine kıyasla daha az özgü olması sebebiyle kullanımı artık yaygın değildir (128).

Aminoasit yapısında olan hidroksiprolin, kollajen yıkımıyla idrara geçmektedir.

Vücuttaki toplam kollajenin yarısı kemikte bulunmaktadır. Bu yüzden hidroksiprolin atılımı, kemik yıkımının göstergesi olarak kullanılmaktadır. Hidroksilizin de aminoasit yapısında bir kollajendir ve kollajen yıkımı esnasında dolaşıma geçmekte, idrardan atılımı ölçülebilmektedir (130).

h. Üriner Pridinolin ve Deoksipridinolin Düzeyleri

Osteoklastların kemik matriksini parçalamasıyla salgılanıp ve ekstraselüler matriksteki kollajeni sabitleyen çapraz bağları oluşturmaktadır. Kemik ve dentinde deoksipridinolin, kemik ve artiküler kartilajda pridinolin bulunmaktadır. Serum osteokalsin ve hidroksipridiniyum düzeylerinin ölçülmesinin osteopenik hastaların gelişiminin izlenmesinde daha yararlı olduğu bildirilmektedir (141).

ı. Nükleer faktör kappa β reseptörü (RANK), RANK Ligandı, Osteoprotegerin

Osteoklast aktivasyonu ve farklılaşmasında rol oynarlar. Kemik metabolizması belirteci şeklinde kullanılabilirler fakat özgüllükleri sınırlıdır (131). Yapılan ilk çalışmalarda stromal hücreler ve osteoblastların ürettiği lokal faktörlerce kemikte osteoklast aktivasyonunun düzenlendiği gösterilmiştir (142). Daha sonraki çalışmalarda osteoklast uyarımının osteoblast hücrelerinin yüzeyi ile ilişkili

olduğu belirlenmiştir (143). Osteoklastogenez için kemik iliği hücreleri osteoklast ve osteoblastlar arasında bağlantı olması gerektiği ve OPG/RANK/RANKL sistemi ile bu bağlantının mümkün olduğu ise son çalışmalarda belirtilmiştir (144).

i. Osteoprotegerin (OPG=OCIF= Osteoklast inhibitör faktör)

Yapılan iki ayrı çalışmanın sonucunun aslında aynı olduğu tespit edilerek tanımlanmıştır (145). Kemik iliği stromal hücreleri ve osteoblastların ürettiği osteoprotegerin, glukoprotein yapısında çözünebilir bir sitokin reseptörüdür (146). Osteoprotegerin membran üzerinde ve doğrudan sinyal kapasitesi olmayan sitoplazmik alanda bulunmamaktadır. Etkisini tuzak reseptörü olarak salgılanmasının ardından göstermektedir. Osteoprotegerin osteoklastların farklılaşma ve aktivasyonunu baskılamaktadır (147).

Yapılan çalışmalarda OPG artışının osteopetrozise ve osteoklastların sayısında azalışa yol açtığı, OPG üretimi durdurulduğunda ise osteoklast sayısını artırarak şiddetli osteoporoza neden olduğu gösterilmiştir (148). Osteoprotegerin üretimini östrojen, TGF ve TNF- α artırırken; PTH, IL-1, 1,25(OH)₂ vitamin D3, glukokortikoidler ve PGE2 azaltmaktadır (149).

j. Nükleer faktör kappa β reseptör aktivatör ligandı (RANKL=OPGL=ODF)

Kemik iliği stromal hücreleri ve osteoblastlar tarafından sentezlenen RANKL osteoprotegerinin bulunmasından kısa bir süre sonra bulunmuştur. Tümör nekroz faktör ligandı (TNFL) ailesindendir. Kemik ve kemik iliğinin yanında lenfoid dokuda da mRNA'sı saptanmıştır (150). Çözünebilir ve membrana bağlı olmak üzere iki farklı formda bulunmaktadır. Osteoklast apoptozisini baskılayan reseptör aktivatör kappa β , osteoklast farklılaşma ve aktivitesini de

uyarmaktadır (158). Bir tuzak reseptörü olan osteoprotegerin RANKL'in etkilerini engellemektedir (150). Nükleer faktör kappa- β reseptörü ligandı üretimini TGF- β azaltmakta; PTH, TNF- α , IL-1 β , 1,25(OH) $_2$ vitamin D $_3$ ve glukokortikoidler arttırmaktadır (149).

k.Nükleer faktör kappa β reseptörü (RANK)

Nükleer faktör kappa β reseptörü, mRNA'sı T ve B hücreleri, fibroblastlar, osteoklastlar, monosit-makrofaj hücreleri, osteoklast öncülleri ve dendritik hücrelerde bulunan bir reseptördür. Nükleer faktör kappa β reseptörünün etkilerine aracılık etmektedir. İlk defa dendritik hücrelerin yaşamsal faktörü olarak tanımlanmıştır. Yapılan deneylerde RANK'ın fonksiyonları engellendiğinde osteopetroziste şiddetli artış ve osteoklastlarda azalma tespit edilmiştir (151). Kemik yeniden yapılanma sürecinde son zamanlarda üzerinde yoğunlaşılın OPG/RANKL/RANK sisteminin önemli bir rolünün olduğu sonuç olarak anlaşılmıştır.

3.1.5. Kemik Yoğunluğu Sınıflaması

Kemiğin kalitesi dental implantların osseointegrasyon başarısında etkili olmaktadır. Kemiğin kalitesi, kemik yoğunluğu ile ölçülen bir birimdir (152). Kemik yoğunluğu, hem primer stabilitenin sağlanmasında hem de dental implant tedavisinin sonucunun belirlenmesinde çok önemlidir (153).

Kemiğin makroskobik kortikal veya trabeküler karakteristiklerine göre Misch tarafından yapılan bir sınıflama aşağıdaki gibidir (154).

- D 1 kemik: Atrofiye uğramış mandibula anterior bölgede görülen yüksek oranda mineralize olmuş kortikal kemikten oluşur.

- D 2 kemik: Mandibula ön ve arka bölge ile maxilla anterior bölgede görülen, kalın ve poröz kortikal kemik ile çevrili yoğun spongioz tabakadan oluşur.
- D 3 kemik: Daha çok maxilla anterior ve posterior bölge ile mandibula posteriorunda görülen ince ve poröz kortikal tabaka ile çevrili ince düşük yoğunlukta spongioz tabakadan oluşan kemiktir.
- D 4 kemik: Sıklıkla maxilla posterior bölgede görülen hemen hemen hiç kortikal tabakanın bulunmadığı düşük yoğunlukta spongioz tabakadan oluşan kemiktir.
- D 5 kemik: Henüz mineralizasyon sürecini tamamlayamayan kemiktir (154).

Kemiğin iyi hacim ve densiteye sahip olduğu mandibula anterior bölgede implant başarısının daha fazla olduğu, maxiller posterior bölgeye gidildikçe artan kemik porözitesi ve kortikal kemik hacminin azalması sonucu implant başarısızlık oranının arttığı yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (155).

3.1.6. Osseointegrasyon

Bütünleşme ve kemik kelimelerinin birleşmesiyle oluşan osseointegrasyonun ilk tanımı Brånemark ve arkadaşları tarafından “canlı kemik dokusu ile implant yüzeyi arasında fibröz bağ dokusu olmaksızın oluşan ve ışık mikroskobu düzeyinde görülen direkt bağlantı” şeklinde yapılmıştır (156).

Osseointegrasyona göre implant stabilitesi birincil (mekanik tip) ve ikincil (biyolojik tip) olmak üzere iki tipte incelenmektedir. Birincil implant stabilitesi, canlı kemikle diş implantı arasındaki birleşmeyi mekanik olarak sağlayan, osseointegrasyona ulaşmada kritik bir faktördür. İkincil stabilite ise, implant yüklemesinde ön şart olarak kabul gören stabil bir kemik implant teması oluşturmayı amaçlar ve hücre-hücre iletişimi ardından implant yüzeyine protein

absorbe edilmesiyle başlar. Hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve olgunlaşma (maturasyon) gibi yara iyileşme aşamaları bu biyolojik dinamik süreçte meydana gelmektedir (157).

3.1.6.1. Yara İyileşme Aşamaları

a. Pıhtılaşma Fazı (implant yerleşiminden birkaç dakika sonra):

Yaralanma sonucu damar geçirgenliği artar. Damar dışına savunma ve onarım hücreleri çıkar. Hasar gören damardan çıkan iyonlar ve albümin, fibrinojen ve fibronektin gibi proteinler ilk kez implant yüzeyine yapışır.

Yaralanmada amaç sıvı kaybının önüne geçerek doku bütünlüğünü korumaktır. Damarlar hasara uğradığında, etraflarındaki makro ve mikro düz kasların kasılmasıyla büzülür. Hasarlı damarların vazokonstriktörleri endotel ve trombositler, pıhtılaşma kaskadının içsel kısmını aktive eder.

Sonrasında pıhtılaşma için tıkaç, kollajen, trombositler, trombin ve fibronektinler gerçekleştirir. Meydana gelecek olan kemik iyileşmesinde bu kan pıhtısı geçici bir matris görevi görmektedir. İnflamatuvar yanıtı başlatan trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), tromboksan, transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF- α), transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) gibi sitokinleri ve büyüme faktörlerini trombositler serbestler (158).

b. İnflamasyon Fazı (4-6gün)

İnflamatuvar fazının yönetiminde hücreler sinyaller sorumludur. Bu fazda amaç iyileşme sırasında oluşacak artıkların uzaklaştırılması, bölgenin enfekte olmasının önlenmesidir. Bu bölgenin enfekte olmasına engel olmak için nötrofiller, ilk göç eden hücreleri oluştururlar. Tümör nekrozis faktör (TNF), transforme edici büyüme faktörü (TGF), interleukin (IL-1) ve bakteriyel ürünler gibi

inflatuar mediatörler artarken, prostaglandinler hazırlanır. Bu bölge etrafındaki kan damarlarında, artan nötrofil hücrelerin geçişini sağlamak için vazodilatasyon meydana gelir.

Fagosit bakterileri ve tüm doku artıklarını polimorfo nükleer lökositler aracılığıyla temizleyen hücreler makrofajlardır. Bu makrofajlar, implantasyonun ardından birkaç ay sonra da varlıklarını devam ettirirler. Fonksiyon sırasında ayrılan küçük oksit partiküllerin fagositozla uzaklaştırılması, biyolojik dokularla titanyumun dinamik oksit yüzeyinin etkileşmesi, makrofajların görevlerindendir (159).

c. Proliferatif Faz (3-14. günler)

Proliferasyon ilk 48 saat içinde başlayıp 10 gün boyunca devam etmektedir. Fibroblastlar fibronektin, tip III kolajen, glikozaminoglikanlardan meydana gelen geçici bir matrisi öncesinde düzenlenmiş reaksiyonlara yanıt olarak sentezlemeye başlarlar. Bu dönemin en önemli özelliği, hücreler arası geçici nitelikteki fibrin temelli maddenin (ekstrasellular matriks) yerini granülasyon dokusuna bırakmasıdır. Yaygın kolajen iyileşmiş ve hasarsız dokularda Tip 1 kollajenken, genellikle bu aşamada Tip 3 kollajen oluşur.

Mezenkimal hücreler oksijen yoğunluğuna göre fibroblast, osteoblast ve kondroblastlara farklılaşır. Aktive olarak osteoklastlar, kemik iyileşmesi için bir alan oluştururlar. Hücrelerin implant yüzeyine sabitlenmesini bir matris bileşeni olan integrinler sağlar. İmplant yüzeyine bu evrenin sonunda hücre dışı matris proteinleri yapışır (160).

d. Olgunlaşma (Maturasyon) Fazı (8 gün-1 yıl):

Bu süreç proliferasyon dönemini takip eder. Bu fazda kolajenaz ve matriks metaloproteinaz gibi yıkıcı enzimlerle hücreler arası maddenin yeniden organize olması sağlanmaktadır.

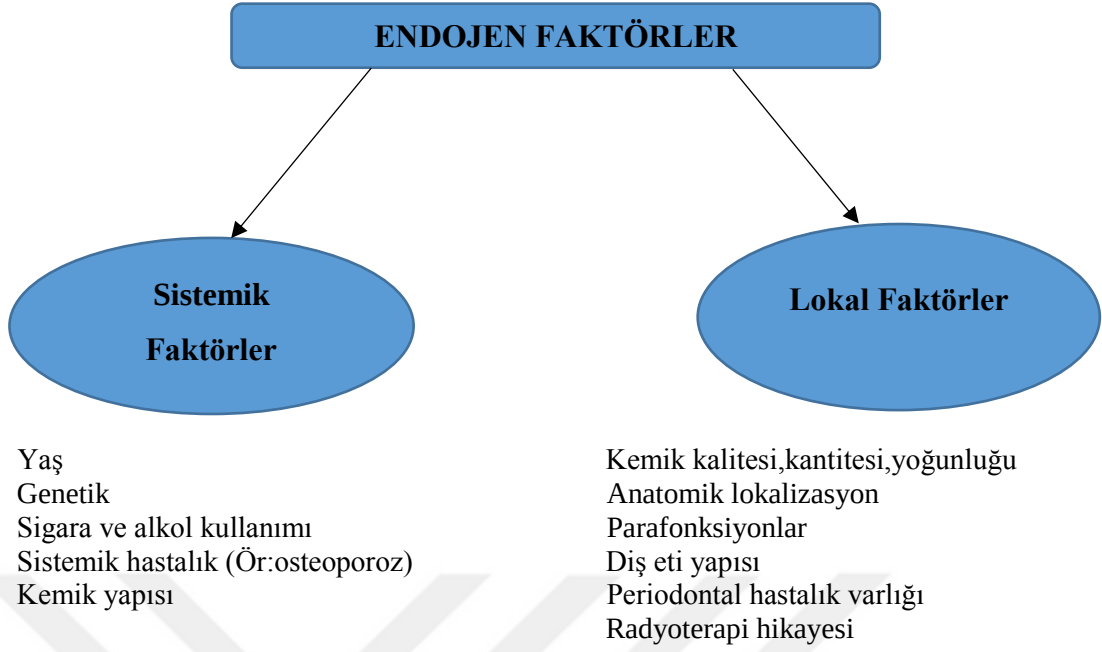
Kalsiyum fosfat ve karbonat ile oluşan organik matris mineralleşmektedir. İmplant yüzeyinin girintilerine organize olmamış bir kemik dokusu (Kallus) rastgele büyümüştür. Osseointegrasyonun temelini bu oluşturmaktadır.

Hayat boyunca osteoblastlar ve osteoklastlar arasındaki dinamik devam eder. Kemik yapısı, mekanik uyarılardan etkilenen bir süreç olan yeniden şekillendirme aşamasının ardından, düzenli lameller haline gelmektedir (159).

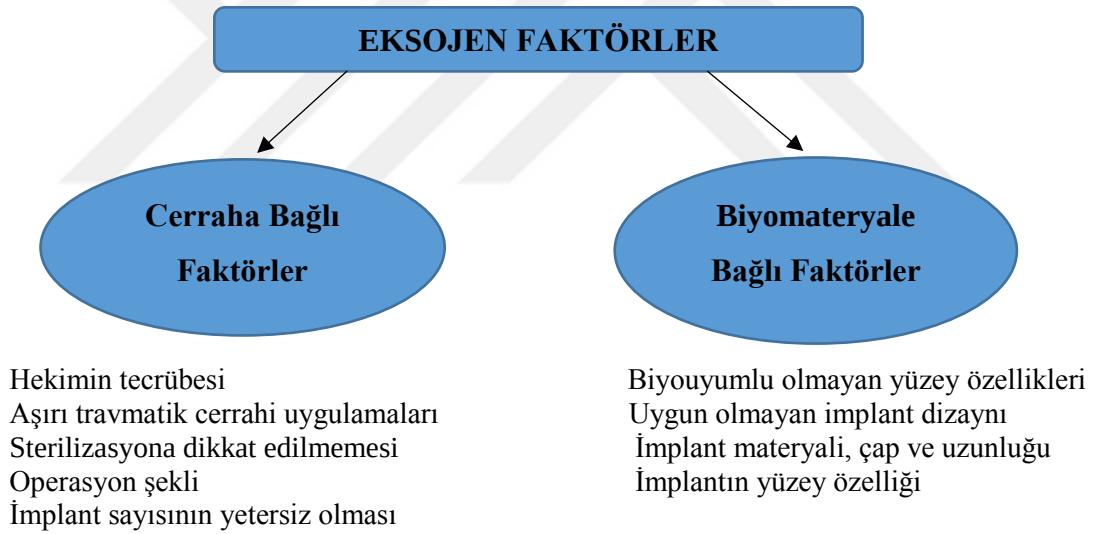
3.1.6.2. Osseointegrasyon Süreci ve Bu Süreci Etkileyen Faktörler

Osseointegrasyon süreci birçok faktörden etkilenmektedir. İmplantın çevresindeki kemikte meydana gelen rezorbsiyon osseointegrasyonun oluşmamasına ve implantın başarısızlığına sebep olacaktır. Kemik rezorbsiyonuna neden olan ana faktörlerden bazıları; plak birikimine bağlı oluşan lokal enflamasyon ve okluzal travmadır. Plak enflamatuvar cevabı sebebi ile oluşacak periodontal hastalık, kemik rezorbsiyonu ile sonuçlanacaktır (161).

Ayrıca osseointegrasyonu etkileyen faktörler, endojen ve eksojen faktörler olarak iki ana başlık altında değerlendirilir. Aşağıdaki şekillerde şematize edildiği gibi endojen faktörler sistemik ve lokal faktörler olarak ikiye ayrılırken, eksojen faktörler de cerraha bağlı faktörler ve biyomateryale bağlı faktörler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (162) (Şekil 8 ve 9).



Şekil 8. Osseointegrasyonu etkileyen endojen faktörler (162)



Şekil 9. Osseointegrasyonu etkileyen eksojen faktörler (162)

3.1.7. Osteoporoz

Bir iskelet hastalığı olan osteoporoz, kemik dokunun mikromimarisinde bozulma, kemik kütlesi ve kemik gücünde azalma, kemik kırık riskinde artışla kendini göstermektedir.



Şekil 10. Normal ve osteoporotik kemik

Kemik mineral yoğunluğu, Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA) ile ölçülmektedir. Vertebradan veya femurdan kemik mineral yoğunluğu ölçümünü Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) T skoru ile tanımlamaktadır. Görüntüleme yöntemlerinden Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA) verilerini kullanarak Dünya Sağlık Örgütü, osteoporozu tablodaki gibi tanımlamaktadır (139) (Tablo 2).

Tablo 2. Dünya Sağlık Örgütü osteoporoz tanımı (163)

Osteoporoz	Yerleşik Osteoporoz
T skoru < 2.5	T skoru < 2.5 ve bir veya birden fazla kırık olması
Normal	Osteopeni
T skoru > 1.0	1 > T skoru > 2.5

3.1.7.1. Osteoporozun Sınıflandırılması

Günümüzde osteoporoz ile ilgili yapılan çeşitli sınıflamalar aşağıdaki gibidir (164).

1-Etiyolojisine göre

- i. Primer osteoporoz
 - a.İdyopatik osteoporoz
 - Juvenil
 - Adult
 - b.İnvölüsyonel osteoporoz
 - Tip I- Postmenopozal
 - Tip II- Senil
- ii. Sekonder osteoporoz

2-Yaşa göre

- i. Juvenil osteoporoz
- ii. Erişkin osteoporoz
- iii. Senil osteoporoz

3- Tutulan kemik dokuya göre

- i. Trabeküler osteoporoz
- ii. Kortikal osteoporoz

4-Lokalizasyona göre

- i. Genel osteoporoz
- ii. Lokalize osteoporoz

5-Histolojik görünümüne göre

- i. Hızlı süreçli osteoporoz
- ii. Yavaş süreçli osteoporoz

Lokalizasyona ve etyolojiye göre yapılan sınıflama, en geçerli sınıflamadır (164). Etiyolojiye göre osteoporoz, primer ve sekonder olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer osteoporozun kaynağı çoğunlukla bilinmemektedir. Sekonder osteoporoza ise çeşitli faktörlerle altta yatan bazı hastalıklar neden olmaktadır.

3.1.7.1.1. Primer Osteoporoz

A. İnvölüsyonel Osteoporoz

a. **Tip I Osteoporoz (Postmenopozal osteoporoz):** Daha çok trabeküler kemik kaybı ile karakterize ve 50-75 yaş aralığında görülmektedir. Kemik kaybı en çok menopoz sonrası ilk 3 ve 4 yıl olmaktadır. Kemik kaybının en büyük nedeni osteoklastik aktivitenin artmasıdır. Osteoklastik aktivitenin artması, östrojen seviyelerinin düşmesi ve osteoblast apoptozunun artması yapım ve yıkım dengesini bozmaktadır. Bu süreçte $1,25(\text{OH})_2$ vitamin D_3 üretimi azalır, paratiroid hormon (PTH) salınımı azalır, kalsitonin salınımı artar ve bu da kalsiyum emilimini bozarak kemik kaybını hızlandırır. En belirgin kemik bulguları basit bir travmanın ardından oluşan distal radius ve vertebra kırıklarıdır (165).

b. **Tip II Osteoporoz (Senil osteoporoz):** Kortikal ve aynı zamanda trabeküler kemik kaybıyla karakterize tip II osteoporoz, 70 yaşın üstündeki kadın ve erkekleri eşit olarak etkilemektedir. Azalmış osteoblastik aktivite ve sekonder hiperparatiroidizm, kemik kaybından sorumlu iki mekanizmadır (165). Patofizyolojisinde insülin-benzeri büyüme faktör seviyelerindeki düşüklük, büyüme hormonu ve sitokinlere karşı hücre cevabındaki yetersizlik ile hücrel yaşlanma görülmektedir. Pelvis, tibia ve proksimal femur kırıkları Tip II osteoporozda daha sık görülmektedir. Kan seviyelerine bakıldığında $1,25 (\text{OH})_2$ vitamin D_3 'te azalma, alkalen fosfataz ve paratiroid hormon düzeylerinde hafifçe artma görülmektedir (165). Etyopatogenez ve klinik açısından Tip I ve Tip II osteoporoz arasındaki farklar Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Tip I ve Tip II osteoporoz (142)

	Tip I	Tip II
Yaş	50-75	>70
Kadın/Erkek	6/1	2/1
Tutulan kemik	Trabeküler	Kortikal/Trabeküler
Kırık bölgesi	Vertebra ve distal	Kalça
Kemik kayıp hızı	Hızlı	Yavaş
PTH seviyesi	Azalmış	Artmış
Serum Ca, P seviyesi	Normal	Normal
ALP seviyesi	Normal	Normal
İdrar Ca miktarı	Artmış	Normal
Ca emilimi	Artmış	Azalmış
Dvitamini metabolizması	Sekonder azalmış	Primer azalmış

3.1.7.1.2. Sekonder Osteoporoz

Sekonder osteoporozun en sık karşılaşılan nedenleri kronik hastalıklar endokrin sebepler, mineral ve protein eksiklikleri, kemik iliği tutulumu, vitamin, genetik hastalıklar, gebelik, emzirme ve ilaçlardır (167). Tüm osteoporoz vakalarının %5'inden azını oluşturan sekonder osteoporozdur (168).

3.1.7.2. Osteoporozun Epidemiyolojisi

Metabolik kemik hastalıkları arasında en sık görülen osteoporozun prevalansı ortalama yaşam süresinin uzamasıyla beraber artmaktadır. Bu da osteoporotik kırıkları ciddi bir sağlık sorunu haline getirmektedir (169). Amerika Birleşik Devletleri, Japonya ve Avrupa'da yetmiş beş milyondan fazla insanı etkileyen osteoporoz, Amerika Birleşik Devletler ve Avrupa'da yıllık 2.3 milyon kırığa sebep olmaktadır (170).

Osteoporozdan korunmada ilk adım, osteoporoz ve osteoporotik kırıklar için risk faktörlerinin belirlenmesidir. Osteoporoz risk faktörleri Kanada Osteoporoz Klavuzu'na göre aşağıdaki gibidir (170).

Osteoporoz risk faktörleri

- 65 yaş üzeri olmak
- Romatoid artrit
- Vertebra kompresyon kırığı
- Klinik hipertroidizm öyküsü
- 40 yaş üzerinde kırık olması
- Antikonvülzan ilaç kullanımı
- Ailede osteoporotik kırık olması
- Diyetle düşük kalsiyum alımı
- 3 aydan fazla sistemik glikokortikoid kullanımı
- Sigara kullanımı
- Malabsorbsiyon sendromu
- Aşırı alkol tüketimi
- Primer hiperparatiroidizm
- Aşırı kafein tüketimi
- Direkt grafide osteopenik görüntü olması
- Düşük vücut ağırlığı (< 57 kg)
- Hipogonadizm
- Kronik heparin kullanılması
- Fiziksel aktivite
- Erken menapoz (< 45 yaş)

Osteoporoz patofizyolojisinde üzerinde durulan üç faktör kemik yapım/yıkım döngüsünün hızı, doruk kemik kütlesi ve kemik organik matriks değişiklikleridir (171). İskelet gelişimi sırasında kişinin ulaşabileceği en yüksek kemik miktarı olan doruk kemik kütlesi, gelişecek kemik kaybını aynı zamanda da kırık riskini belirlemede önem taşımaktadır (125). Çocukluk ve adölesan dönemde kemik yapımı kemik yıkımını geçtiği için kemik kütlesinde artış meydana gelmektedir. Kemik yapım ve yıkımının dengesi doruk kemik kütlesinin meydana gelmesiyle sağlanır. Kadın ve erkekte yaşlanmayla birlikte ve ayrıca kadınlarda

menopozun başlamasıyla bu denge bozulmaktadır. Sonuç olarak kemik kalitesi ve yapısı bozulmaya başlamaktadır. Bu durum oluştuğunda kemik kaybının şekli genellikle genetik olarak belirlenmektedir (172). Erkeklerde hayat süresince doruk kemik kütlesi % 20 ile 30 kayba uğrarken, kadınlarda bu süreç menapoz yüzünden daha erken başlamakta ve kayıp % 45 ile 50 civarında gözlenmektedir (173).

Kemik yapım ve yıkım döngüsü (yeniden yapılanma) normalde 120 gün sürmektedir. Osteoporozu ortaya çıkaran kemik yapım ve yıkım döngü hızının artmasıdır. Kemik mineral yoğunluğunu kemik döngüsündeki artış çeşitli şekilde etkilemektedir. Kemik mineral yoğunluğundaki artış yeniden yapılanma sürecinin bitiminden 1 ile 2 yıl sonra gerçekleşmektedir. Kemik döngüsü hızlandığında kemik hacminin büyük bir kısmını oluşturan genç kemik yapısal üniteleridir. Bu nedenle kemiğin matür olmayan kısmı artmış ve kemik döngüsü değişikliklerinden kemik mineral içeriği tek başına etkilenmiş olacaktır (174).

Kemik döngüsünde lokal büyüme faktörleri, iyonlar, hormonlar, bazı ilaçlar, çeşitli biyolojik ajanlar, gibi lokal ve sistemik etkenler rol oynamaktadır. Kemiğin yoğunluğunu ve boyutunu, kemik dokusunu meydana getiren mineraller ve proteinlerden ve herhangi birinin eksikliği etkilemektedir (175).

Östrojen eksikliği osteoblast aktivitesini azaltırken osteoklast aktivitesini arttırmaktadır. Böylece kemik kütlesi azalmaktadır. Ayrıca östrojen eksikliği osteoblast, monosit ve makrofajlardan tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-1 (IL-1) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımında artışa neden olmaktadır (176). Bu sitokinler stromal hücre ve preosteoblastları uyarıp onlardan makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF), RANKL, osteoklast öncülerinin çoğalmasını veya osteoklastogenezisi uyaran IL-6,

IL-1 gibi faktörler salgılatmaktadır (177). Östrojen eksikliği matür osteoklastların apoptoza uğramasını azaltırken, aktivasyonunu artırmaktadır (178). Membrana bağlı tümör nekroz faktör (TNF) ailesinden olan RANKL osteoklastların farklılaşmasında en temel düzenleyici faktördür. Tümör hücreleri, osteoblastlar, T hücreleri ve fibroblastlar tarafından salgılanmaktadır. (Şekil 11). Maligniteye bağlı durumlarda veya patolojik kemik kaybının görüldüğü postmenopozal osteoporozda da önemli rol oynamaktadır. Osteoblastlardan RANKL salınımı tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-11 (IL-11), prostoglandin E2 (PGE2), 1,25 (OH)₂ vitamin D₃, deksametazon ve parathormon (PTH) tarafından uyarılırken, TGF- β ile inhibe edilmektedir (179).

Östrojen eksikliğinde, osteoblastlardan RANKL üretimi artmaktadır. Bu artış osteoprotegerin (OPG) üretimini azalmaktadır. Osteoprotegerin RANKL üretimi ve aktivitesinin azalmasında rol oynamaktadır. Osteoblastlardan osteoprotegerin salgılanmasını IL-1 α , TGF- β , IL-1 β , TNF- α , östrojen ve 1,25(OH)₂ vitamin D₃ uyarmaktadır (156). Bu olay osteositlerin ve osteoblastların yaşam sürelerini kısaltmaktadır ve osteoblastogenezisin azalmasına neden olarak senil osteoporoz patogenezinde rol oynamaktadır (181).

Preosteoklastlardaki reseptörü RANK'a bağlanan RANKL, osteoklastların farklılaşmasını ve aktivasyonunu uyarırken, apoptozunu baskılamaktadır (Şekil 11). Bunun sonucunda osteoklast prekürsör hücrelerin farklılaşması başlamaktadır (182).

oluşumuna neden olabilirken travma olmadan da kırık görülebilmektedir. İlerleyen dönemlerde boyun kısalması, sırt ağrısı, reflü özofajiti, ileri deformitelerde sonucu solunum güçlüğü, hazımsızlık, şişkinlik ve kabızlık hissi gibi sorunlara yol açabilmektedir (186).

3.1.7.4. Osteoporozda Tanı Yöntemleri

3.1.7.4.1. Görüntüleme

Osteoporozda kullanılan görüntüleme yöntemleri

- 1- Direkt radyografik incelemeler
- 2- Transiliak biopsi
- 3- Kemik sintigrafisi
- 4- Ultrasonografi
- 5- Absorbsiyometrik yöntemler
 - Single foton absorbsiyometri (SPA)
 - Dual foton absorbsiyometri (DPA)
 - Single enerji X-ray absorbsiyometri (SEXA)
 - Dual enerji X-ray absorbsiyometri (DEXA)
- 6- Dual enerji kantitatif kompüterize tomografi (QCT)
- 7- Nöron aktivasyon analizi
- 8- MR spektroskopisi

3.1.7.4.1.1. Direkt Radyografik İncelemeler

Direkt radyografik incelemede osteopenik görüntü, kemik yoğunluğunda en az %30'luk kayıp olduğunda saptanmaktadır (187). Radyografik görüntülerde vertebra cisimleri incelendiğinde vertebrada vertikal çizgilenme vertikal trabeküllerde göreceli bir kalınlaşma horizontal trabeküllerde azalma

görülmektedir. Osteoporoza bağlı vertebra kusurları kompresyon, bikonkav veya kama şeklinde görülmektedir (188).

3.1.7.4.1.2. Kemik Sintigrafisi

Kemik sintigrafisi teknesyum 99 m kullanımıyla kemikte tutulan radyoizotop miktarını değerlendirerek kemiğin fonksiyonel durumu hakkında bilgi vermektedir. Kemiğin kanlanması ve turnover hızına bağlı olarak kemikte biriken farmasötik ajanın miktarı değişmektedir (188).

3.1.7.4.1.3. Ultrasonografi

Osteoporoz tanısının koyulmasında ve tedavisinin izlenmesinde ultrasonografi yeterli olmamaktadır (188).

3.1.7.4.1.4. Absorbsiyometrik Yöntemler

Kemik mineral yoğunluğunun ölçümü osteoporoz tanısı ve kırık riskinin saptanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ölçümlerle osteoporoz tedavisinin değerlendirilmesi yapılmaktadır. Kemik mineral yoğunluğunun ölçülmesinde aşağıdaki yöntemler kullanılmaktadır:

- i. Direkt radyografik incelemeler
- ii. Dual enerji X-ray absorbsiyometri (DEXA)
- iii. Single foton absorbsiyometri (SPA)
- iv. Dual foton absorbsiyometri (DPA)
- v. Kantitatif kompüterize tomografi (QCT)
- vi. Speed of sound (SOS) ve broadband ultrasonic attenuation (BUA) parametrelerini içeren ultrasonik ölçüm
- vii. Single enerji X-ray absorbsiyometri (SEXA) (189).

3.1.7.4.1.4.1. Dual Enerji X-Ray Absorbsiometri (DEXA):

Duyarlılığı yüksek olan bu yöntem halen altın standart olarak kabul edilmektedir. Çift enerjili X ışını kaynak olarak kullanılmaktadır. İlk önce X ışını absorbsiyon materyali içeren bir diskten geçmekte sonrasında hastanın dokusundan geçmektedir. Hastanın dokusundan elde edilen değerin, absorbsiyon materyalinden elde edilen değere oranlanmasıyla sonuç alınmaktadır. Topuk kemiği, kalça, omurga, ön kol ve tüm vücut ölçümleri DEXA kullanılarak yapılabilmektedir. Yapılan iki boyutlu taramayla (gr/cm^2), alansal yoğunluk belirlenmektedir. DEXA ile periferik ölçüm de yapılabilmektedir. Çekim 2 ile 6 dakika arasında kısa bir süreyi kaplarken 1-5 mrem radyon dozu alınmaktadır. DEXA ölçümlerinin doğru değerlendirilebilmesi için uygun cins ve ırk referanslarıyla karşılaştırılmaların yapılması gerekmektedir (189).

Osteoporoz kırık riskinin belirlenebilmesi için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından T, Z skorları ve standart sapmalar dikkate alınarak sınıflama yapılmıştır. T ve Z skorları osteoporoz tedavisinin takibinde kullanılan kemik mineral yoğunluğu değerini ifade etmektedir. DEXA yorumlanırken primer osteoporoz tanısında T skoru, sekonder osteoporoz tanısında ise Z skoru kullanılmaktadır. T skor sınıflamasında (DSÖ sınıflaması) kemik mineral yoğunluğu değerine göre hastalar normal, osteopeni, osteoporoz, yerleşmiş osteoporoz olarak dört gruba ayrılmaktadır (190) (Tablo-4).

Tablo 4. T skor sınıflaması(DSÖ sınıflaması) (190)

<u>Normal:</u> Genç erişkin ortalama değerinin 1 SD'nin fazla altında olmayan KMY değeri ($T > -1,0$)
<u>Osteopeni:</u> Genç erişkin değerinin -1 ile -2,5 SD arasında bulunan KMY değeri ($-1,0 > T > -2,5$)
<u>Osteoporoz:</u> Genç erişkin ortalama değerinin -2,5 SD altındaki KMY değeri ($T < -2,5$)
<u>Yerleşmiş Osteoporoz:</u> Bir veya daha fazla fragilite kırıkları varlığında, genç erişkin ortalama değerinin 2,5 SD altındaki KMY değeridir.

3.1.7.4.1.4.2. Single Foton Absorbsiyometri (SPA):

Sadece yumuşak doku kalınlığının sabit olduğu vücut bölgelerinde kullanılan yani distal radius ve ulna ile kullanımı sınırlı kalan bir tekniktir. Radyoaktif cisim parıltılarını saptayan ve Na iodid içeren bir dedektörle, İyot-125 kaynağından gelen radyasyonun bir ekstremiteden geçişinin ölçülmesi yöntemidir.

3.1.7.4.1.4.3. Dual Foton Absorbsiyometri (DPA):

Bu teknik radyasyon dozu 10 mrem olan duyarlı ve özgül bir yöntemdir fakat her toplumun kırık riski sınırının ayrı ayrı bakılması gerektiği bilinmelidir. İki farklı enerjiyle gadalinium kaynağından çıkan iki foton hüzmesi hesaplanmaktadır. Yılda

bir defa değiştirilmesinin gerekmesi ve bunun sonucunda hata payının artması, radyoizotop maddenin pahalı olması, yalancı negatif sonuç verebilmesi yöntemin olumsuzluklarıdır.

3.1.7.4.1.4.4. Single Enerji X-Ray Absorbsiyometri (SEXA)

Radyasyon dozu ise 1 mikro Sv. olan, kalkaneus ve ön kol gibi yumuşak dokuların az olduğu bölgelerde ölçüme izin veren bu yöntemde kaynak X ışınıdır ve ölçüm süresi 5 dakika sürmektedir.

3.1.7.4.1.4.5. Kantitatif Kompüterize Tomografi (QCT)

Radyasyon dozu, 200-900 mrem arasında değişen bu yöntemle hacimsel (gr/cm^3) mineral yoğunluk ölçümü yapılmaktadır. Kortikal kemik ve trabeküler kemiği ayrı değerlendirebilmektedir. Trabeküllerin durumunun değerlendirilmesi için yüksek çözünürlüklü tomografi kullanılmaktadır. Vertebraların ortasından 8-10 mm kalınlıktaki kesitler geçirilir. Alınan ince kesitlerle trabeküler aę başarılı bir şekilde gösterilmektedir. Ama yapılan çalışmalarda trabeküler kemik ölçümünün kırıkları ayırt etmede çok iyiirken, vertebra kemik dayanıklılığını değerlendirmede tek başına yeterli olmadığı gösterilmiştir (189).

3.1.7.4.1.5. Manyetik Rezonans Görüntüleme

Manyetik rezonans yöntemiyle üç boyutlu görüntüler elde edilebilmektedir. Bu yöntemin amacı trabeküler kemik yoğunluğunu ölçmektir.

2002 yılında Osteoporoz Bilimsel Araştırma Konseyinin Konsensusuna göre kemik dansitometri endikasyonları aşağıdaki gibidir (191):

Kemik dansitometrisi endikasyonları

- 65 yaş üzeri kadınlar
- Birden fazla riski olan genç postmenopozal kadınlar
- Altı aydan daha fazla kortikosteroid kullanımı
- 45 yaş altı menopoza girmiş olanlar
- Düşük enerjili travma sonucu kırığı olanlar
- Primer hipogonadizm
- Osteoporozla ilişkili kronik hastalıklar
- Annede kalça kırığı öyküsü
- Düşük vücut kitle indeksi ($VKİ < 19 \text{ kg/m}^2$)
- Direkt grafide osteopeni veya vertebra deformite varlığı
- 4 cm üzeri boy kısalması veya dorsal kifozda artış (191)

3.1.7.4.2. Laboratuvar Tetkikleri

Labaratuvar incelemeleri, osteoporozda primer ve sekonder osteoporozun ayrımını yapmak, kırık riskini belirlemek, kemik döngüsünün biyokimyasal belirteçlerini saptamak, tedaviye etkinliği değerlendirmek ve tedaviyi belirlemek amacıyla yapılmaktadır (192).

3.1.8. Osteoporozda Tedavi Yaklaşımları

Osteoporoz kemik yapım/yıkım döngüsünün bozulup, kemik yıkımının artmasıyla oluşmaktadır. Tedavisinde ise kemik yapımının artırılması ya da yıkımının önlenmesi amaçlanmaktadır. Osteoporoz tedavi yöntemlerinin özellikle risk gruplarına göre belirlenmesi gerekmektedir. Çünkü bu tedavi yöntemlerinin maliyetleri yüksek, süreci uzundur. Farmakolojik ve non-farmakolojik olmak üzere osteoporozda tedavi seçenekleri iki ana grupta toplanmaktadır (193).

3.1.8.1. Farmakolojik Olmayan Tedavi Yaklaşımı

Farmakolojik olmayan yaklaşımlar kişinin hayat kalitesini arttıran, osteoporozun gelişimini engelleyip osteoporozdan korunmaya yönelik önerileri içermektedir. Dengeli beslenmek, sigara kullanımını bırakmak, alkol kullanımını sınırlandırmak, düzenli egzersiz yapmak, osteoporoz için risk faktörlerini ortadan kaldırmak bu öneriler arasında sayılabilir. Özellikle haftada üç defa yarım saat ağırlık kullanılarak egzersiz yapılması osteoporozlu kadınlarda kemik kütlesinin korunmasına yardımcı olmaktadır (194).

3.1.8.2. Farmakolojik Tedavi Yaklaşımı

Osteoporoz tedavisinde güncel farmakolojik tedavi yöntemlerini osteoklastların rezorbsiyonunu baskılayan yıkım önleyici (antikatabolik) etkenler, hem yıkımı önleyen hem de yapım etkisi olan etkenler ve paratiroid hormonun rekombinant formları gibi yapım etkisi olan etkenler oluşturmaktadır (195).

3.1.8.2.1. Kemik Yıkımını Azaltan İlaçlar (yıkım önleyici etkenler) :

Östrojenler, Ca, bifosfanatlar, vitamin D, progestrojenler, selektif östrojen reseptör modülatörleri, denosumab, kalsitonin, ipriflavon, tibolon kemik yıkımını azaltan ilaçlar arasında sayılmaktadır (195).

a. Hormon Destek Tedavisi

Geçmişte hormon replasman tedavisi östrojen azlığı olan kadınlarda ilk tedavi seçeneği iken, günümüzde inme riskinde artış, tromboembolik olaylar, meme kanserine neden olmasından dolayı fazla önerilmemektedir (196). Önleyici tedavi olarak sağlıklı menapoz sonrası kadınlarda uzun süreli progesteronlu veya progesteronsuz östrojen kullanılması görüşü kabul görmektedir.

b. Selektif Östrojen Reseptör Modölatörleri (SERM)

Östrojen reseptörüne bağlanarak etkisini gösteren raloksifen, ikinci kuşak selektif östrojen reseptör düzenleyicilerinden biridir. Bazı dokularda östrojen antagonisti olarak etki gösterirken bazı dokulardaysa östrojen agonisti olarak etki göstermektedir. Yapılan bir çalışmada menapoz sonrası osteoporozu olan kadınlarda raloksifenin kemik mineral yoğunluğunu arttırdığı, kemik yıkımını ise azalttığı gösterilmiştir (197).

c. Kalsiyum

Kalsiyum, kemik sağlığı için gerekli olan en önemli minerallerden biridir. Kemik kaybının azaltılmasında ve doruk kemik kütesinin korunmasında önemlidir. Yaş ilerledikçe vitamin D'nin aktif formu azalmakta buna bağlı olarak da kalsiyum emilimi azalmaktadır. Yaşa ve cinsiyete göre kalsiyum ihtiyacı değişmektedir (198).

d. Bisfosfonatlar

Bisfosfonatlar osteoklastların fonksiyonlarını inhibe ederek kemik yıkımına engel olurlar ve kemik mineral yoğunluğunu arttırırlar. En sık kullanılan bifosfonatlar alendronat, klodronat, ibandronat, risedronat ve pamidronattır. Bifosfonatların postmenapozal osteoporozu olan kadınlarda kemik kırığının önlenmesinde, glukokortikoid sebepli osteoporozun tedavisinde ve osteoporotik erkek hastalarda etkili olduğu söylenmiştir (199).

e. D Vitamini

Vücuda D vitamini diyetle veya güneşlenme ile alınmaktadır. Vücuda alınmasının ardından karaciğerde 25(OH) vitamin D'ye ve böbrekte 1,25(OH)₂ vitamin D'ye hidroksilasyonu meydana gelmektedir. D vitamini, fosfor ve

kalsiyumun böbrekten atılımını azaltmakta ve bağırsaktan emilmelerini sağlamaktadır.

İlerleyen yaşla birlikte böbrek ve deriden aktif D vitaminin sentezi bozulmakta, azalan östrojene bağlı 1 alfa hidroksilaz enzim aktivitesi azalmakta, paratiroid hormona renal 1,25(OH)₂ vitamin D₃ üretme cevabı azalmakta, bağırsaklardan Ca Emilimi de azalmaktadır. Bu yüzden osteoporoz tedavisinde D vitamini kullanımı önem taşımaktadır. Nöromusküler koordinasyon ve kas kuvvetini artırıp düşme riskini azaltan D vitamini osteoporozun en önemli komplikasyonu olan kırık insidansını azaltmaktadır (200).

f. Kalsiyum ve D Vitamini Kombinasyonu

Kalsiyum ve D vitamininin birlikte verilmesi osteoporoz tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Osteoporozlu hastaların günümüzde günde 10-20 µg (400-800 IU) D vitamini ve 1200-1500 mg kalsiyum alması önerilmektedir (201).

g. Denosumab

İnsan monoklonal antikoru olan denosumab, osteoprotegrin gibi anti-osteoklastik etki göstermektedir. Yüksek afiniteyle RANKL'a bağlanıp, RANKL ile RANK etkileşimini bloke etmektedir. Kemik mineral yoğunluğunu artırıp, kemik yıkım belirteçlerini azaltarak osteoporotik kırıkları önlediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (202).

h. Kalsitonin

Osteoklast fonksiyonları üzerinde etkili olan kalsitonin tiroidin C hücrelerinden salgılanmaktadır. Kemik yıkımını osteoklastların kemiğin yeniden yapım bölgesinde toplanmasını engelleyip faaliyetini hızla inhibe ederek önlemektedir (203).

3.1.8.2.2. Kemik Yapımını Uyarıcı İlaçlar (yapım etkisi olan etkenler):

Paratiroid hormon ve ilişkili peptidler, floridler, anabolik steroidler, kalsitrol III, kemik yapımını uyaran ilaçlardır.

I. Paratiroid Hormon (PTH)

Paratiroid hormonun damar içine devamlı verilmesi ya da fazla salgılanması osteoklastik kemik yıkımını artırmaktadır. Paratiroid hormonun düşük dozda ve aralıklı verilmesi ise, anabolik ve kemik yapımını artırıcı bir etki oluşturmaktadır. 1,25 dihidroksi vitamin D₃ PTH'nin etkisini artırmaktadır (204).

II. Florid

Florid kemik formasyonunu güçlü uyarmaktadır. Bu sebeple florid uygulanan hastalarda spinal kemik mineral yoğunluğunda artış saptanmıştır fakat floridin kırık insidansını düşürdüğünü gösteren bir çalışma yoktur. Bu yüzden menapoz sonrası osteoporoz tedavisinde kırıkları önlemede yetersiz görülmektedir (205).

III. Stronsiyum Tuzları

Stronsiyum, osteoblast oluşumunu ve aktivitesini artırarak kemik yapımını aktive etmekte ayrıca kemik yıkımını da osteoklast oluşumu ve aktivitesini baskılayarak engellemekte, böylece çift etki mekanizması göstermektedir (206).

IV. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 ve Büyüme Hormonu

İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (İBBF-1) ve Büyüme hormonu (BH) güçlü yapım ajanlarıdır ve kemik kütlesini artırmaktadır. Uzun kemiklerin büyümesinde ve osteoblastların farklılaşmasında İBBF-1 etki göstermektedir. Yapılan bir çalışmada İBBF-1'in kemik metabolizmasını süre ve doza bağlı olarak, osteoprotegerin ve RANKL üzerinden etkilediği gösterilmiştir (207).

3.1.8.3. Osteoporoz Tedavisinin Geleceği

Osteoporoz tedavisinde, kemik yapımını osteoblastik aktiviteyi uyararak artırabilecek ya da kemik yıkımını osteoklastları etkileyerek önleyecek bazı biyolojik etkileri olan maddelerin kullanımına odaklanan çalışmalar yapılmaktadır. Osteoporoz tedavisinin geleceği için yapılan bu çalışmalar önem arz etmektedir.

Osteoporoz tedavisinin geleceğinde kullanılabilecek ajanlar

- Fitoöstrojenler (izoflavonlar)
- Sentetik fitoöstrojenler (İpriflavon, tamoksifen)
- Paratiroid hormonla ilişkili protein (PTHrP)
- Proton Pompa İnhibitörleri
- İntegrin Antagonistleri
- Amilin
- Osteoprogeterin
- Serbest O₂ radikalleri oluşumunu önleyecek ajanlar
- NO oluşturan ajanlar
- Kalsiyum kanal blokerleri
- Angiotensin II reseptör blokerleri veya anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri
- Prostaglandin inhibitörleri
- İz elementler (Mn, Zn, Cu, Silicon)
- Tirozin kinaz inhibitörleri
- Matriks metalloproteinaz inhibitörleri

Osteoporoz etyopatogenezinde kadmiyum, vitamin D, bakır, kalsiyum, manganez, folik asit, B12 ve B6 vitaminleri gibi vitaminler ve eser elementlerin devamlı düşük oranlarda alınmasının yanı sıra magnezyum, K2 vitamini ve çinkonun noksanlığı da önemli rol oynamaktadır.

3.1.8.4. Osteoporozun İmplant Osseointegrasyonuna Etkisi

Osseointegrasyonu etkileyen faktörler endojen ve eksojen faktörler olmak üzere iki başlıkta incelenmektedir. İmplant yüzey özelliği cerrahi teknik eksojen faktörler arasında sayılabilirken; hastadan hastaya değişen kemik kalite ve kantitesi ise endojen faktörler arasında sayılmaktadır.

Osseointegrasyon için implantın yeterli primer stabilitesi sağlanması gerekmektedir. Bu yüzden kemiğin mikro yapısındaki değişimlere ve kemik kaybına, kemik rejeneratif kapasitesinin azalmasına neden olan osteoporoz, diş implantı uygulaması için olası bir risk faktörü veya kontrendikasyon olarak değerlendirilmektedir. Bir risk faktörü veya kontrendikasyon olarak kabul edilmesinin sebebi osteoporozun diğer vücut kemiklerinde gösterdiği etkinin çene kemiklerinde de görüleceği düşünülerek implant yara iyileşmesinde olumsuz etki göstereceği ihtimalidir.

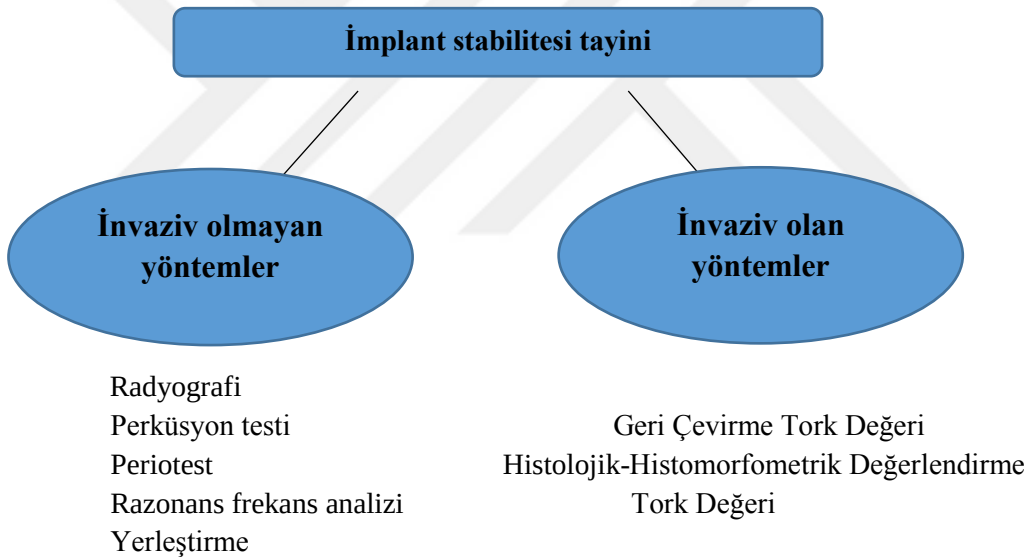
İncelenen literatürlerde, deney hayvan modellerinde trabeküler kemiğin yapısında değişikliklere ve kemik-implant temas yüzeyinde ciddi miktarda azalmaya neden olan osteoporoz, osseointegrasyon sürecini ciddi oranda değiştirmektedir. Deney hayvan modellerinde yapılan bir çalışmada osteoporozun, kemik-implant temasında ciddi bir azalma meydana getirerek implant osseointegrasyon sürecini değiştirdiği gösterilmektedir (208).

Ovariyektomi yapılmış ratlara östrojen eksikliğinin yerleştirilen implantların çevresindeki kemik yoğunluğuna etkisinin incelendiği Sallum ve ark'nın yaptığı çalışmada kemik implant teması bölgesinde ve implant etrafındaki kemik yoğunluğunda bulunan değer, osteoporozlu grupta daha düşük çıkmıştır (209). Yapay osteoporoz yaratılan hayvanlarda östrojen destek tedavisi ve implant

etrafındaki kemiğin iyileşmesini inceleyen çalışmalar da yapılmıştır. Menapoz sonrası kadınlarda implant tedavisinin uzun vadeli başarısını artırmak için östrojenin ya da östrojen benzeri etki gösteren maddelerin kullanıldığı tedaviler düşünülmektedir (210).

3.1.8.4.1. Diş İmplantlarında Stabilite Tayini

Diş implantının osseointegrasyonunun değerlendirilmesi implant stabilite tayini ile yapılmaktadır. İmplant stabilite yöntemleri invaziv ve invaziv olmayan yöntemler olarak ikiye ayrılır. Aşağıdaki şekilde bu yöntemler gösterilmiştir (Şekil 12).



Şekil 12. İmplant stabilite tayini, invaziv olmayan ve olan yöntemler (211)

Radyografi kemik implant ara yüzünü gösteren sık kullanılan bir yöntem olsa da implant stabilitesi hakkında bilgi vermez (212). Perküsyon testi ayna veya sondun arkasıyla implanta hafifçe vurularak yapılır ve objektif olmadığı için sonuç güvenilir değildir (213). Periotest, doğal dişin etrafındaki dokuların destek miktarındaki azalmayı sayısal olarak gösteren ve mobilitesini değerlendiren bir cihazdır (211). Bu

cihaz implant için de kullanılabilir, fakat başarısı tartışmalıdır (214). Rezonans frekans analizinde implant üzerine yerleştirilen dönüştürücü parçanın yaptığı rezonansın frekansı ölçülür (215). Bu analiz için piyasaya sürülen ilk cihazın ismi Osstell®'dir (216). Bu cihaz, implant ile kemik arasındaki makaslama, baskı ve germe kuvvetlerini ölçerek oluşan rijit bağlantıya sayısal bir değer verir (217). Yerleştirme tork değeri yalnızca implant yerleştirilmesi sırasında ölçülebilmektedir. İmplant yerleştirilirken implant yivleri için gereken enerji ölçülerek bu değer hesaplanır (218). Geri çevirme tork değeri, implant uygulama işlemindeki çevirme yönünün tersine yönde, yerleştirilmiş olan implanta kuvvet uygulanarak hesaplanır. Eğer implantta dönme tespit edilirse implantın çıkarılması gerektiği düşünülür. Fakat osseointegrasyon devam ederken uygulanan kuvvetin deformasyona yol açarak implant kaybına neden olabileceği de savunulmaktadır (219).

Histolojik-Histomorfometrik Değerlendirme tekniğinde uygun kalınlıkta doku kesitleri hazırlanıp, kemik ve diğer vücut dokuları mikroskopik düzeyde değerlendirilir. İki farklı yöntemle histolojik kesitler elde edilir. Yöntemlerden ilki olan dekalsifikasyon tekniğinde uygulanan demineralizasyon işlemi, kemik implant teması bilgileri kaybedileceğinden histolojik analiz için önerilmemektedir (220). Yöntemlerden ikincisi olan dekalsifiye yapılmadan kesme ve inceltme tekniği ise histomorfometrik analizlerde en uygun yöntem olarak öne çıkmaktadır (221, 222).

3.1.9. Fitoöstrojenler

Bitkisel kaynaklı olup yapısı östrojene benzeyen kimyasallar fitoöstrojen olarak adlandırılmaktadır. Fitoöstrojenler, memeli östrojen 17- β estradiol ile yapısal benzerliğe sahip olan ve östrojen reseptörleriyle (α & β) bağlanma yeteneğine sahip difenolik ancak steroidal olmayan bileşiklerdir (223). Fitoöstrojenler kan basıncı ve

kan kolestrolünün düşürülmesine yardımcı olmaktadır. Ayrıca fitoöstrojenlerin farklı kanserlere karşı koruyucu işlevleri vardır ve koroner kalp hastalıkları riskini, menapoz semptomlarını, osteoporoz gelişimini azalttığı bilinmektedir (223).

Fitoöstrojenler, steroid hücrelerinde hormon bağlayıcı globülin sentezini uyarak ve 17β -estradiol veya testosteronu plazma hormon bağlayıcı globülinden rekabetçi bir şekilde yer değiştirerek steroid biyosentezini manipüle edebilir ve taşıyabilir. Fitoöstrojenler tarafından hormon bağlayıcı globülinin miktarının veya mevcudiyetinin bu ince sapması, sistemik veya lokal olarak dolaşımdaki endojen hormonların serbest fraksiyonunu değiştirir. Fitoöstrojenler ayrıca steroid biyosentezi için gerekli enzimlere müdahale ederek endojen hormon seviyelerini manipüle edebilir (224).

Fitoöstrojenler, kimyasal yapısına bağlı olarak

1. İzoflavonlar (daidzein, genistein, formonetin, biyokanin A)
2. Stilbenler (resveratrol)
3. Lignanlar (secoisolariciresinol- diglucoside, matairesinol)
4. Kumestanlar (4-methoksikumestrol, kumestrol)

gibi molekülleri içeren yüzden fazla molekülden oluşmaktadır (225).

Flavonoidler fenol grubu içeren bileşikler olup fitoöstrojenlerin bir bölümünü oluşturmaktadır. Flavonoidlerin alt grubunda izoflavonlar yer almaktadır. İzoflavonların bitkilerde yaygın olarak bulunup, özellikle de soya fasulyesi ve baklagillerde bulunma düzeyi daha yüksektir. İzoflavonlar içinde en çok bilinenleri daidzein, glisitein ve genisteindir. Bu izoflavonlar arasında genistein, kolay sentezlenmesiyle ve güçlü aktivite göstermesiyle diğerlerinden ayrılmaktadır (226).

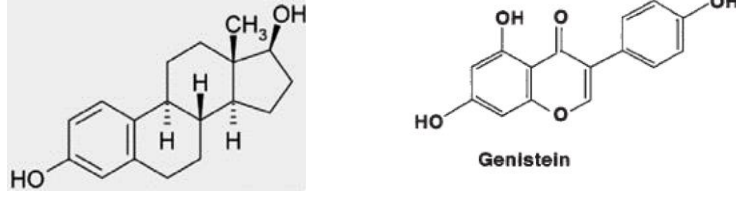
3.1.9.1. Genistein

Asya popülasyonları tarihsel olarak batı popülasyonlarından daha düşük kardiyovasküler hastalık, menopo  semptomları, meme kanseri (ve diğ er hormona bağılı kanserler), diyabet ve obezite oranlarına sahiptir (227). Soya, geleneksel Asya diyetinin temel taşıdır ve bu da soya gıdalarının tüketiminin hastalık riskini azalttığı yönündeki yaygın inancı uzun zamandır besleyen bir gözlemdir (228). Soya, içeriğindeki izoflavon ile bunları sağlar (223).

İzoflavonlar esas olarak kırmızı ş arap, keten tohumu, kırmızı yonca, yonca   zleri gibi 300 farklı bitki türünün k  klerinde ve tohumlarında bulunur. Soya fasulyesi (*Glycine max* L.) en zengin izoflavon kaynağıdır ve 1 g kuru soya fasulyesi 1.2-4.2 mg izoflavon içerir. Soya fasulyesinde izoflavon konsantrasyonu işleme, toprak, iklim ve olgunluk yaşına bağılıdır (229). Doğada izoflavonlar, izoflavonların biyolojik olarak aktif olmayan formu olan konjüge formda bulunur. Yuttuktan sonra konjüge izoflavonların formu, bağırsak bakterilerinin β -glikozidazları ile hidrolizlenmesine bağılı olarak biyolojik olarak aktif forma (genistein, daidzein ve aglikon) dönüşür (230). Genistein, en kolay sentezlenebilen ve en güçlü aktiviteye sahip olan izoflavondur (231).

Genisteinin soya fasulyesindeki başlıca fitoöstrojen olduğu 1931 yılında Waltz tarafından keşfedilmiştir. 1946 yılında Avustralyada yaşayan koyunlarda görülen kısırlığın nedeninin koyunların yediği yeraltı yoncasında yer alan genisteinden kaynaklandığının keşfedilmesi, genisteinin östrojenik etkisini desteklemiştir. 1987 yılında ise genisteinin protein kinazın güçlü ve özgü bir baskılayıcısı olduğu bulunmuştur. Kanser gen kodlarının çoğu tirozin kinaz bağımlı

olduğu için bu keşif kanser tedavisine umut olmuştur. Genistein östrojen yapısına benzediği için östrojenle rekabet etmektedir (232) (Şekil 13).



17-β estradiol

Genistein (4',5,7-trihidroksiizoflavon)

Şekil 13. 17-β estradiol ve genisteinin kimyasal yapısı

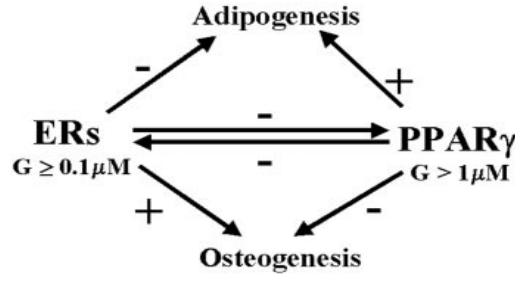
Soya içermeyen diyetler tüketen insanlarda genisteinin plazma konsantrasyonunun nispeten düşük ve genellikle 40 nM'den az olduğu bildirilirken, yüksek miktarda soya ürünü tüketen Japonlardan elde edilen plazmada genisteinin 4 M'ye ulaşabilmektedir (233).

Soya izoflavonu olan genistein, hücreye özgü genlerin transkripsiyonunu aktive ederek veya inhibe ederek nükleer östrojen reseptörleri (ÖR) ile etkileşime girebilir. Genistein östrojen reseptörüne karşı östrojenden daha fazla ilgiye sahiptir. Hücreler, dokuya bağlı olarak tarif edilen iki ÖR türünün (ÖR-α ve ÖR-β) dağılımlarında değişebilir. Fitoöstrojenler östrojen reseptörleri (ÖR), ÖR-α ve ÖR-β'ya bağlanır ve ÖR aracılı etki gösterir. Ek olarak, antiöstrojenik etkileri de vardır, ancak altta yatan mekanizma hala bilinmemektedir. İn vitro analizlerle, izoflavonlar dahil çoğu fitoöstrojenlerin hem ÖR-α 'yı hem de ÖR-β 'yı bağladığı ve her iki alt tipte de ÖR'ne bağımlı gen transkripsiyonunu aktive ettikleri, ancak ÖR-β için genellikle ÖR-α'dan daha yüksek nispi bağlanma afinitesine sahip oldukları bulunmuştur. Üreme hücreleri, özellikle göğüs ve rahim hücreleri, ÖR-α bakımından zengindir, oysa kemik gibi diğer hücrelerde ÖR-α'dan daha fazla miktarda ÖR-β vardır. Östrojen reseptörü α'nın yaklaşık yedi katı kadar olan ÖR-β'nın fitoöstrojen

genisteine nispi afinitesi ilgi çekicidir. Östrojen reseptörü β (ÖR- β) meme, kemik, kardiyovasküler sistem, rahim, mesane, prostat, akciğer, yumurtalık granüloza hücreleri, testiküler, sertoli ve germ hücrelerinde kuvvetle salınır (228).

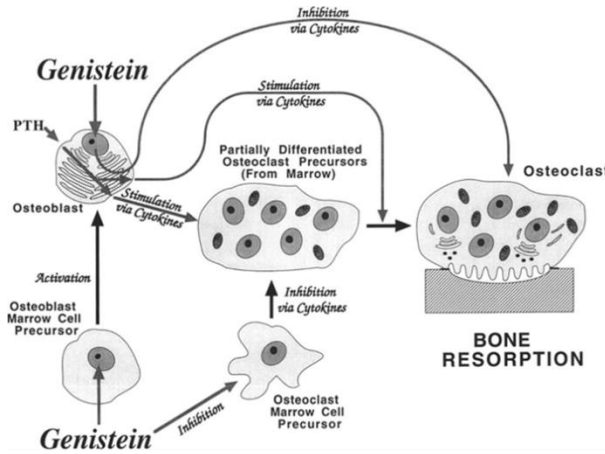
Genistein ÖR- β 'ya bağlanarak, ÖR'lerin doku dağılımına bağlı olabilecek farklı etkilere sahip olabilir; teorik olarak, genistein, meme ve uterus üzerinde önemli bir olumsuz etki olmaksızın kemik hücreleri üzerinde agonist ve pozitif etkilere sahip olabilir. Deneysel kanıtlar da bu hipotezi doğrulamıştır. Bağlandıktan sonra izoflavonlar tipik östrojen agonistleri gibi değil, daha çok uterus ve kemikte bir ÖR agonisti olan ancak memede bir antagonist olan meme kanseri ilacı tamoksifen gibi seçici östrojen reseptör modülatörleri gibi davranırlar (234). Östrojenin (17-Estradiol) osteogenezi uyardığı ve bu prekürsör hücrelerde adipogenezi aynı anda inhibe ettiği gösterilmiştir (235).

Yapılan bir çalışmada genisteinin osteogenez ve adipogenez üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve moleküler etki mekanizmalarının araştırılması sonucunda, genisteinin östrojenik aktivitesine ek olarak peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptörü (PPAR) aktive ettiği ve bunun da osteogenezin aşağı regülasyonuna ve adipogenezin yukarı regülasyonuna yol açtığını gösterilmiştir. Özetle düşük konsantrasyonlarda ($<1 \mu\text{M}$) genistein östrojen görevi görür, osteogenezi uyarır ve adipogenezi inhibe ederken, yüksek konsantrasyonlarda ($> 1 \mu\text{M}$) genistein bir PPAR ligandı olarak işlev görür ve adipogenezin yukarı regülasyonuna ve osteogenezin aşağı regülasyonuna yol açar (236) (Şekil 14).



Şekil 14. Genisteinin adipogeneze ve osteogeneze doza bağımlı etkisi (236)

Genisteinin kemik tutucu etkileri, bu fitoöstrojenin osteoblastlarda östrojen reseptörleri üzerindeki düşük dozlarda agonistik rollerini içerir. Osteoblastlar üzerinde inhibe edici veya uyarıcı etkileri olan sitokinler, genistein veya paratiroid hormonuna (PTH) yanıt olarak osteoblastlar veya osteoblastların öncüleri tarafından salgılanabilir. Genistein, osteoblast öncü hücrelerinin osteoblastlara dönüşümünü uyarırken, osteoklast öncü hücrelerini baskılamaktadır. Ayrıca genistein osteoblastlar içindeki östrojen reseptörleri ile etkileşime girerek osteoklastlar üzerinde bir baskılayıcı etki oluşturmaktadır. Bu yüzden genisteinin dolaylı olarak kemik erimesini önlemesi veya baskılaması mümkün olabilmektedir (237) (Şekil 15).



Düz çizgiler, kemik hücrelerindeki gelişimsel değişiklikleri temsil ederken, daha açık çizgiler hormonal etkileri ve sitokinler yoluyla hücreler arasında çapraz konuşmayı temsil eder. Bu modeldeki genisteinin net etkisi, osteoklastik aktiviteyi baskılamaktır (237).

Şekil 15. Genisteinin osteoblast ve osteoklast hücreleri ve bunların öncüleri üzerindeki potansiyel etkilerinin şematik gösterimi.

Genisteinin, kimyasal yapısı (4',5,7-trihidroksiizoflavon) iki temel biyokimyasal özelliğe sahiptir. Birincisi, 4 've 7 pozisyonlarında serbest bir hidroksi grubuna sahip olan diğer izoflavonoidlerde ortak olan östrojenisitesidir. İkinci özellik, genisteinin, antiproliferatif veya sitotoksik etkilere yol açabilen bazı hücresel enzimleri inhibe etme kabiliyetidir. Bu inhibisyon için, molekül içi hidrojen bağı (5-hidroksil ve 4-ketonik oksijenden oluşan) genistein yapısının en önemli özelliği gibi görünmektedir (232). Bu bağ çok güçlüdür (başlangıçtaki hesaplamalara göre enerjisi yaklaşık 15 kcal / mol'dür) ve genistein molekülünde ek bir altı üyeli heterosikl halka oluşturur. Bu onu daha hidrofobik hale getirir (genistein ek bir hidroksi grubuna sahip olmasına rağmen). Genistein analogu olan daidzein ile karşılaştırıldığında, daha hidrofobiktir. Hidrofobiklikteki farklılıklar, izoflavonoidler arasında genisteinin biyokimyasal ve biyolojik özelliklerini açıklamaya kısmen katkıda bulunabilir. Ayrıca genisteinin DNA zincirini kırmaya yarayan topoizomerez II'yi inhibe etme yeteneği de onu izoflavonoidler arasında benzersiz kılmaktadır (232). Genisteinin biyokimyasal özelliklerinden bazıları şu şekildedir:

- Östrojenik aktivite
- Protein tirozin kinaz (PTK) inhibisyonu
- Topoizomerez II inhibisyonu
- Fosfatidilinositol döngüsünün inhibisyonu
- Antioksidan antiproliferatif aktivite

Ayrıca yapılan hayvan çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre genisteinin etkileri aşağıdaki gibidir:

- Osteoklastik fonksiyonun baskılanması
- Apoptoz indüksiyonu

- Antioksidan etki
- Hücre diferansiyasyonu indüksiyonu
- Hücre siklusunun regülasyonu
- Hücre proliferasyonunun inhibisyonu
- Anjiogenezin inhibisyonu
- Mast hücre stabilizasyonu ve anti-inflamatuar özellikler
- Lenfosit aktivasyon ve proliferasyonunun baskılanması (232)

3.1.9.1.1. Profeksi ve Tedavide Genistein

Antioksidan özellikleri olan soya izoflavonlarından genistein C-5 pozisyonunda üçüncü hidroksil grubuna sahip olduğu için glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutazın iyi ve aktif bir temizleyicisidir. Genistein, protein tirozin kinazın (PTK), DNA topoizomerez II, epitelyal büyüme faktörü gibi tümör oluşumunda etkin rol oynayan yapıların önemli bir baskılayıcısıdır. Bazı beyin bölgelerinde (hipokampus), mide, prostat ve meme kanserlerinde PTK yüksek oranda ifade edilir. Yüksek dozda izoflavon PTK'yi baskılar ve bu dokulardaki kanseri önler. Ayrıca PTK'nin baskılanması kardiyovasküler sağlığı da iyileştirmektedir. Genisteinin antiproliferatif özelliği ve antianjiogenetik etkileri, hücrelerin bölünüp çoğalmasının önüne geçmekte, anjiogenezi baskıladığı için tümör hücrelerinin metastazını da azaltmaktadır. Östrojen benzeri özellikler nedeniyle genistein artriti, otoimmün hastalıkları, gecikmiş tip II aşırı duyarlılığı ve antijene bağlı astımı baskılamakta, menapoz semptomlarını hafifletmekte, menapoz sonrası görülen osteoporozu da önlemektedir (238).

3.1.9.1.2. Meme ve Prostat kanseri

Fitoöstrojenler östrojenik ve antiöstrojenik etkilere sahiptir ve meme kanserini önlediklerinde antiöstrojenik etkisini gösterirler. Mikromolar konsantrasyon aralığındaki genistein, MCF7 ve T47 D gibi östrojen reseptörü pozitif meme kanseri hücrelerinin ve MDA-MD-231 hücreleri gibi östrojen reseptörü negatif meme kanseri hücrelerinin büyümesini baskılar. Peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptörün (PPAR) ligand aktivasyonunun hücre büyümesini baskıladığı ve bunun kanser hücrelerinde apoptozu uyardığı iyi tespit edildiğinden, sadece PPAR aktive edildiğinde, belirli seviyelerde genisteinin kanser hücrelerinin büyümesini baskılayabileceği düşünülebilir (228). Meme kanseri olan ve olmayan kadınlarda plazma izoflavon düzeylerini karşılaştıran Hollanda’da yapılan bir çalışmada, yüksek genistein plazma düzeylerinin meme kanseri riskinde % 32 azalma ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (239). Fitoöstrojenler menapoz öncesi dönemde yani östrojen miktarının yüksek olduğu çevrede antiöstrojenik etki göstererek meme kanserine karşı koruyucu rol oynayabilmektedir. Postmenapozal dönemde ise düşük östrojenik çevrede gösterdikleri östrojenik etkiyle meme kanseri için uyarıcı olabilmektedir (240).

Gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve deneysel prostat kanseri kemik metastazının diyet genistein ile baskılanmasını inceleyen bir çalışmanın sonucu, diyet genisteinin metastaza bağlı genleri düzenleyerek prostat kanseri kemik metastazını baskılayabileceğini göstermektedir. Genistein bu nedenle prostat kanserinin önlenmesi ve / veya tedavisi için umut verici bir ajan olabilir (241). Diyet alışkanlıkları ve prostat kanseri insidansı (PCa) dünyanın çeşitli bölgelerinde çok farklıdır. Doğu ve Batı diyetleri karşılaştırıldığında Doğu kültürlerinde daha fazla

soya alımı vardır. Bu, Asyalı erkeklerde daha düşük PCa insidansına katkıda bulunan bir faktör olabilir (242).

3.1.9.1.3. Polikistik Over Sendromu

Üreme çağındaki kadınlarda doğurganlığı etkileyen en yaygın bozukluk olarak görülen polikistik over sendromu bir endokrin bozukluktur. Genistein tüketimi, polikistik over sendromu olan hastalarda üreme hormonları ve lipit görünümünü iyileştirerek kardiyovasküler ve metabolik bozuklukları önleyebilir (243).

Genistein ile tedavi, polikistik over sendromlu sıçanlarda antioksidan aktiviteleri arttırarak ve oksidan seviyelerini uzaklaştırarak foliküler kaliteyi korumuştur (244). Her ne kadar soya fitoöstrojenleri, polikistik over sendromuna eşlik eden metabolik bozuklukları hafifletme özelliğinden dolayı polikistik over sendromu olan hastalar için potansiyel bir terapötik olarak önerilmiş olsa da, gelişim çağında tüketilmesi overlerde endokrin bozucu etki göstererek hastalık riskine katkıda bulunabilmektedir (245). Premenopozal kadınlarda ise soya proteinleri adet döngüsünü düzenlemektedir (246).

3.1.9.1.4. Kardiovasküler Hastalıklar

Amerikan gıda ve ilaç dairesi (FDA) tarafından 1999 tarihli sağlık onayı, günlük soya tüketiminin koroner arter hastalığı riskini azaltmada etkili olduğunu iddia etmektedir. Soya izoflavonlarının erkeklerde ve kadınlarda plazma lipoprotein ve lipit konsantrasyonu üzerinde faydalı etkileri vardır. Erkeklerde ve kadınlarda kanda düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) miktarlarını önemli ölçüde azaltmaktadır. Ayrıca erkeklerde daha az olmak

üzere kadın ve erkeklerde yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) miktarını önemli ölçüde artırmaktadır (247).

3.1.9.1.5. Genisteinin Olumsuz Etkileri

Son yıllarda soya izoflavonlarının fizyolojik etkileri kapsamlı olarak incelenmiştir ancak soya izoflavonlarının halk sağlığı önerileri tartışmalı olmaya devam etmektedir, çünkü üreme üzerinde olumsuz etkileri vardır (248).

Soya fasulyesi gibi bazı bitkilerin ürettiği fitoöstrojenlerin memelilerde, kuşlarda, böceklerde ve balıklarda endokrin bozucu olarak işlev gördüğü bilinmektedir. Bu maddelerin infertiliteye neden olup otçullara karşı bir savunma olarak evrimleştiği düşünülmüştür. Bu maddelerin etkileri yaşa bağlı değiştiği gibi kadın ve erkek üreme organlarına etkileri de farklılık göstermektedir.

Fitoöstrojenlerin kadın üreme sistemine göre erkek üzerinde daha belirgin etkileri vardır (249). Soya izoflavonundan dolayı toplam sperm hücresi sayısı ve hareketliliği çok önemli ölçüde azalmıştır. Soya sütü ile tedavi edilen grupların sperm hücreleri morfolojisi anormal hale gelmekte leydig ve sertoli hücre sayısı azalmaktadır (250). Genistein kullanımı uterus lümenini yüksek dallı hale getirir ve glandüler epitel hiperplazisi nedeniyle uterus duvarının kalınlığını artırır, kan akışını ve bağ dokusu ödemi artırır ve yeni kan damarları oluşturur (251). Soya izoflavon korpus luteum sayısında azalmaya ve atretik foliküler sayısında artışa neden olmuştur (252).

Soya izoflavonunun testis ve yumurtalıklardaki histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, seçilen 84 yetişkin tavşan her bir doz grubunda ayrı ayrı dişi ve erkek olmak üzere 8 gruba ayrılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, testis ve yumurtalıklarda birçok histolojik problem gözlenmiş olup

soya izoflavonunun üreme organları üzerinde olumsuz etkiye neden olduğu ve bu etkinin erkek üzerinde kadınlardan daha belirgin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma, soya gıdalarının uzun süre yüksek miktarda kullanılmasının üreme sağlığı için iyi olmadığını göstermektedir (253).

Yapılan çalışmalarda, soya izoflavonlarının tiroid bezi fonksiyonları üzerinde zararlı etkileri olduğunu bildirmiştir (254). Yapılan bir çalışmanın sonucuna göre genistein enjeksiyonlarının timik ağırlığı, timik ve dalak CD4+, CD8+ T hücre sayılarını azalttığını bunun da lenfositopeni ve bağışıklığın baskılanmasıyla sonuçlandığını göstermektedir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, insan bebeklerinin diyetlerinde kullanılan soyanın serumda oluşturduğu genistein miktarından daha az miktar oluşturacak şekilde genistein farelere verildiğinde, farelerde timik atrofinin meydana geldiği görülmüştür (255).

Doğal östrojen düzeyinin düşük olması durumunda soya izoflavonunu kullanılabilir, ancak bu ekzojen bileşiklerin kullanımının birçok soruna neden olabileceği de bilinmelidir. Yapılan bir çalışmada soya izoflavonunun üreme dokuları üzerinde kanseri teşvik edici etkiye sahip olduğu da gösterilmektedir. Soya ürünlerinin uzun süre yüksek miktarda kullanıldıklarında üreme üzerinde ciddi olumsuz etkileri vardır. Soya ürünlerinin yüksek miktarda uzun süre kullanılması bu yüzden önerilmemektedir (253).

3.1.9.1.6. Menopoz ve Postmenopozal Osteoporoz

Sıcak basması ve gece terlemeleri dahil vazomotor menapoza geçiş dönemi semptomlarını iyileştirmesi, fitoöstrojen tüketiminin yaygın olarak atfedilen ilk sağlık yararlarıdır. Menapoza geçiş döneminde, kırık riskini arttıran bir süreç olarak ilerleyen kemik-mineral yoğunluğu kaybıyla görülen yaşlanmanın bir başka sonucu

olan osteoporoz görülür. Postmenapozal osteoporoz, östrojen seviyesindeki keskin azalışın bir sonucudur ve bu da kemikte yeniden şekillenmede artışa neden olur. Menopoz sonrası osteoporozun tedavileri arasında hormon destek tedavisi, kalsitonin, bifosfonatlar ve raloksifen gibi seçici östrojen reseptör düzenleyicileri yer alır (228). Hormon destek tedavisi menopoz sonrası kemik kaybını azaltmada etkili olmasına rağmen, meme, endometriyal ve yumurtalık kanseri, kalp-damar hastalığı, venöz tromboembolizm ve inme için daha yüksek bir risk taşımaktadır (256). Bu yüzden hormon destek tedavisine, yapısal olarak 17β -Estradiol'e benzeyen genistein kullanımı alternatif olabilir.

Genisteinin in vitro kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya göre, genisteinin doku kültüründe in vitro kemik rezorpsiyonu üzerinde doğrudan baskılayıcı bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur (257). Bir diğer çalışmada osteopenik postmenopozal kadınlarda genistein ile yirmi dört aylık tedavinin kemik mineral yoğunluğu üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (7).

Ovariyektomize farelerde (postmenopozal osteoporozun deneysel bir modeli) yapılan bir çalışmada genistein uygulamasının, uterus üzerinde önemli bir etki göstermeden, östrojen eksikliğinin neden olduğu artmış B lenfopoezini ve kemik kaybını düzelttiği görülmüştür (238). Başka bir çalışma, ovariyektomi ile başlayan kemik kaybının, sıçanların protein kaynağı olarak soya fasulyesi protein izolatu içeren bir diyetle beslenmesiyle önlenebileceğini göstermiştir (258). İzoflavonlar, B-lenfopoezini düzenleyerek kemik sağlığını iyileştirir ve ayrıca östrojen eksikliği olan kadınlarda kemik kaybını azaltır (238).

2004 yılında Kuzey Amerika Menopoz Derneği, "Reçetesiz ilaçlar arasında, soya gıdaları ve izoflavon takviyeleri (soya veya kırmızı yoncadan), karayılan otu ve

E vitamini için yapılan klinik araştırma sonuçları bunların etkinliklerini kanıtlamak ya da çürütmek için yetersizdir.” demiştir (259). Bu belirsizliğe rağmen, özellikle hormon destek tedavisine “doğal” bir alternatif arayan kadınlar arasında diyet takviyeleri popüler olmaya devam etmektedir. Epidemiyolojik veriler, yüksek miktarda fitoöstrojen, özellikle soya ürünlerinde izoflavon alan kadınların, tipik batı diyeti tüketenlere göre osteoporoz riskinin daha az olduğunu göstermektedir (228).

Biz de bu bilgiler ışığında bir fitoöstrojen olan genisteinin ovariyektomi uygulanan ratların tibiyalarına yerleştirilen titanyum implantlarda osteointegrasyon düzeyine etkisini incelemeyi amaçladık.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2018/43 protokol numaralı etik kurul onayı alınan bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından DHF.18.05 proje nosu ile desteklendi. Deneysel aşamalar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinde, analiz aşamaları Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Mikrobiyoloji Laboratuvarı ile Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalında gerçekleştirildi.

Dekalsifiye edilmemiş histolojik kesitler Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Laboratuvarı'ndan elde edildi.

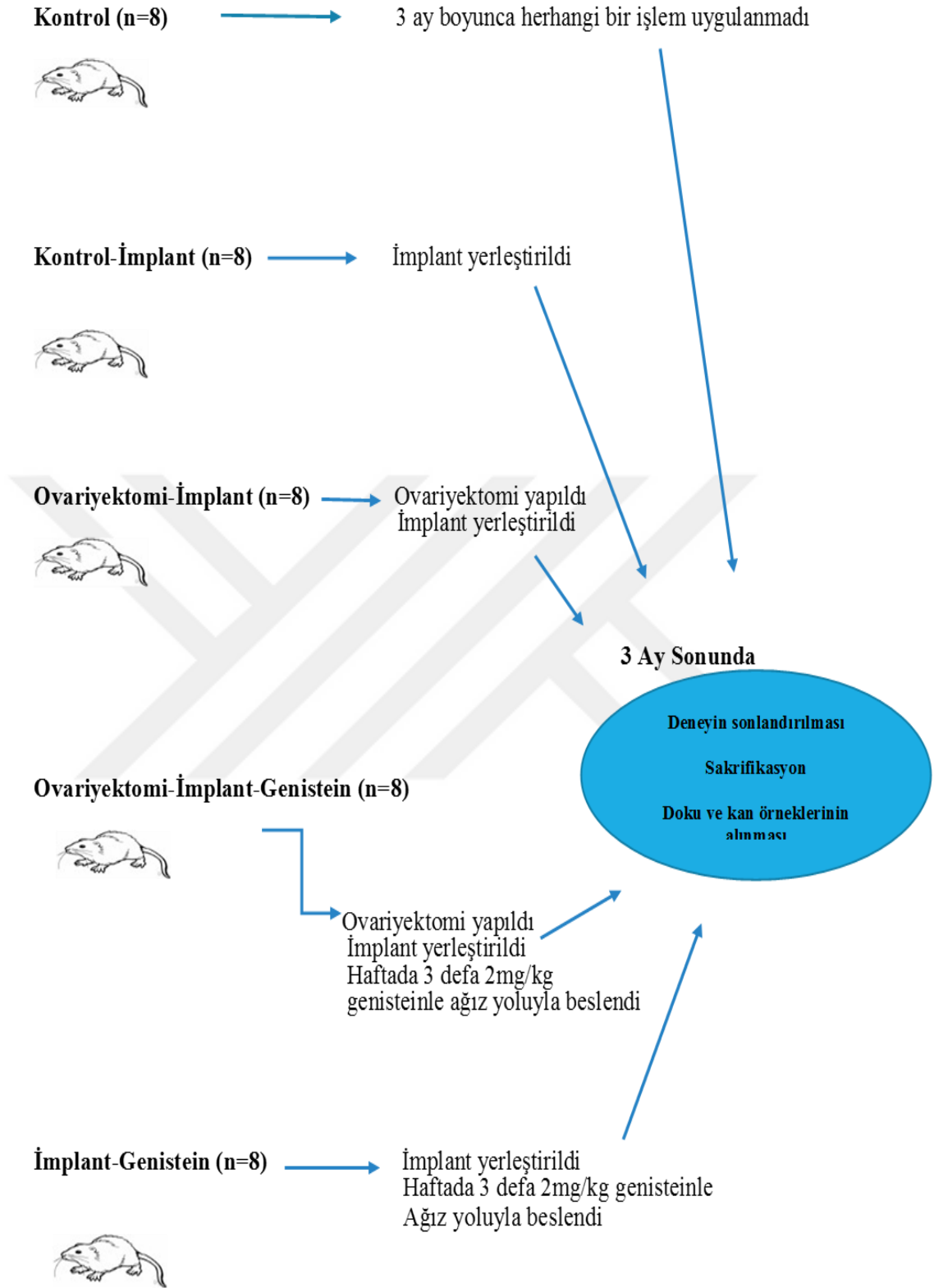
4.1. Deney Hayvanları ve Deneysel Düzenek

Çalışmada 40 adet 12 aylık 250-300 gram ağırlığında sprague dawley dişi rat kullanıldı. Ratlar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) temin edildi. Deney süresince tüm ratlara aynı şartlar altında bakıldı (12 saat gün ışığı-12 saat karanlık, 25 derece sıcaklık, suya ve yeme serbest ulaşım). Tüm hayvanlar deney süresince özel kafeslerde havalandırma sistemi olan odalarda barındırıldı. Denekler her birinde 8 adet rat olacak şekilde 5 eşit gruba ayrıldı.

1. **Kontrol Grubu (KNT)(n=8):** Bu gruptaki deneklere 3 aylık deneysel düzenek boyunca ek herhangi bir işlem uygulanmadı. Üç aylık deneysel düzenek sonunda denekler sakrifiye edildi.
2. **Kontrol-İmplant Grubu (KNT-İ)(n=8):** Genel anestezi altında deneklerin sağ tibia kemiklerinin metafiziyal kısımlarındaki kortikokansellöz kemiğe

2.5 mm çapında 4 mm uzunluğunda TiAl₆V₄ implantlar yerleştirildi ve çalışmanın sonuna kadar (3. Ayın sonuna kadar) ek herhangi bir işlem uygulanmadı.

3. **Ovariyektomi-İmplant Grubu (OV-İ) (n=8):** Genel anestezi altında bu gruptaki deneklere ovariyektomi yapıldı, aynı seansta deneklerin sağ tibiya kemiklerinin metafiziyal kısımlarındaki kortikokansellöz kemiğe 2.5 mm çapında 4 mm uzunluğunda TiAl₆V₄ implantlar yerleştirildi. İmplantların cerrahi yerleştirilmesini takip eden 3. ayın sonunda denekler sakrifiye edildi.
4. **Ovariyektomi-İmplant-Genistein Grubu (OV-İ-GEN) (n=8):** Genel anestezi altında bu gruptaki deneklere ovariyektomi yapıldı, aynı seansta deneklerin sağ tibiya kemiklerinin metafiziyal kısımlarındaki kortikokansellöz kemiğe 2.5 mm çapında 4 mm uzunluğunda TiAl₆V₄ implantlar yerleştirildi. Deneklere bu işlemi takiben 3 ay boyunca haftada 3 kez olmak üzere 2 mg/kg genistein-her seferde, oral gavaj yolu ile verildi, 3 aylık deney süresinin sonunda denekler sakrifiye edildi (260).
5. **İmplant-Genistein Grubu (İ-GEN) (n=8):** Bu gruptaki deneklerin genel anestezi altında sağ tibiya kemiklerinin metafiziyal kısımlarındaki kortikokansellöz kemiğe 2.5 mm çapında 4 mm uzunluğunda TiAl₆V₄ implantlar yerleştirildi, 3 aylık deney süresince haftada 3 kez olmak üzere 2 mg/kg genistein-her seferde, oral gavaj yolu ile verildi, 3 aylık deney süresinin sonunda denekler sakrifiye edildi (260).

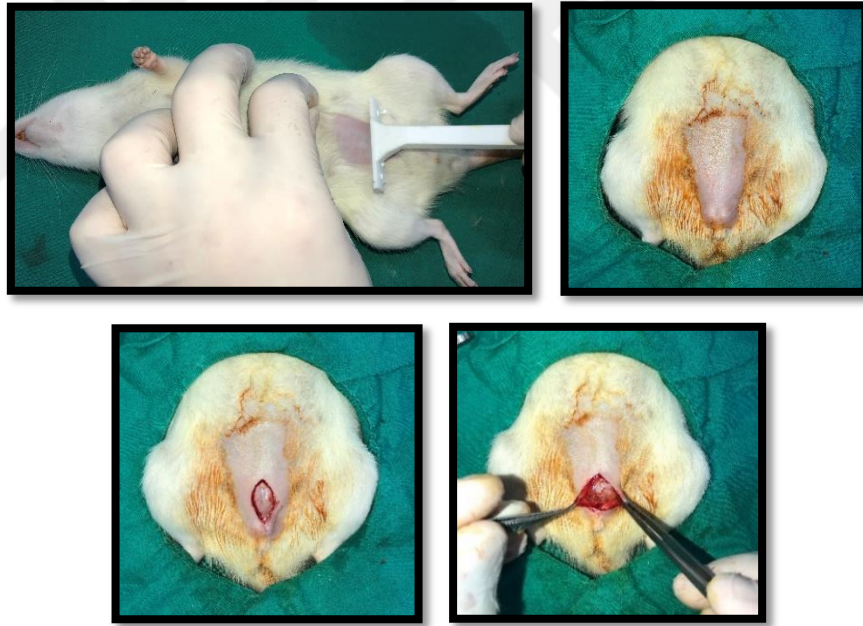


Şekil 16. Deneysel çalışma düzeneği

4.2. Overiyektomi işlemi

Çalışma gruplarındaki tüm ratlara uygulanan cerrahi işlemler genel anestezi altında, anestezikler kas içine enjekte edilerek gerçekleştirildi (10 mg/kg ksilazin, 40 mg/kg ketamin).

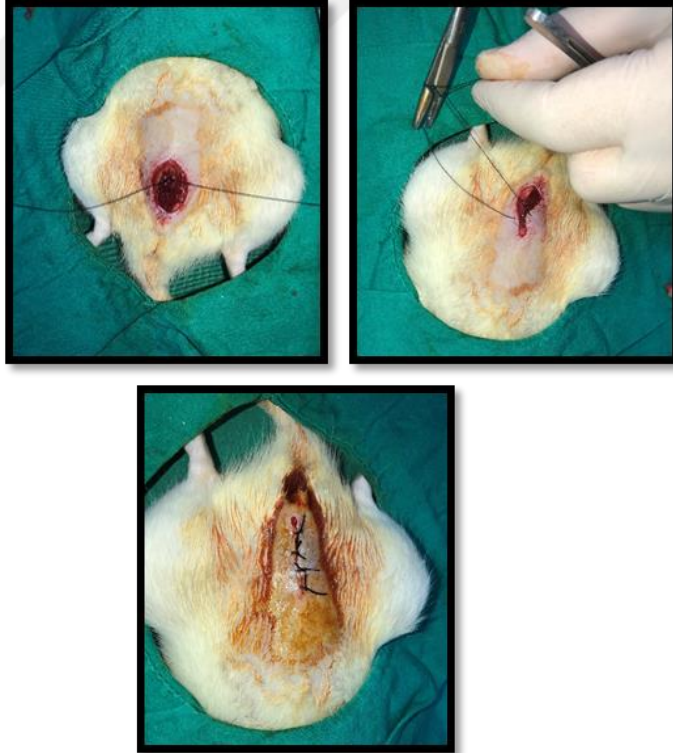
Genel anestezi uygulanan deneklerin cerrahi işlem uygulanacak alanları tıraş edildikten sonra povidone iodine ile cerrahi alanların antisepsisi sağlandı. Ovariyektomi uygulanacak olan deneklerde, karın orta hattında transvers yönde 2 cm'lik insizyonla karın boşluğu açıldı (Resim-1). Overler diseke edilerek çift taraflı eksize edildi, karın duvarı, ciltaltı ve cilt 5/0 vicryl ile ayrı ayrı dikilerek yara primer olarak kapatıldı (261) (Resim 2 ve 3).



Resim 1. Cerrahi alanın tıraş edilmesi ve transvers yönde insizyonla karın boşluğunun açılması.



Resim 2. Overlerin diseke edilerek çift taraflı eksizye edilmesi.



Resim 3. Karın duvarı, ciltaltı ve cildin 5/0 vicryl ile ayrı ayrı dikilerek yaranın primer kapatılması.

4.3. İmplatların Cerrahi Yöntemle Yerleştirilmesi

Yapılan bu çalışmada ticari saf titanyumdan özel olarak üretilmiş implantlar ($TiAl_6V_4$) ve bunları uygulamak için yine özel olarak üretilmiş uygulama seti kullanıldı. Implantlar EMP (Eriyebilen Materyalle Püskürtmeli Yüzey) yüzey yapısına sahip, 2.5 mm çapında, 4 mm uzunluğunda ve vida formundaydı (İmpliance İmplant Sistemleri, AGS Medikal, İstanbul, Türkiye).

Cerrahi uygulama seti çapı 1,8 mm olan başlangıç frezi, implant yuvasını genişletmek için çapı 2.2 mm olan ara frez ve çapı 2.5 mm olan final frezinden ve implantları açılan implant soketine yerleştirmek için bir taşıma parçasından oluşmaktaydı. İmplantların cerrahi yerleştirilmesi aşamasında sağ tibia kemiğinin sırtı üzerinden 15 nolu bistüri ile kemik teması alınarak kesi yapıldı (Resim 4 ve 5).



Resim 4. 15 nolu bistüri ve implant taşıma parçası.



Resim 5. 15 nolu bistüri ile sağ tibia kemiğinin sırtında kesi yapılması.

Yumuşak dokular ve periost, periost elevatörü ile diseke edilerek kemik dokusuna ulaşıldı. Metafiz bölgesinde kortiko kansellöz kemik platformu açığa çıkarılarak, kemik yüzeye dik şekilde implant yuvası hazırlanmaya başlandı. İmplant yuvaları açılırken ısınmanın önlenmesi amacıyla cerrahi alana steril serum fizyolojik ile irrigasyon yapıldı.

Devir hızı 500-600 rpm’de önce çapı 1,8 mm olan başlangıç frezi ardından 2.2 mm olan ara frez ve çapı 2.5mm olan final frezi ile monokortikal implant yuvaları implant uygulanan gruplardaki ratlara birer adet olacak şekilde hazırlandı. İmplantlar, yuvalara özel taşıma parçaları ile yerleştirilerek implantasyon işlemi bitirildi. İmplantlar yerleştirildikten sonra periost ve yumuşak dokular 4-0 ipek suture ile primer kapatıldı (Resim-6,7,8 ve 9).



Resim 6. İmplant yuvasının hazırlanması.



Resim 7. Hazırlanan implant yuvası.



Resim 8. Hazırlanan implant yuvasına özel taşıma parçasıyla implantın yerleştirilmesi.



Resim 9. Periost ve yumuşak dokuların 4-0 ipek suturela kapatılması.

Cerrahi işlemlerden sonra enfeksiyon ve ağrının önlenmesi amacıyla antibiyotik (40 mg/kg sefalosporin) ve analjezik (0.1 mg/kg tramadolhidroklorid) intramuskuler yolla 3 gün boyunca uygulandı (Resim-10).



Resim 10. Antibiyotik (40 mg/kg sefalosporin) ve analjeziğin (0.1 mg/kg tramadolhidroklorid) intramuskuler enjeksiyonu.

4.4. Hayvanların Beslenmesi

Genistein olarak en az %98 oranında genistein içeren Bonistein (DSM Nutritional Products Ltd, Research and Development, İsviçre) kullanıldı (Resim-11). Bonistein her bir denek için 2mg/kg olacak şekilde hassas tartıda tartıldıktan sonra serum fizyolojikle sulandırıldı (Resim-12). Ovariyektomi-İmplant-Genistein ve İmplant-Genistein grubundaki denekler hazırlanan bu çözelti ile 3 ay boyunca haftada 3 kez olmak üzere her seferinde oral gavaj yoluyla beslendi.



Resim 11. En az %98 genistein içeren Bonistein (DSM Nutritional Products Ltd, Research and Development, İsviçre)



Resim 12. Bonisteinin tartıldığı hassas tartı.

Tüm denekler 90 günlük deneysel düzeneğin sonunda genel anestezi altında kalplerinden kan alınarak sakrifiye edildi.

4.5. Kan Örneklerinin Alınması

Sakrifikasyon işleminden hemen önce, derin anestezi altında ratların, önce batınları ardından göğüs kafesleri cerrahi makasla açılarak kalplerine ulaşıldı. Kalp içine girilerek kalplerinden 10 cc'lik enjektörlerle kanları alındı. Alınan kanlar 10 ml'lik jelli tüplere konuldu ve 10 dk. süreyle santrifüj edildi (3000 devir/dk) (Resim-13). Kanlar santrifüj edildikten sonra örnekler serum ve plazma olarak ayrıldı. Serum kısımları eppendorf tüplere alınarak analiz gününe kadar -80 °C'de saklandı.



Resim 13. Kanların santrifüj edildiği NF 200 santrifüj cihazı.

4.6. Serum Örneklerinin Biyokimyasal Analizleri

Ratlardan elde edilen serum örneklerinden; alkalen fosfataz (ALP) kalsiyum (Ca), fosfor (P), aspartat aminotransferans (AST), alanin aminotransferans (ALT) fotometrik yöntemle Fırat Üniversitesi Tıp fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda analiz edildi (Cihaz, Olympus AU 2700 Otoanalizör, Amerika Birleşik Devletleri).

4.7. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Titanyum implantlar etraflarındaki kemik dokusu ile birlikte çıkarıldı ve formaldehit içeren kaplara konularak histolojik inceleme için hazırlandı. Ayrıca tüm deneklerin sağ femur ve çene kemikleri kemik mineral yoğunluğu analizleri yapılmak üzere alındı.

4.8. Dekalsifiye edilmemiş histomorfometrik değerlendirme

İmplant örneklerinin histomorfometrik inceleme için kesitlerin eldesi Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Histolojik incelemede deney hayvanlarının tibiyalarına yerleştirilen titanyum implantlar, çevresindeki kemik ile birlikte çıkarıldıktan sonra, dekalsifiye edilmemiş kesit hazırlama metoduna göre analiz edildi.

İmplantlar ve çevrelerindeki kemik yumuşak dokudan uzaklaştırılarak blok halinde çıkarıldıktan sonra % 4'lük tamponlanmış formalin solüsyonunda en az 24 saat süreyle bekletildi. Bu fiksasyon işleminden sonra tüm örnekler sırasıyla % 70, % 80, % 90, % 96 ve % 99 derişimindeki alkol havuzlarında birer gün süreyle bekletilerek su kaybetme işlemi gerçekleştirildi. Örnekler sularını kaybettikten sonra metil metakrilat rezin içerisinde 24 saat bekletilerek vakum altında sızma işlemi yapıldı. Sızma işlemi tamamlanmış örnekler metil metakrilat ile doldurulmuş şeffaf plastik kalıplara hava kabarcığı kalmayacak şekilde teker teker gömüldü. Her birinde bir örnek içeren kalıplar 40°C'da 450 nm dalga boyundaki ışık altında 8 saat süreyle polimerize edilerek hazırlandı.

Polimerizasyon işlemi tamamlandıktan sonra örnekler şeffaf kutucuklardan çıkartıldı. Örnekleri içeren şeffaf metil metakrilat rezin blokların düz olan alt

yüzeyleri pleksiglas lam üzerine vakum altında yapıştırıldı. Pleksiglas lam üzerindeki örnekler hassas kesme cihazına bağlı elmas testere (Exakt 300 CL, Exakt Apparabau, Norderstad, Almanya) ile 300µm kalınlığında kesildi. Bu ilk kesme işlemleri bloklar içindeki titanyum implantların merkezinden geçerek uzunlamasına yapıldı.

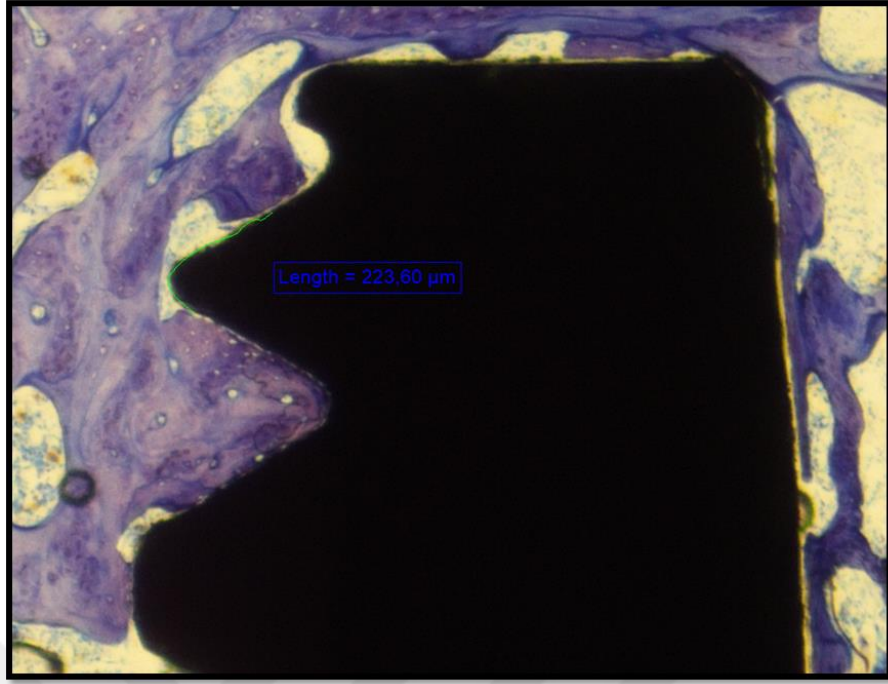
Bu kesitler hassas aşındırma sisteminde (Exakt 400 CS, Exakt Apparabau, Norderstad, Almanya) sırasıyla 1000, 1200 ve 2500'lük zımparalar kullanılarak 50 µm'ye kadar inceltildi. Bu yöntemle her bir örnekten 1'er adet histolojik kesit elde edildi. Bu kesitler toulidine mavisi ile boyandı. Boyanan histolojik preparatlar bir gece kuruma için bekletildikten sonra örnek yüzeyleri metil metakrilat kullanılarak lamel ile örtüldü.

Işık mikroskobuna (Nikon, Japonya) bağlı dijital kamera ile tüm örneklerin 2x, 4x, 10x optik büyütmelemlerde dijital görüntülerinin fotoğrafları çekilip kaydedildi. Görüntü Analiz Programı kullanılarak histolojik kemik implant kaynaşması (KİK) (%) yüzdesi ölçümleri ve yiv doluluk yüzdesi (YDY) (%) ölçümleri her bir örnek için ayrı ayrı yapıldı.

4.8. Kemik implant kaynaşması (KİK) analizleri

Kemik implant kaynaşması yüzdesi ölçümü yapılırken önce her bir implantın çevre uzunluğu hesaplandı, daha sonra her bir implantın kemik ile temas eden çevre uzunluğu hesaplandı. Kemik ile temas eden kısmın implantın çevre uzunluğuna oranı her bir implant için kemik implant kaynaşması (KİK) yüzdesi olarak değerlendirildi (Resim-14).

- α → implantın kemik ile temas eden uzunluğu
 - β → implant çevre uzunluğu
 - γ → kemik implant kaynaşması (KİK) (%)
- KİK (γ) = $\alpha/\beta \times 100$ (262).**



Resim 14. KİK ölçümü yapılması 4x optik büyütme

4.9. Yiv doluluk yüzdesi (YDY) analizleri

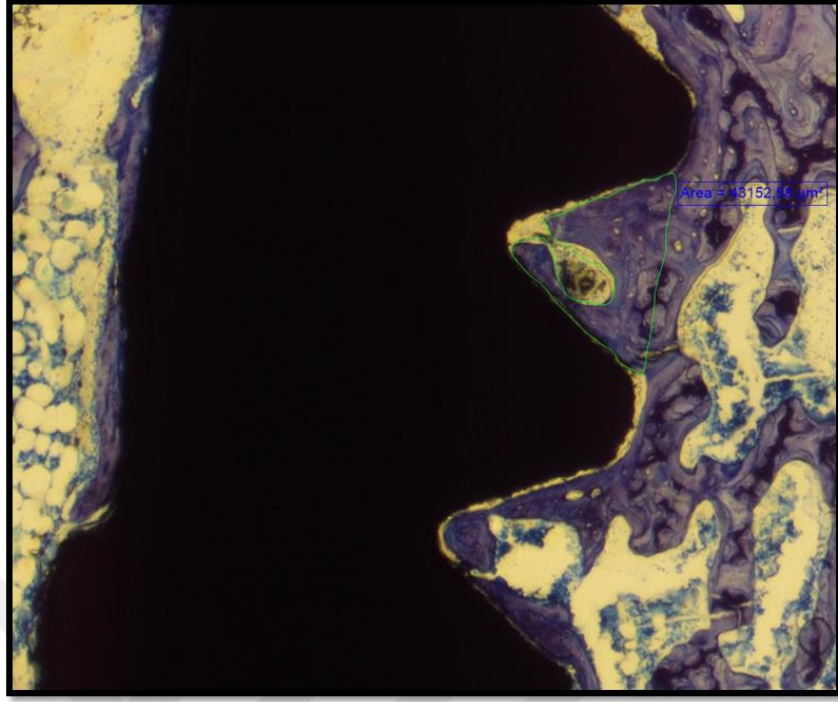
Yiv doluluk yüzdesi hesaplanırken önce her bir implantın tüm yiv alanları tek tek ölçüldü ve toplanarak toplam yiv alanı belirlendi. Ardından her bir yiv boşluğu içinde bulunan kemik alanı hesaplandı ve toplandı. Toplam kemik içeren alanın, toplam yiv alanına oranının yüzdesi her bir implant için yiv doluluk yüzdesi olarak hesaplandı (Resim-16).

n toplam yiv alanı

z toplam kemik dolu yiv alanı

y yiv doluluk yüzdesi (YDY) (%)

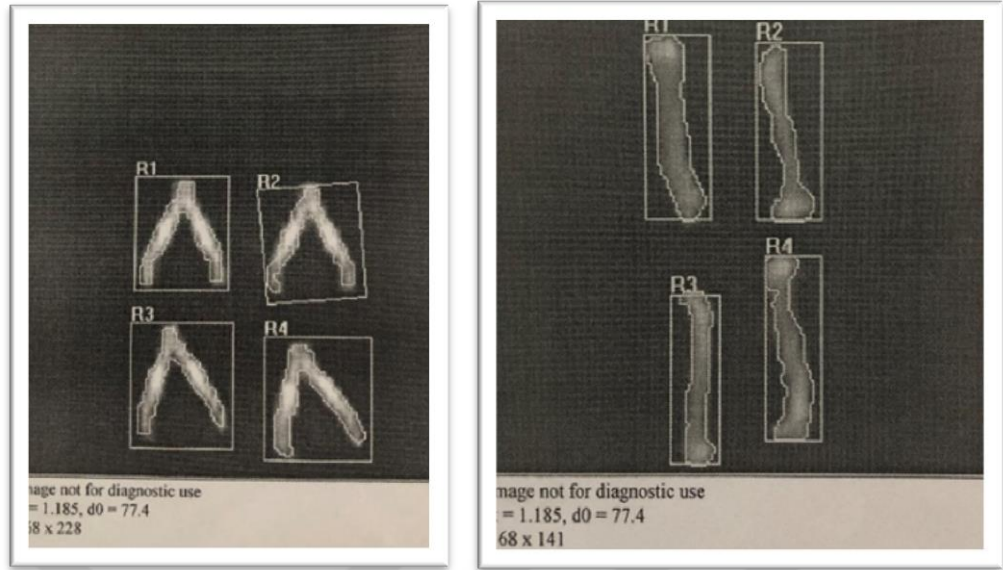
YDY (y)=z/n X 100 (262, 263).



Resim 15. YDY ölçümü için bir yiv boşluğundaki kemik alanının hesaplanması (4x optik büyütme).

4.10. Kemik Yoğunluğunun Değerlendirilmesi

Dansitometrik değerlendirme Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı'na ait Dual Enerji X Ray Absorbsiyometri (DEXA) (HOLOGIC® QDR 4500C Acclaim Series Elite S/N:49458) cihazında, Version 12,3 paket yazılımı kullanılarak yapıldı. İncelemelerde küçük hayvan programı ve ultra yüksek çözünürlük modu kullanıldı. Değerlendirmede çeneler ve sağ femurların kemik mineral yoğunluğu (KMY) kaydedildi (Resim-16).



Resim 16. Çene ve sağ femurların kemik mineral yoğunluklarının kaydedilmesi.

4.11. İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, frekans) yanı sıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Mann Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

5. BULGULAR

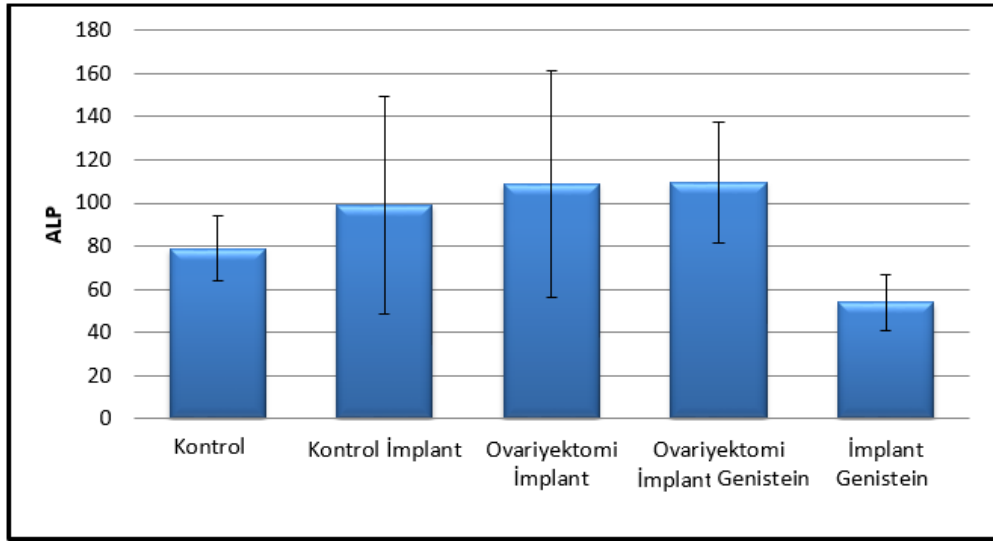
Çalışma 8'i (%20) Kontrol, 8'i (%20) Kontrol implant, 8'i (%20) Ovariyektomi implant, 8'i (%20) Ovariyektomi implant genistein ve 8'i (%20) İmplant genistein olmak üzere toplam 5 grup altında incelenmiştir.

Tablo 5. Gruplar arasında ALP, Ca, Fosfor, AST ve ALT parametrelerinin değerlendirilmesi

Grup	ALP (U/L)	Ca (mg/dl)	Fosfor(mg/dl)	AST (U/L)	ALT (U/L)
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)
Kontrol Grubu	78,88±14,97 (74)	10,91±0,28 (10,8)	5,85±0,32 (5,8)	206,75±32,01 (199,5)	73,88±7,53 (73)
Kontrol İmplant Grubu	99,25±50,39 (87,5)	10,92±1,04 (10,6)	5,56±0,53 (5,6)	210,5±28,14 (203)	74,5±13,31 (68,5)
Ovariyektomi implant Grubu	109±52,39 (98)	10,42±0,39 (10,4)	5,05±0,22 (5,1)	216,25±41,17 (230,5)	79,75±13,53 (78)
Ovariyektomi İmplant Genistein Grubu	109,5±28,07 (120,5)	10,26±0,26 (10,3)	5,35±0,14 (5,4)	239,88±39,23 (247,5)	86,13±14,59 (88)
İmplant Genistein Grubu	53,88±12,9 (52)	10,57±0,52 (10,5)	5,56±0,28 (5,6)	194,5±45,85 (185,5)	64,5±22,7 (57,5)
p	0,009*	0,020*	0,001*	0,163	0,015*

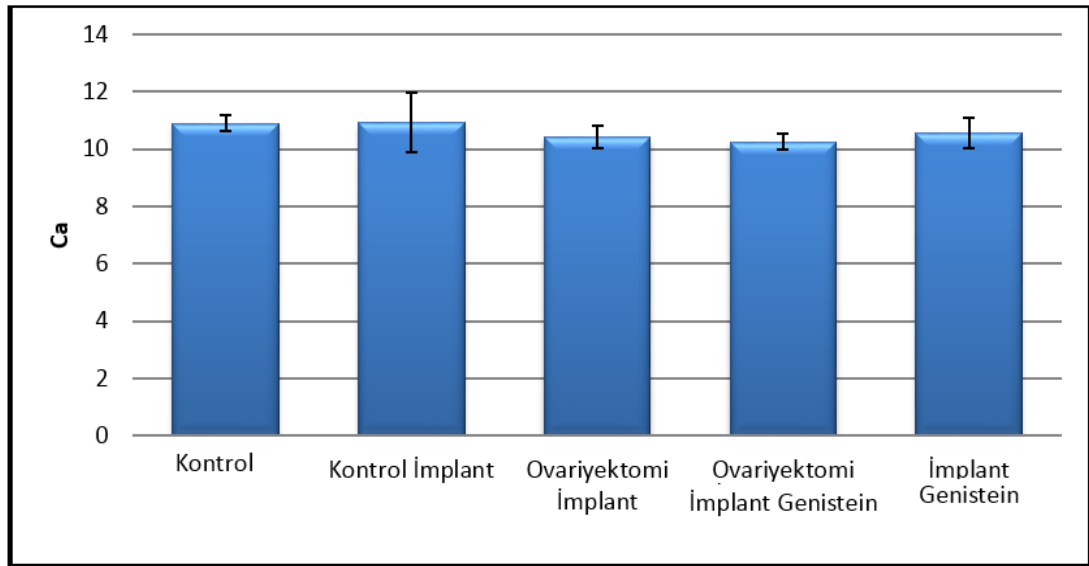
Kruskal Wallis Test * $p < 0.05$

Gruplar arasında ALP düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.009$; $p < 0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; İmplant genistein grubunun ALP düzeyleri, Kontrol, Kontrol implant, Ovariyektomi implant ve Ovariyektomi implant genistein gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p_1:0.008$; $p_2:0.040$; $p_3:0.016$; $p_4:0.002$; $p < 0.05$). Diğer gruplar arasında ALP düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$).



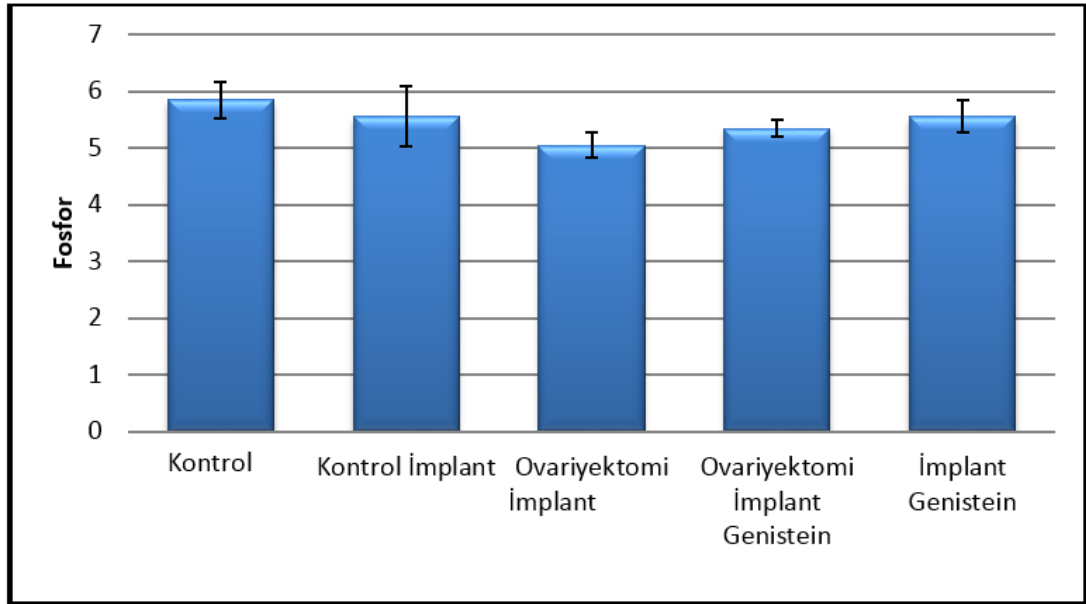
Şekil 17. Grupların ALP düzeylerinin grafikte gösterilmesi.

Gruplar arasında Ca düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.020$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun Ca düzeyleri, Ovariyektomi implant ve Ovariyektomi implant genistein gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.012$; $p_2:0.001$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında Ca düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).



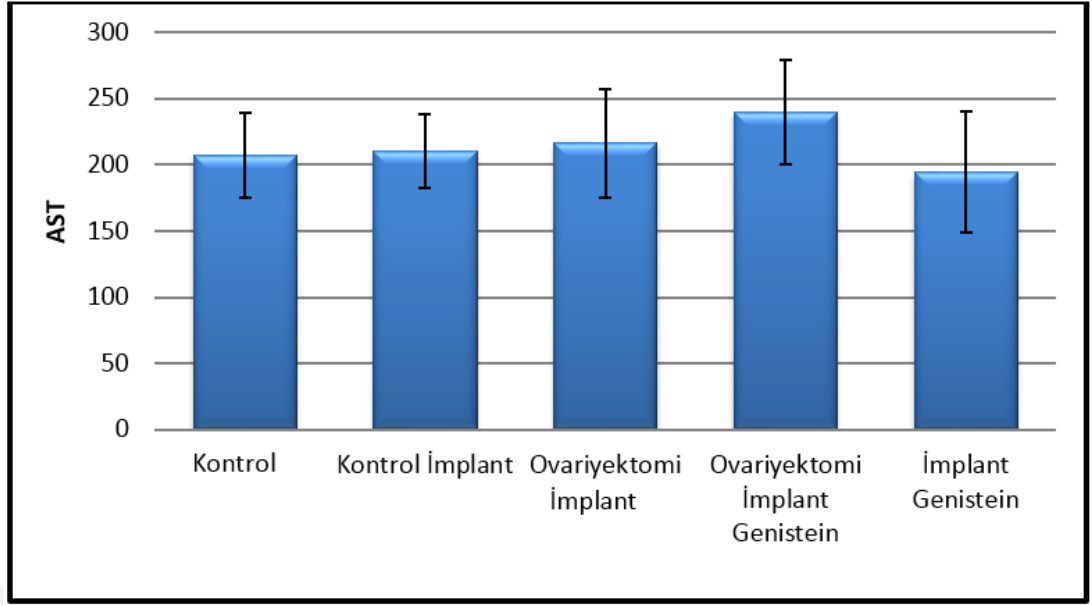
Şekil 18. Grupların Ca düzeylerinin grafikte gösterilmesi.

Gruplar arasında fosfor düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.001$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun fosfor düzeyleri, Ovariyektomi implant ve Ovariyektomi implant genistein gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p:0.001$; $p<0.05$). Ovariyektomi implant grubunun fosfor düzeyleri, Ovariyektomi implant genistein ve İmplant genistein gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p_1:0.011$; $p_2:0.003$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında fosfor düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).



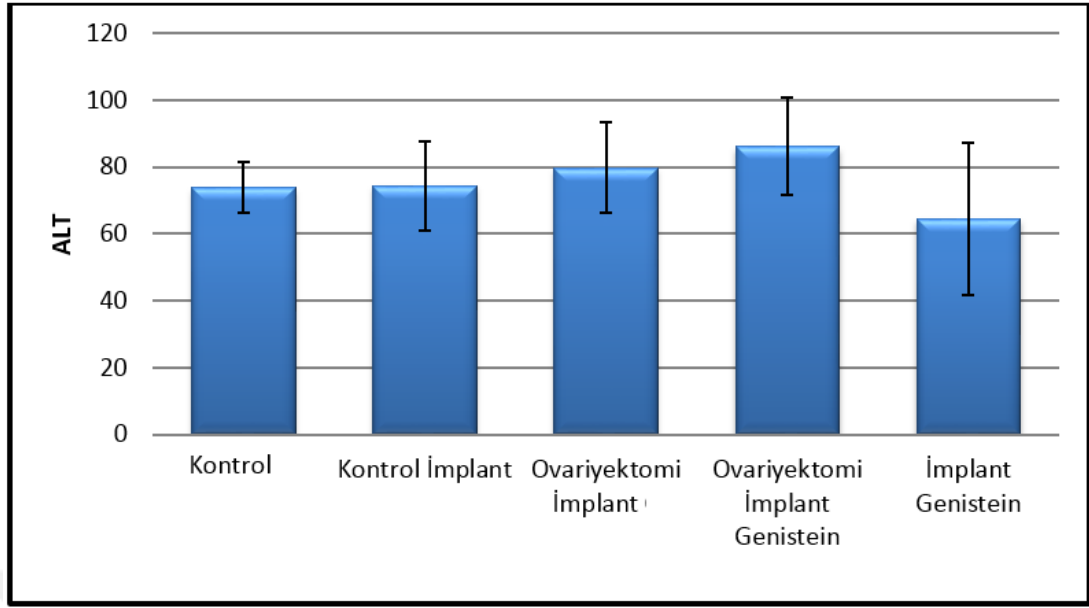
Şekil 19. Grupların fosfor düzeylerinin grafikte gösterilmesi.

Gruplar arasında AST düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).



Şekil 20. Grupların AST düzeylerinin grafikte gösterilmesi.

Gruplar arasında ALT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.015$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; İmplant genistein grubunun ALT düzeyleri, Kontrol, Kontrol implant, Ovariyektomi implant ve Ovariyektomi implant genistein gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p_1:0.012$; $p_2:0.013$; $p_3:0.012$; $p_4:0.012$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında ALT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).



Şekil 21. Grupların ALT düzeylerinin grafikte gösterilmesi.

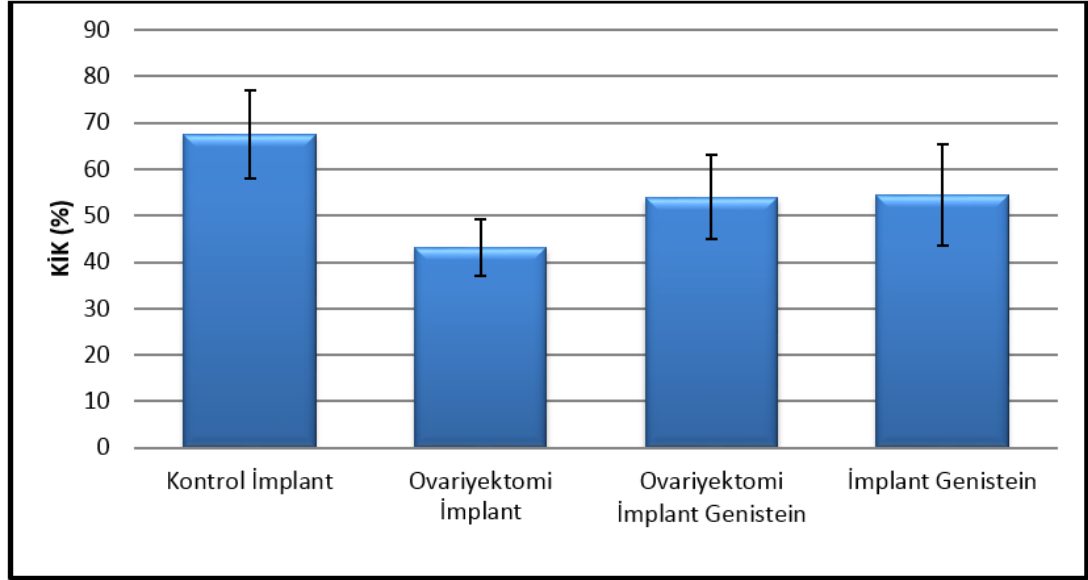
Tablo 6. Gruplar arasında KİK ve YDY parametrelerinin değerlendirilmesi

Grup	KİK (%)	YDY (%)
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)
Kontrol İmplant Grubu	67,6±9,44 (68)	48,25±8,83 (48,8)
Ovariyektomi İmplant Grubu	43,26±6,09 (44)	35,73±15,46 (29,4)
Ovariyektomi İmplant Genistein Grubu	53,99±9,02 (52,8)	49,57±19,79 (44,5)
İmplant Genistein Grubu	54,57±10,95 (54,6)	43,3±9,24 (41,9)
p	0,002*	0,214

Kruskal Wallis Test * $p < 0.05$

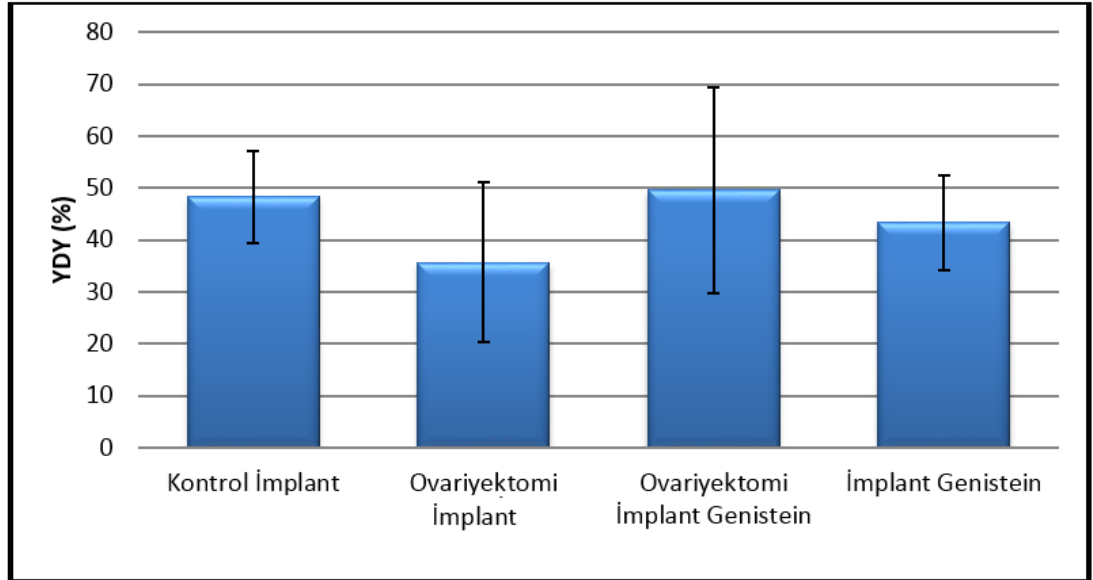
Gruplar arasında KİK düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.002$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol implant grubunun KİK düzeyleri, Ovariyektomi implant, Ovariyektomi implant genistein ve İmplant genistein gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.001$; $p_2:0.021$; $p_3:0.027$; $p<0.05$). Ovariyektomi implant grubunun KİK düzeyleri, Ovariyektomi implant genistein ve İmplant genistein gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük

bulunmuştur ($p_1:0.046$; $p_2:0.036$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında KİK düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

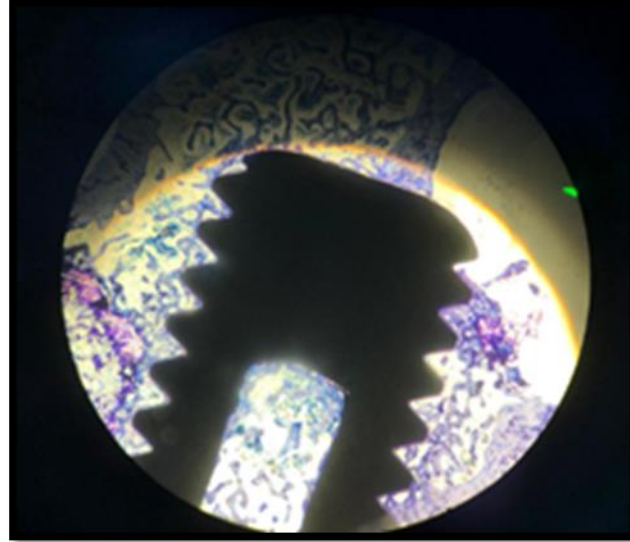
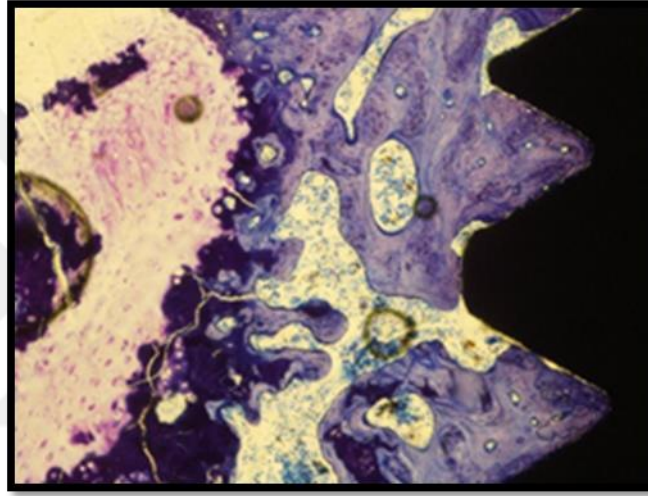
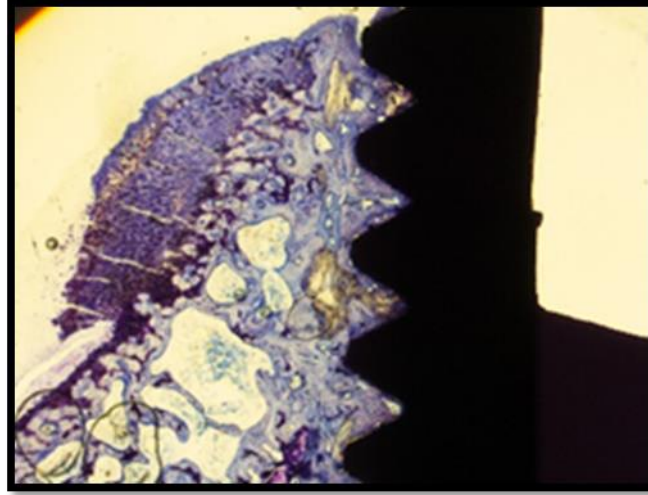


Şekil 22. Grupların KİK düzeylerinin grafikte gösterilmesi.

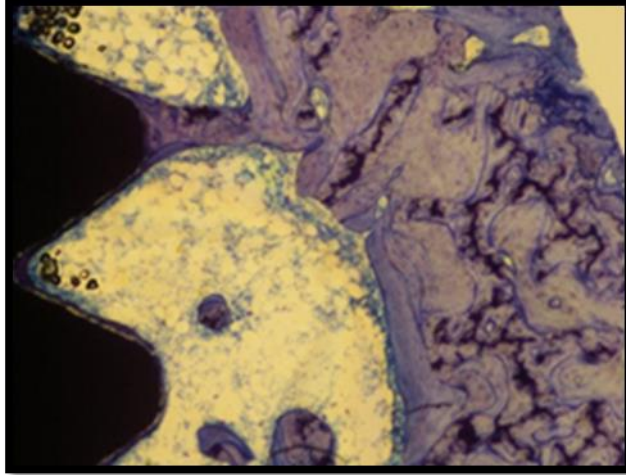
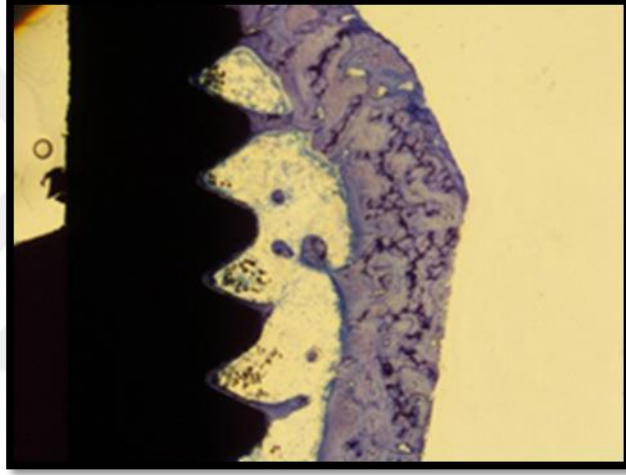
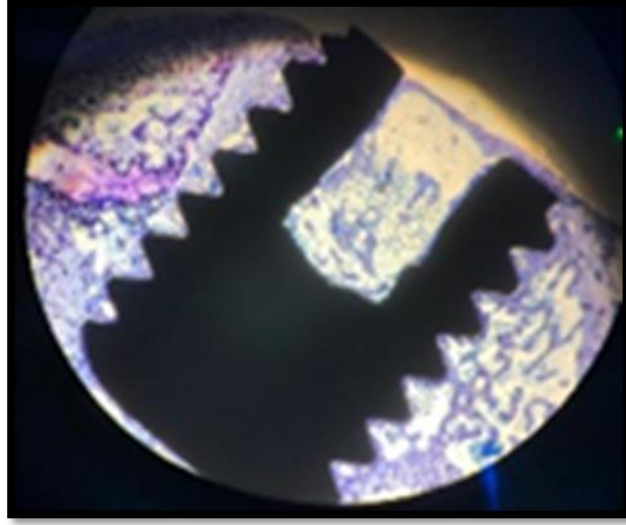
Gruplar arasında YDY düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).



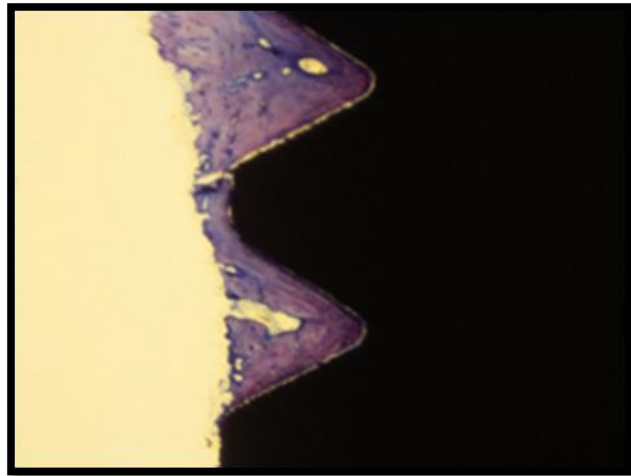
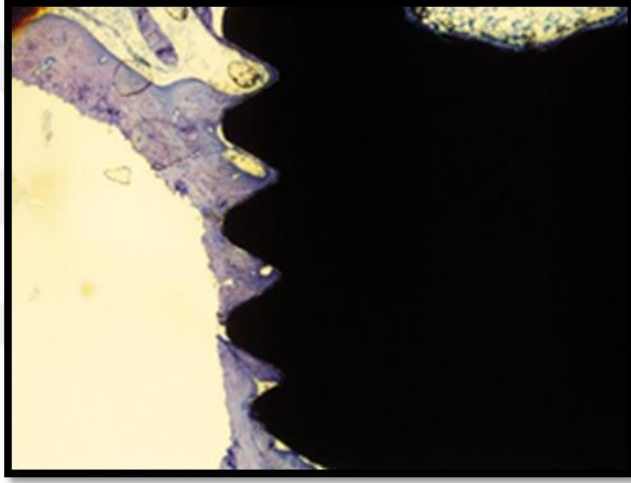
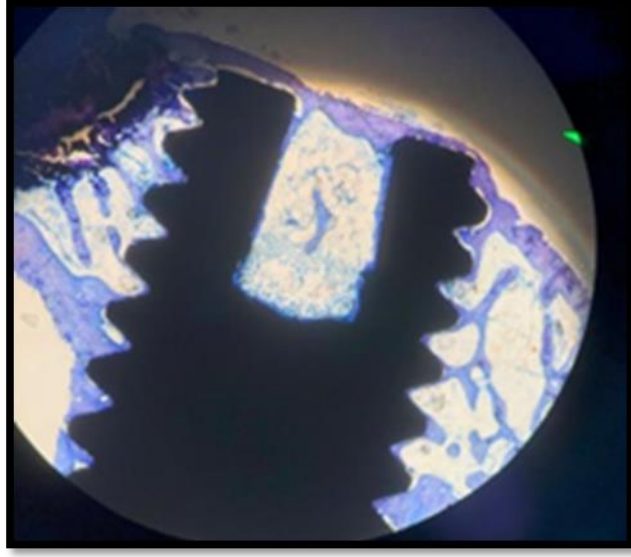
Şekil 23. Grupların YDY düzeylerinin grafikte gösterilmesi.



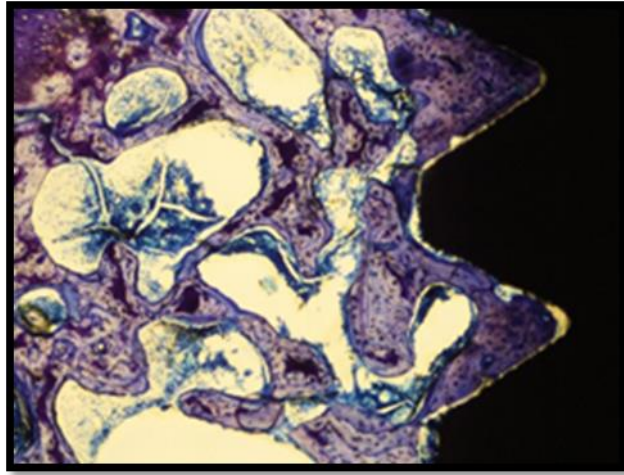
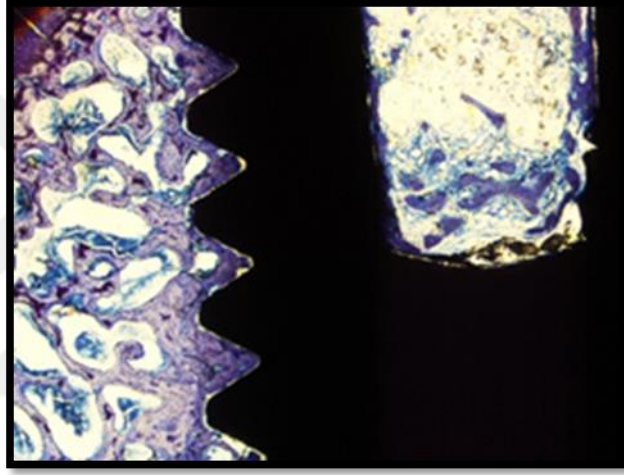
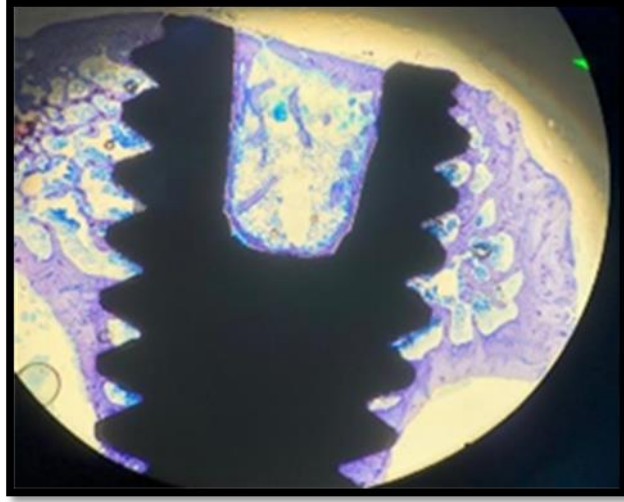
Resim 17. Kontrol-İmplant grubunun yukarıdan aşağıya sırasıyla 2x, 4x, 10x (x=10 kat) büyütmedeki histolojik kesit görüntüleri.



Resim 18. Ovariyektomi-İmplant grubunun yukarıdan aşağıya sırasıyla 2x, 4x, 10x (x=10 kat) büyütmedeki histolojik kesit görüntüleri.



Resim 19. Ovariyektomi-İmplant-Genistein grubunun yukarıdan aşağıya sırasıyla 2x, 4x, 10x (x=10 kat) büyütmedeki histolojik kesit görüntüleri.



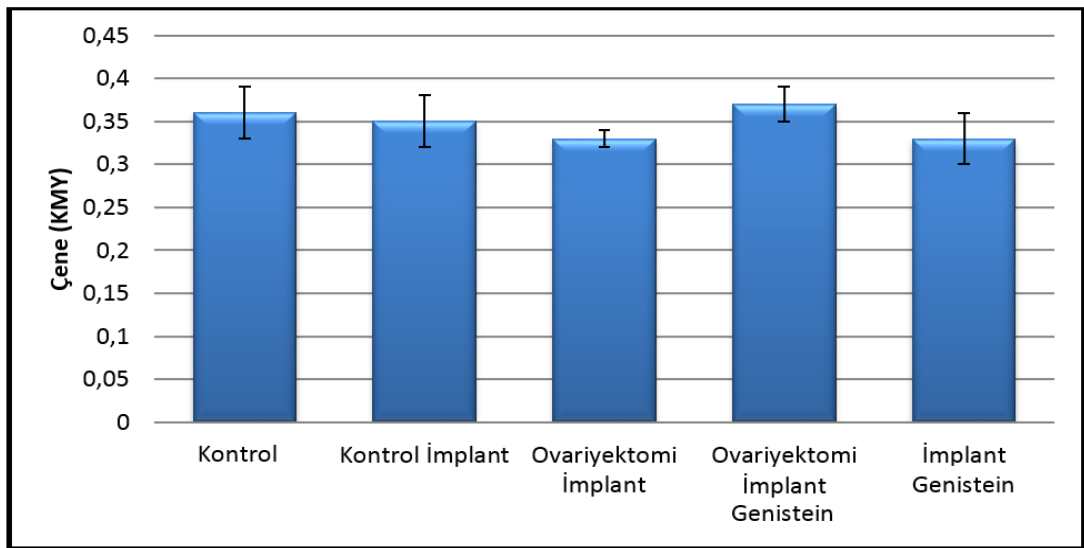
Resim 20. İmplant-Genistein grubunun yukarıdan aşağıya sırasıyla 2x, 4x, 10x (x=10 kat) büyütmedeki histolojik kesit görüntüleri.

Tablo 7. Gruplar arasında çene ve femur parametrelerinin değerlendirilmesi

Grup	ÇENE(KMY)	FEMUR(KMY)
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)
Kontrol Grubu	0,36±0,03 (0,4)	0,24±0,01 (0,2)
Kontrol İmplant Grubu	0,35±0,03 (0,4)	0,25±0,03 (0,3)
Ovariyektomi İmplant Grubu	0,33±0,01 (0,3)	0,23±0,03 (0,2)
Ovariyektomi İmplant Genistein Grubu	0,37±0,02 (0,4)	0,23±0,01 (0,2)
İmplant Genistein Grubu	0,33±0,03 (0,3)	0,25±0,02 (0,2)
p	0,008*	0,322

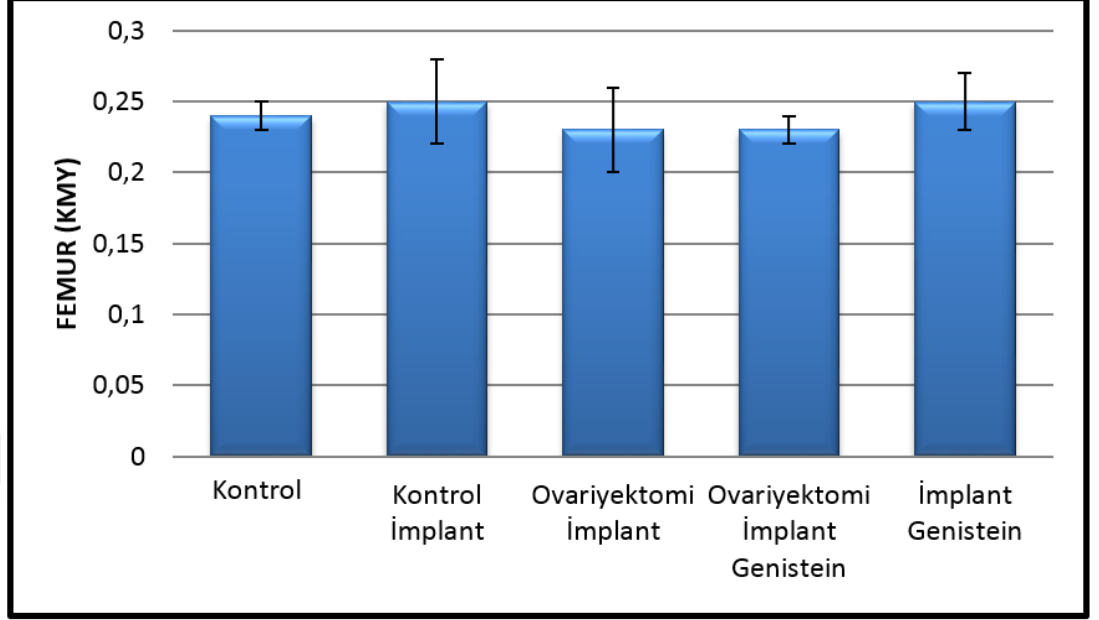
Kruskal Wallis Test * $p<0.05$

Gruplar arasında çene kemik mineral yoğunluğu (KMY) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.009$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun çene KMY düzeyleri, Ovariyektomi implant ve İmplant genistein gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.016$; $p_2:0.036$; $p_3:0.016$; $p_4:0.002$; $p<0.05$). Ovariyektomi implant genistein grubunun çene KMY'si, Ovariyektomi implant ve İmplant genistein gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.002$; $p_2:0.021$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında çene KMY'leri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).



Şekil 24. Grupların çene KMY'nin grafikte gösterilmesi.

Gruplar arasında femur KMY'leri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).



Şekil 25. Grupların femur KMY'nin grafikte gösterilmesi.

6. TARTIŞMA

Günümüzde implant tedavisi, diş eksikliğinin tedavisinde ön planda seyretmektedir (5). Osteoporoz, kemik dokusunun mikro mimarisinde bozulma ve kemik kütlesinde azalmayla karakterize sistemik bir rahatsızlık olup her iki cinsiyeti de etkilemekle beraber özellikle östrojen seviyesinin ciddi oranda azaldığı menapoz sonrası dönemde kadınları etkiler (5). Soya fasulyesi isoflavonu olan, fitoöstrojen olarak görev yapan genisteinin osteoporozu tedavi ettiği yapılan bir çok çalışmada ortaya konmuştur (6, 7, 238, 258). Genistein kemik sağlığını iyileştirmekte, östrojen eksikliğine bağlı kemik kaybını azaltmaktadır (6). Osteoporoz sonrasında kemikte meydana gelen değişiklikler kemik implant kaynaşmasını olumsuz etkilemektedir ve bu sebepten osteoporozu olan hastalara implant tedavisine şüpheyile yaklaşılmaktadır (5). Bu yüzden osteoporozun tedavisinde kullanılan yöntemlerin kemik implant kaynaşmasına olan etkisi hep araştırma konusu olmuştur. Osteoporoz tedavisinde kullanılıp olumlu sonuç veren bileşiklerin kemik implant kaynaşmasına olumlu etkisi olabilir (5). İncelenen literatürlerde ulaşabildiğimiz ölçüde genisteinin osteoporozda osseointegrasyona etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmayla karşılaşılmamıştır. Bu çalışmada genisteinin ovariyektomi yapılan ratlarda osseointegrasyona ve kemik dokusuna etkisinin 5 grupta toplam 40 rat üzerinde, biyokimyasal, histomorfometrik ve radyolojik yöntemlerle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar, genisteinin osteoporozlu hastalarda osteointegrasyonu olumlu etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Osteoporozda meydana gelen sistemik kemik kaybı ilk başta belirti vermeyebilir ve bu kemik kaybı kişinin yaşamını birçok anlamda olumsuz

etkileyen kemik kırılmalarıyla sonuçlanabilir. Osteoporozda görülen kemiklerdeki yoğunluk ve hacim düşüşü diğer kemiklerde olduğu gibi çene kemiklerinde de meydana gelmektedir. Osteoporoz ve çene kemikleri arasındaki ilişki ilk olarak 1960 senesinde çalışılmıştır (264). Bu çalışmaya göre alveolar kemikteki kayıp, mandibulanın gövdesinden daha fazla bulunmuştur. Kemiğin yeniden şekillenme oranı alveolar kemikte diğer kemiklere göre daha fazladır, bu yüzden osteoporoz ilk bulgularını alveolar kemikte vermektedir (208). Yapılan bir derlemede incelenen çalışmalar, kadınların erkeklerden daha düşük mandibular kemik mineral içeriğine sahip olduğunu ve 50 yaş üstü kadınlarda aynı yaştaki erkeklerden daha fazla kemik kaybının olduğunu göstermiştir (265). Bizim çalışmamızda ovariyektomi uygulanan deneklerin çene KMY'si, kontrol grubuna göre daha düşük tespit edilmiştir ve bu sonuç literatür ile uyumludur (208).

Menopoz ya da ovariyektomi sonrası östrojenin düşmesi osteoporozun en çok görülen sebebidir (266). Menopoz sonrası kadınlarda over fonksiyonu azalır ve bunu takiben östrojen miktarı düşer. Buna bağlı gelişen osteoporozu postmenopozal osteoporoz denilir. Postmenopozal osteoporozun tedavisi için denenen ajanların deneysel çalışmalarında ovariyektomi yapılan hayvanlar kullanılmaktadır. Deneysel osteoporoz için domuz, tavşan, köpek, rat gibi çeşitli hayvanlar kullanılmış olsa da özellikle kemik kaybını önlemek için çalışılan ilaçların denendiği çalışmalarda en sık tercih edilen hayvan rat olmuştur (267-269).

İnsanlara benzer şekilde, yetişkin bir rattaki kemik dokusu ~% 60 minerallerden (hidroksiapatit kristalleri olarak % 95 kalsiyum ve fosfor) ve ~% 40 organik bileşenden (% 90 kollajen tip I) oluşmaktadır (100). Normal trabeküler

kemiklerde yeniden şekillenme döngülerinin süresi (sırasıyla aktivasyon, rezorpsiyon, yeniden şekillenme ve formasyon fazını içerir) insanlarda ~ 200 gün ve sıçanlarda ~ 6 gündür (270). İskelet büyümesini değerlendirmedikçe, osteoporoz çalışmaları için minimum sıçan yaşının 6 ay olması önerilmiştir (271). Bu yüzden bu çalışmada kullandığımız ratlar 12 aylık ratlardı.

Farklı sıçan suşlarında ovariektominin kemik parametreleri üzerindeki etkilerini karşılaştırmak için kafa kafaya bir çalışma olmamasına rağmen, Sprague-Dawley ve Wistar sıçanları en yaygın kullanılan suşlardır ve ovariektomiye benzer cevaplar gösterirler (272).

Ratların manipülasyonu büyük hayvanlara göre daha kolaydır, maliyeti düşüktür, enfeksiyona dirençleri yüksektir, üretimleri kolaydır. Bu avantajlarından dolayı çalışmamızda Sprague-Dawley dişi ratlar tercih edilmiştir.

Ratlar doğal menapoz geçirmezler bu yüzden ovariektomi, ratlarda menapoz indüksiyonu için kullanılır (273). Vajinal yaymalardan elde edilen sonuçlara göre, düzenli östrojen döngüsünün ovariektomiden sonraki 1 hafta içinde ortadan kalktığı gösterilmektedir (274). Sıçanlarda, ovariektomiden sonra kemik rezorpsiyonu kemik oluşumunu aşar ve kemik kaybı meydana gelir (269). Kemik yapımı ve yıkımı 90 günden sonra sabit bir duruma ulaşmaktadır (275). Bu yüzden yaptığımız çalışmada deneysel düzeneği 90 günde sonuçlandırdık.

Ratlarda ovariektomi için ventral (alt karın) ve dorsal (üst sırt) olmak üzere iki farklı insizyon yöntemi tanımlanmıştır (276). Khajuria ve ark'nın ratlarda ovariektomi işlemindeki insizyon tiplerini karşılaştırdıkları bir çalışmada, ventral transvers insizyon uygulanan grupta yara iyileşmesi süresinin diğerlerinden hızlı olduğu, kullanılan tekniğin daha kolay ve daha az zaman aldığı bulunmuştur. Biz de

bu bilgi ışığında ovariyektomi işleminde ventral (alt karın) yaklaşımı ve transvers (uzunlamasına) insizyonu tercih ettik (261).

Ovariyektomi yapılan rat ve primat modellerinin, menapoz sonrası kadınlarda meydana gelen iskelet değişikliklerini yeterince taklit edip, menapoz sonrası osteoporoz modelleri olarak hizmet verip veremeyeceğini araştıran bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada ovariyektomi işlemini takiben ilk iki hafta ratların iskelet sistemi üzerindeki değişimleri incelenmiş ve 14. günde rezorbsiyonda artışla birlikte trabeküler kemik hacminde azalma ve kemik kaybı görülmüştür. Ovariyektomi yapılmış ratların proksimal tibiaların süngerimsi kemiğinde kaydedilen erken olaylar kemik kütlesi kaybı olarak bildirilmiş ve bunun da postmenopozal kadınlarda bildirilene benzer olduğu görülmüştür (277).

Sıçanlarda osteoporoz, daha düşük kemik mineral yoğunluğu ve daha düşük trabeküler sayı ve kalınlık ile daha yüksek trabeküler ayrılma, proksimal tibia, lumbar vertebra ve femurda ovariyektomiden sırasıyla 14, 30 ve 60 gün sonra gözlenen değişiklikler ile doğrulanır. Güncel veriler proksimal tibia, lumbar vertebra ve femurun trabeküler kemiklerinin ovariyektomiye tepkilerinin insanlardakine benzer olduğunu göstermektedir; ancak kısa süreli çalışmalar için proksimal tibiya önerilir (278). Bizim çalışmamızda ratların proksimal tibiyasına implantlar yerleştirilmiştir ve çalışma 90 gün olarak planlanmıştır. Literatürde osseointegrasyon çalışmalarında ratlar sıklıkla tercih edilen deneklerdir. Bu veriler doğrultusunda bu çalışmada ratlar tercih edilmiştir (267-269).

Liu ve ark.'nın ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada ovariyektomiden 36 hafta sonra, uzun kemiklerde (humerus, ulna, distal femur ve proksimal tibia dahil) kemik kaybının omurgaya (~% 57-64) ve kranial kemiklere göre daha yüksek olduğu (~%

57-64) bildirilmiştir. Ek olarak, humerus, femur, tibia ve omurgada ovariyektomiden 4 hafta sonra belirgin kemik kayıpları gözlenmiş ve bu alanların ovariyektomiye daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (279). Li ve ark.'nın yaptığı diğer bir çalışmada ovariyektomize ratlarda, kemik hacmindeki azalmaya trabeküler kalınlığında ve sayısında düşme, trabeküler ayrılmada artış ile kemik mikromiarisinde bozulma eşlik eder (280).

Osteporozun tedavisinde farmakolojik ve farmakolojik olmayan iki farklı yaklaşım vardır. Farmakolojik yaklaşım kemik yapımını artıran, kemik yıkımını inhibe eden, hem kemik yapımını artırıp hem yıkımını önleyen ajanları içerir. Östrojen, izoflovanlar gibi fitoöstrojenler, ipriflavonlar ve tamoksifen gibi sentetik fitoöstrojenler, selektif östrojen reseptör modölatörleri, progestrojen, kalsiyum, D vitamini ve bifosfanat kemik yıkımını önleyen ajanlar arasında sayılabilir (281, 282). Bizim çalışmamızda rat ovariyektomi modelinde bir fitoöstrojen olan genistein kullanılmıştır.

Yapısı östrojene benzeyen, bitkisel kaynaklı kimyasallara fitoöstrojen denilir. Fitoöstrojenlerin bir bölümünü oluşturan fenol grubu içeren bileşiklere flavonoid adı verilir. İzoflavonlar flavonoidlerin alt grubunda yer almaktadır. Bitkilerde yaygın olarak bulunan izoflavonların özellikle soya fasulyesi ve baklagillerde bulunma düzeyi daha yüksektir. Genistein izoflavonoid grubuna ait doğal bir bileşiktir (226, 283). Genistein soya izoflovanoidleri, kemik hücrelerinde osteogenezisi uyardığı bilinen östrojenin molekül yapısına benzemekte ve östrojen gibi davranmaktadır (284). Laboratuvar ortamında doku kültürlerinde deneysel olarak başlatılan kemik rezorpsiyonuna karşı östrojen gibi genistein de önemli bir koruyucu rol oynar ve osteoblast aracılı kemik oluşumunu uyarır, yani anabolik etkiler gösterir (257, 285).

Ovariyektomize sıçanlarla (endojen östrojenlerden yoksun) yapılan hayvan modeli çalışmaları, genisteinin kemik sağlığının korunmasında östrojenler kadar aktif olduğunu kanıtlamıştır (237). Yapılan çalışmalar fitoöstrojenlerin menapoz sonrası kadınlarda kemik mineral yoğunluğunun korunmasında hormon tedavisinden daha etkili olduğunu ortaya koymuştur (228, 286, 287). Yine çalışmalar fitoöstrojenlerin kemikteki östrojen reseptörlerine bağlanıp östrojenik etki göstererek menapozda oluşan kemik yıkımını azalttığını göstermiştir (238, 258, 286, 287). Altı ay boyunca soya izoflavon açısından zenginleştirilmiş diyet alan 66 postmenopozal kadını kapsayan bir klinik çalışmanın sonuçlarına göre lomber omurgada kemik mineral içeriğinde ve yoğunluğunda önemli artış saptanmıştır (288). Bu bilimsel veriler doğrultusunda çalışmamızda osteoporoz varlığında genisteinin kemik implant kaynaşmasına olan etkisini araştırmayı amaçladık.

Şahin ve ark.'nın likopen ve genisteinin meme kanserine baskılayıcı etkisini araştırdıkları çalışmada, 2mg/kg genistein, ratlara oral gavaj yoluyla haftada 3 kez olmak üzere verilmiştir (260). Biz de en az %98 oranında genistein içeren toz halindeki genisteini, serum fizyolojikle karıştırarak 2mg/kg olacak şekilde, ağızdan gavaj ile haftada 3 gün tüm deney süresi boyunca genistein gruplarındaki ratlara uyguladık.

Östrojen eksikliği, hem kemik yapımının hem de kemik yıkımının biyokimyasal belirteçlerinin yüksek seviyeleri ile ilişkilidir. Ratlarda kemik yapımı belirteçleri, alkalen fosfataz (ALP), osteokalsin ve prokollajen tip I amino terminal propeptitleridir (278). İncelenen literatürlere göre dişi ratlarda normal serum ALP düzeyi ~ 38-78 U / L'dir (289, 290). Biz de yaptığımız bu çalışmadaki hiçbir şey uygulamadığımız kontrol grubunda ortalama serum ALP düzeyini 78.88 ± 14.97

olarak bulduk. Litaratürlere göre dişi ratlara yapılan ovariyektomi işleminde 1-6 hafta sonra serumda ALP düzeyi % 30-60 oranında artmaktadır (289, 290). Rachel ve ark.'nın ovariyektomize ratlarda salmon kalsitoninine bağılı hipokalseminin kemik metabolizması üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada ovariyektomi yapıldıktan sonra serum ALP düzeyinde artış tespit etmişlerdir (289). Yaptığımız çalışmada serum ALP düzeyleri ovariyektomi implant grubunda $109 \pm 52,39$ olarak bulunmuş olup, ALP düzeylerindeki artış literatürü desteklemektedir.

Farideh Keikhosravi ve ark.'nın dişi yaşı ratlarda yüksek yoğunlukta aralıklı antrenman ve genisteinin, serum osteokalsin ve ALP düzeylerine etkisini araştırdıkları çalışmada, 40 adet yaşı dişi rat; kontrol, sham, yüksek yoğunlukta aralıklı antrenman, yüksek yoğunlukta aralıklı antrenman ve genistein, genistein olmak üzere 5 ayrı gruba ayrılmıştır. Genistein verilen gruplarda serum ALP düzeyinin önemli ölçüde arttığı bulunmuştur (291). Bizim çalışmamızda implant genistein grubunda ALP düzeyinin diğer gruplardan istatistiksel anlamda daha düşük bulunması bu çalışmayla çelişmektedir. Öte yandan Shanshan ve ark.'nın ratlarda genistein ve silikonun ovariyektomiye bağılı kemik kaybına etkisini araştırdıkları çalışmanın sonucuna göre genistein ve/veya silikonun serum ALP düzeyini düşürdüğü tespit edilmiştir (292). Bizim çalışmamızda implant genistein grubundaki ALP düzeyinin ovariyektomili gruplara göre düşük bulunması bu çalışmayı desteklemektedir.

İskelet sisteminin meydana gelmesini ve güçlü olmasını sağılayan canlılar için gerekli minerallerden biri olan kalsiyum (Ca), tüm vücut ağırlığının % 1,5 - 2,0'sini oluşturmaktadır. Kalsiyumun büyük bir kısmı kemiklerde bulunurken, çok azı dişi, yumuşak doku ve kanda bulunmaktadır. Yumuşak doku ve kanda bulunan

kalsiyum hayati önem taşımaktadır. Vücut kaslarının düzgün çalışması, kanın pıhtılaşması, sinir iletiminin düzgün olması bu küçük miktardaki Ca'a bağlıdır. Bu yüzden kemikteki Ca kullanılarak veya diyetle alınarak, bu kalsiyum düzeyi dengelenmeye çalışılır (293).

Gökçöl ve ark.'nın köpeklerde ovariyektominin serum bakır, çinko, kalsiyum, fosfor konsantrasyonları üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, ilk 10 gün operasyon öncesi ve sonrası arasında fark olmazken, 30. günde serum Ca düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edilmiştir (293). Rachel ve ark.'nın ovariyektomi yapılan ratlarda salmon kalsitoninine bağlı hipokalseminin kemik metabolizması üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada, ovariyektomi yapılan ve yapılmayan ratlar arasında serum kalsiyum (Ca) düzeylerinde farklılık tespit edilmemiştir (289).

Park ve ark.'nın ovariyektomi yapılan dişi ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, östrojen düzeyindeki azalmaya bağlı serum Ca düzeyinde azalma olduğu, böbreklerde bulunan östrojen reseptörlerinin Ca'un yeniden emilmesini artırdığı belirtilmiştir (294). Yang ve ark.'nın ovariyektomi yapılan ratlarda hispidulin, icariin ve genisteinin östrojen ile kemik dokusu üzerine etkisini karşılaştırdıkları çalışmada, ovariyektomi yapılan ratlarda, serum kalsiyum seviyesi anlamlı bir şekilde düşük bulunurken, hispidulin, icariin ve genisteinin verilen tüm grupların serum Ca seviyeleri ovariyektomi yapılan ratlarındakinden yüksek bulunmuştur (295).

İncelenen literatür sonuçlarına göre serum kalsiyum düzeyleri ile ilgili sonuçlar tartışmalıdır (278). Buna rağmen bizim çalışmamızda serum Ca düzeylerinin, ovariyektomi yapılan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde

düşük bulunması Park ve ark.'nın yaptıkları çalışmanın sonucu ile Yang ve ark.'nın yaptıkları çalışmanın sonucunu desteklemektedir

Canlılar için oldukça önemli olan diğer bir mineral de fosfordur. Fosfor kemik ve dişin temel yapısını oluşturmaktadır. Bunun yanında kaslar, kalp düzeni, sinirler, beyin ve böbrek fonksiyonları için gerekli bir mineraldir. Hücrelerde protein sentezlenmesi, enerji üretimi ve enzimlerle ilgili kimyasal olaylara katılarak, hücrelerin büyümesine yardımcı olmaktadır (296).

Ovariyektomize yapılmış ratlarda serum fosfat düzeyi 1. haftadan itibaren artmaya başlar ve 9. haftaya kadar yükselir, 17. haftada ise normal düzeye gelmeye başlar (297). Fakat Gökçöl ve ark.'nın köpekler üzerinde yaptıkları çalışmada ovariyektomi sonrası fosfor düzeylerinde değişiklik tespit edilmemiştir (293). Bizim çalışmamızda 12. haftada serum fosfor düzeyi kontrol grubunda, ovariyektomi implant ve ovariyektomi implant genistein gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Shanshan ve ark.'nın ratlarda genistein ve silikonun ovariyektomiye bağlı kemik kaybına etkisini araştırdıkları çalışmada ovariyektomi işleminden sonra ratlar, ovariyektomi-genistein, ovariyektomi-silikon, ovariyektomi-genistein-silikon ve ovariyektomi olmak üzere rastgele 4 gruba ayrılmıştır. On hafta boyunca genistein ve silikon tedavisi sonucunda ovariyektomi grubunda serum fosfor düzeylerinin arttığı görülmüştür (292). Bizim çalışmamızda ovariyektomi implant grubunun fosfor düzeyleri, ovariyektomi implant genistein ve implant genistein gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunması bu çalışmayı desteklemektedir.

Kandaki aspartat aminotransferans (AST) ve alanin aminotransferans (ALT) düzeyleri karaciğer hasarının güçlü göstergeleridir (298). Huang ve ark. genisteinin, ratlarda kronik alkolün neden olduğu karaciğer hasarı ve fibroz üzerindeki koruyucu

etkisini araştırdıkları çalışmada, genistein ile tedavi edilen deneklerin AST ve ALT enzim aktivitelerinde önemli bir azalma tespit ederken, genisteinin bazal plazma AST ve ALT aktiviteleri üzerinde etkiye sahip olmadığını göstermişlerdir (298).

Çalışmamızda genisteinin karaciğer fonksiyonuna etkisini görmek amacıyla deneklerin kan AST ve ALT düzeyleri incelenmiştir. Gruplar arası AST düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmazken, ALT düzeyleri implant genistein grubunda diğer gruplardan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Bulduğumuz bu sonuç bize genisteinin karaciğer fonksiyonuna olumsuz bir etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Kemik histomorfometrisi, kemiğin mikromimari yapısının sayısal olarak değerlendirilmesi şeklinde tanımlanmaktadır (299). Histomorfometrik analizler implant çalışmalarında, implant etrafında oluşan kemik miktarını, implantla temas eden kemik miktarının sayısal lmn, kemik yoğunluğunu ölçmeyi sağlar (300).

Dekalsifikasyon ardından kesit alma tekniği klasik histolojik yöntemlerde uygulanan tekniktir. Fakat bu tekniğin implant araştırmaları için uygun olmadığı belirtilmektedir. Biyolojik kemiğin implanta olan cevabının değerlendirilmesinde dekalsifiye yapılmadan kesme ve inceltme tekniği, histomorfometrik analizlerde en uygun yöntem olarak öne çıkmıştır (221). Biz de bu yüzden çalışmamızda kesit alma tekniği olarak dekalsifiye yapılmadan kesme ve inceltme yöntemini tercih ettik.

Histolojik kesitlerin ışık mikroskopunda incelenebilmesi için boyama işlemi yapılması gerekmektedir. Toluidin mavisi boyasıyla boyanan kesitlerde açık mavi görülen alanlar demineralize kemiği gösterirken, koyu mavi görülen alanlar; hücreler, kollajen lifleri, osteoidi, mor görülen alanlar ise mast hücrelerini ve

kıkırdak matrisi göstermektedir (221). Yaptığımız çalışmada bu yüzden daha önceki çalışmalara da uygun olarak Toluidin mavisi boyası kullanılmıştır (221, 301)

Kemik implant kaynaşması (KİK) yüzdesinin hesaplanması, implantın başarısını belirleyen çeşitli parametreler arasında yer almaktadır. Bu değerin belirlenmesi, implantın sağkalımı ve başarısında önemli bir yol göstericidir (302). Çalışmamızda KİK yüzdesi, ışık mikroskobu kullanılarak histolojik kesitlerin dijital görüntülerinin üzerinde görüntü analiz programı yardımıyla hesaplanmıştır (303).

Correa ve ark. sigara dumanı inhalasyonuna maruz kalan sıçanlarda farklı yüzey işlemleriyle titanyum implantlar etrafındaki kemiğin histometrik değerlendirmesini KİK'sini ve YDY'sini analiz ederek yapmışlardır. Kemik implant kaynaşması yüzdesi, implant yivleriyle doğrudan temas halinde olan kemiğin uzunluğunun, implant yiv yüzeylerinin toplamına oranının yüz ile çarpılmasıyla elde edilmiş, yiv doluluk yüzdesi ise kemik dolu alanın ölçülmesiyle elde edilmiştir (263). Dündar ve ark.'nın kısıtlama stresinin ve yüksek yağlı diyetin titanyum implantların osseointegrasyonu üzerindeki etkilerini araştırdıkları bir çalışmada her numunenin KİK yüzdesi, kemiğe doğrudan temas eden implant yüzeyinin toplam implant yüzey uzunluğuna oranı olarak hesaplanmış, implant çevresi kemik dolu alanların ölçülerek hesaplanmasıyla da implant çevresi kemik dolumu elde edilmiştir (262).

Duarte ve ark. ovariektomi yapılan ratlara yerleştirilen implant etrafındaki kemik yoğunluğuna östrojen eksikliğinin etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, kemik implant kaynaşması ve implant çevresindeki kemik dolumu değerlerini ovariektomi yapılan grupta daha düşük bulmuştur (304).

Giro ve ark. (210) östrojen eksikliğinin alendronat ve östrojen ile tedavisinin, osseointegre implant etrafındaki kemik yoğunluğuna etkisini araştırdıkları dişi ratlardaki radyografik bir çalışmada, östrojen eksikliğinin trabeküler kemik yoğunluğunu azalttığını rapor etmişlerdir.

Fini ve ark.'nın ovariyektomi yapılan hayvanların süngerimsi ve kortikal kemiklerine yerleştirilen titanyum alaşımlı implantların histomorfometrik ve kemik sertliği ölçümleriyle osseointegrasyonunu araştırdıkları bir çalışmada, ovariyektomi yapılan ratlarda belirgin kemik implant teması olmayan alanlar tespit edilmiştir (305).

Yaptığımız çalışmada KİK düzeyleri incelendiğinde ovariyektomi implant grubunun ve ovariyektomi implant gensitein grubunun KİK düzeylerinin, kontrol implant grubununkinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunması, literatür sonuçlarını destekleyerek ovariyektominin KİK'ı olumsuz etkilediğini ortaya koymuştur (210, 304, 305). Ayrıca ovariyektomi implant genistein grubunun KİK düzeyinin ovariyektomi implant grubununkinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olması genisteinin ovariyektomi yapılan ratlarda KİK'ı olumlu yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir (7, 238, 258).

Bizim çalışmamızda YDY düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış olsa da bire bir karşılaştırma yapıldığında ovariyektomi implant grubunun ortalama YDY düzeyi, ovariyektomi implant genistein grubunun ortalama YDY düzeyinden daha düşük olduğu görülmüştür (304). Bu da çalışmamızın sonuçlarının literatüre uygun olduğunu göstermektedir.

Kemik mineral yoğunluğunun (KMY) ölçümünde; osteoporozda kemik kırığı riski ve osteoporozda tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi için klinik

ortamlarda altın standart yöntem olarak çift enerjili X-ışını absorpsiyometrisi (DEXA) kullanılmaktadır. Yapılan bir derlemede DEXA analizlerinin, deney hayvanları gibi küçük alanların ölçümünde oldukça başarılı bir yöntem olduğu bildirilmiştir (306). Biz de çalışmamızda kemik mineral yoğunluğunu değerlendirmek için DEXA yöntemine başvurduk.

Ovariyektomi yapılmış ratlarla yapılan deneysel çalışmalarda femur ve çene kemik mineral yoğunluklarında anlamlı düzeyde azalma olduğu tespit edilmiştir (307, 308). Biz de çalışmamızda kemik mineral yoğunluğunu değerlendirmek için ratların çene kemiklerini ve femurlarını kullandık.

Jeon Hee ve ark.'nın ovariyektomi yapılmış ratların çenelerinin mikromimarisindeki değişiklikleri yeniden inceledikleri metaanalizde, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ovariyektomi yapılan ratların kemik mineral yoğunluğunda osteoporoz ile uyumlu azalma olduğu tespit edilmiştir (307). Bizim çalışmamızda femur KMY'si açısından anlamlı bir fark bulunmazken, numerik femur KMY değerlerine bakıldığında, ovariyektomi uygulanan grubun değerleri kontrol ve tedavi gruplarından daha düşük çıkmıştır. Çene KMY düzeylerinin ise, kontrol grubunda, ovariyektomi implant grubundan yüksek olması literatürü desteklemektedir.

Fanti ve ark. genistenin ovariyektomi yapılan ratlarda kısa dönemde kemik kaybına etkisini inceledikleri çalışmada, ovariyektomi yapılan grupta KMY'nin diğer tüm gruplardan düşük olduğunu, genistein uygulamasının ovariyektomi yapılan ratlarda kemik kaybını önlediğini göstermişlerdir (309). Biz de çalışmamızda ovariyektomi implant genistein grubunun çene KMY'sini ovariyektomi implant grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulduk. Yine Fanti ve ark.'nın yaptıkları

Çalışmada genisteinin ovariyektomi yapılan ratlarda kemik erimesini önlerken sham ratların KMY'sini etkilemediği gösterilmiştir (309). Yaptığımız çalışmada ovariyektomi implant genistein grubunun ene KMY'sinin, implant genistein grubunun ene KMY'sinden anlamlı düzeyde yüksek bulunması literatürü desteklemektedir. Yine alışmamızda Kontrol grubu ene KMY'sinin İmplant-Genistein grubu ene KMY'sinden anlamlı düzeyde yüksek çıkması, genisteinin sağlıklı kemik dokuya etki etmediğini düşündürmekte bu da literatürü desteklemektedir (309).

Bu çalışmada bulguları değerlendiren bazı limitasyonlarla karşılaşmaktadır. Bu limitasyonlardan ilki bu çalışmada yalnızca genisteinin değerlendirilmiş olmasıdır. İkincisi genisteinin farklı dozajlardaki etkisinin araştırılmamış olmasıdır. Üçüncüsü bu çalışmada titanyum implantların hayatta kalma oranının ya da uzun vadeli kemik implant kaynaşması başarısının değerlendirilmemiş olmasıdır. Dördüncüsü tibia ve femur gibi uzun kemikler, çene kemiklerine (mandibula-maksilla) göre farklı osteojenik özelliklere sahiptir ve bu nedenle genisteine farklı yanıt verebilir.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışma genisteinin ovariyektomi yapılmış ratlarda titanyum diş implantlarının osseointegrasyonuna etkilerini histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendiren ilk çalışmadır.
2. Çalışmamızda İmplant-Genistein grubunun ALP düzeyleri, diğer gruplardan düşük bulunmuştur ($p<0.05$).
3. Kontrol grubunun Ca düzeyleri, Ovariyektomi-İmplant ve Ovariyektomi-İmplant-Genistein gruplarından yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).
4. Kontrol grubu fosfor düzeyleri, Ovariyektomi-İmplant ve Ovariyektomi-İmplant-Genistein gruplarından yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ovariyektomi-İmplant grubunun fosfor düzeyleri, Ovariyektomi-İmplant-Genistein ve İmplant-Genistein gruplarından düşük bulunmuştur ($p<0.05$).
5. Gruplar arasında AST düzeyleri açısından bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). İmplant-Genistein grubunun ALT düzeyleri, Kontrol, Kontrol-İmplant, Ovariyektomi-İmplant ve Ovariyektomi-İmplant-Genistein gruplarından düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Bulduğumuz bu sonuç bize genisteinin karaciğer fonksiyonuna olumsuz bir etkisinin olmadığını düşündürmektedir.
6. Kontrol-İmplant grubunun KİK düzeyleri, Ovariyektomi-İmplant, Ovariyektomi-İmplant-Genistein ve İmplant-Genistein gruplarından yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuç bize ovariyektominin KİK'yi olumsuz etkilediğini göstermektedir. Ovariyektomi-İmplant grubunun KİK düzeyleri, Ovariyektomi-İmplant-Genistein ve İmplant-Genistein gruplarından düşük

bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuç ise bize genisteinin ovariyektomi yapılan ratlarda KİK'yi olumlu yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir.

7. Gruplar arasında YDY düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).
8. Kontrol grubunun çene kemik mineral yoğunluğu (KMY), Ovariyektomi-İmplant ve İmplant-Genistein gruplarından yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ovariyektomi-İmplant-Genistein grubunun çene kemik mineral yoğunluğu (KMY), Ovariyektomi-İmplant ve İmplant-Genistein gruplarından yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuçlar bize ovariyektominin kemik kaybına yol açtığını, genisteinin ise ovariyektomi yapılan ratlarda kemik kaybını önlediğini düşündürmektedir.
9. Gruplar arasında femur KMY'leri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Özet olarak bu çalışmanın sınırları dahilinde; ovariyektominin kemik dokusunu olumsuz etkileyebildiği ve osseointegrasyonu azaltabildiği görülmüştür. Çalışmamızın verileri incelendiğinde genisteinin ovariyektominin kemik üzerindeki olumsuz etkilerini iyileştirebileceği ve osseointegrasyonu arttırabileceği ifade edilebilir. Menapoz sonrası osteoporoz görülen hastalarda genistein tüketiminin iskelet sisteminin tedavisinde katkı sağlayabilmesinin yanında, diş implantı tedavisi gören bu tür hastalarda implant tedavisinin başarısına da katkı sağlayabileceğini ifade edebiliriz. Genistein ve kemik dokusu-osteoporoz ilişkisinin incelendiği daha ileri düzeyde araştırmalara ihtiyaç vardır.

8. KAYNAKLAR

1. Alghamdi HS, Jansen JA. The development and future of dental implants. *Dental Mater J.* 2020; 31;39(2):167-172.
2. Yıldız A. Osteoporozlu Tavşan Modelinde Sistemik Zoledronik Asit Uygulamasının Titanyum Implant Osseoentegrasyonu Üzerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş Ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı, Adana 2018
3. Hanawa T. Titanium-tissue interface reaction and its control with surface treatment. *Frontiers in Bioengineering And Biotechnology.* 2019;7:170.
4. Nastri L, Moretti A, Migliaccio S, Paoletta M, Annunziata M, et al. Do Dietary Supplements and Nutraceuticals Have Effects on Dental Implant Osseointegration? A Scoping Review. *Nutrients.* 2020 20;12(1):268
5. Dikicier E, Karacayli U, Dikicier S, Gunaydin Y. Effect of systemic administered zoledronic acid on osseointegration of a titanium implant in ovariectomized rats. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery: official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery.* 2014;42(7):1106-1111.
6. Yogesh H. Evaluation of antiosteoporosis activity of ethanolic extract of *Punica granatum* Linn. seeds in ovariectomized-induced osteoporosis rats. *International J Green Pharma (IJGP).* 2020;14(1): 141-148.
7. Marini H, Minutoli L, Polito F, Bitto A, Altavilla D, Atteritano M, et al. Effects of the phytoestrogen genistein on bone metabolism in osteopenic postmenopausal women: a randomized trial. *Ann Int Med.* 2007;146(12):839-847.
8. Ishimi Y. A Study of the Effect of Diet and Physical Activity on Bone Metabolism. *Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi.* 2019;72(2):71-77.
9. Güzel KG, Meşe A, Dünder DB. Tür, Form ve Materyal Açısından Günümüz Dental İmplantlarının Tarihçesi. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Ethics-Law and History.* 2006;14(1):41-46.
10. Granat J. Was there implantology 7000 years ago? *L'Information Dentaire.* 1990;72(22):1959-1561.
11. Laird NZ, Malkawi WI, Chakka JL, Acri TM, Elangovan S, Salem AK. A proof of concept gene-activated titanium surface for oral implantology applications. *J Tissue Engineering and Regenerative Med.* 2020;14(4):622-632.
12. Cronin N. *Oral Implantology*, Charles C. Thomas, Springfield, IL. 1970:39-50.
13. Atilla G. A rare find in Anatolia--a tooth implant (mid-sixth century BC). *The J Oral Implantol.* 1993;19(1):54.
14. Seguin G, d'Incau E, Murail P, Maureille B. The earliest dental prosthesis in Celtic Gaul? The case of an Iron Age burial at Le Chêne, France. *Antiquity.* 2014;88(340):488.
15. Derome J. A bit of history and dental implantology today. *La Promotion Dentaire.* 1973(20):12-18.

16. Peterson L, Ellis III E, Hupp JR, Tucker MR: Contemporary Oral and Maxillofacial surgery. Saint Louis, CV Mosby. 1988:382-423.
17. Albrektsson T, Wennerberg A. The impact of oral implants-past and future, 1966-2042. J Can Dent Assoc 2005;71(5):327.
18. Branemark PI, Ekholm R, Lundskog J, Hirsch C. 7 Tissue Response to Chymopapain in Different Concentrations: Animal Investigations on Microvascular Effects. Clin Orthop Related Res (1976-2007). 1969;67:52-67.
19. Nakajima H, Okabe T. Titanium in dentistry. Dental Mater J. 1996;15(2):77-90.
20. Abt E, Carr AB, Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: partially absent dentition. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2012; 2. CD003814.
21. Weber H-P, Sukotjo C. Does the type of implant prosthesis affect outcomes in the partially edentulous patient? Int J Oral & Maxillofacial Implants. 2007;22(7):140-172.
22. Hobkirk JA, Watson RM, Searson LJ. Introducing dental implants: Elsevier Health Sciences; 2003.
23. Gotfredsen K, Karlsson U. A prospective 5-year study of fixed partial prostheses supported by implants with machined and TiO₂-blasted surface. J Prosthodont 2001;10(1):2-7.
24. Liu X, Chen S, Tsoi JK, Matinlinna JP. Binary titanium alloys as dental implant materials-a review. Regenerative Biomaterials. 2017;4(5):315-323.
25. Misch CE, Perel ML, Wang H-L, Sammartino G, Galindo-Moreno P, Trisi P, et al. Implant success, survival, and failure: the International Congress of Oral Implantologists (ICOI) pisa consensus conference. Implant Dentistry 2008;17(1):5-15.
26. Guillem-Marti J, Delgado L, Godoy-Gallardo M, Pegueroles M, Herrero M, Gil F. Fibroblast adhesion and activation onto micro-machined titanium surfaces. Clin Oral Implan Res. 2013;24(7):770-780.
27. Zafar MS, Fareed MA, Riaz S, Latif M, Habib SR, Khurshid Z. Customized therapeutic surface coatings for dental implants. Coatings. 2020;10(6):568.
28. El-Anwar MI, El-Zawahry MM, Ibraheem EM, Nassani MZ, ElGabry H. New dental implant selection criterion based on implant design. Eur J Dentist. 2017;11(2):186.
29. Steigenga J, Al-Shammari K, Misch C, Nociti Jr FH, Wang HL. Effects of implant thread geometry on percentage of osseointegration and resistance to reverse torque in the tibia of rabbits. J Periodontol. 2004;75(9):1233-1241.
30. Callan DP. Dental implant design and oral and systemic health. Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, NJ: 1995). 2007;28(9):482-484.
31. Pecora GE, Ceccarelli R, Bonelli M, Alexander H, Ricci JL. Clinical evaluation of laser microtexturing for soft tissue and bone attachment to dental implants. Implant Dent. 2009;18(1):57-66.

32. Albrektsson T, Wennerberg A. Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *Int J Prosthodont*. 2004;17(5): 536-543.
33. Şener BC, Göktay Ö, Arslan A, Yoruç B. Dental İmplantlarda Yüzey Kaplamaları. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 7(2):139-146.
34. Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dental Mater*. 2007;23(7):844-854.
35. Mendonça G, Mendonça DB, Aragao FJ, Cooper LF. Advancing dental implant surface technology--from micron-to nanotopography. *Biomater*. 2008;29(28):3822-3835.
36. Kalemaj Z, Scarano A, Valbonetti L, Rapone B, Grassi FR. Bone Response to Four Dental Implants with Different Surface Topographies: A Histologic and Histometric Study in Minipigs. *Int J Periodon & Rest Dent*. 2016;36(5): :745-754.
37. Anil S, Anand P, Alghamdi H, Jansen J. Dental implant surface enhancement and osseointegration. *Implant dentistry-a Rapidly Evolving Practice*. 2011;8(29): 83-108.
38. Pier-Francesco A, Adams RJ, Waters MG, Williams DW. Titanium surface modification and its effect on the adherence of *Porphyromonas gingivalis*: an in vitro study. *Clin Oral Implan Res*. 2006;17(6):633-637.
39. Wennerberg A, Albrektsson T. On implant surfaces: a review of current knowledge and opinions. *Int Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2010;25(1):63-74
40. Coelho PG, Granjeiro JM, Romanos GE, Suzuki M, Silva NR, Cardaropoli G, et al. Basic research methods and current trends of dental implant surfaces. *J Biomed Mater Res* 2009;88(2):579-596.
41. Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B. Bone tissue response to commercially pure titanium implants blasted with fine and coarse particles of aluminum oxide. *Int J Oral & Maxillofacial Implan*. 1996;11(1); 1256-1259.
42. Sekar, V. Sengottaiyan V, Ganapathy, D. (2019). Implant considerations and surface modifications - A literature review. *Drug Invention Today*. 11. 259-263.
43. Lamolle SF, Monjo M, Rubert M, Haugen HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE. The effect of hydrofluoric acid treatment of titanium surface on nanostructural and chemical changes and the growth of MC3T3-E1 cells. *Biomater*. 2009;30(5):736-42.
44. Ellingsen J. Pre-treatment of titanium implants with fluoride improves their retention in bone. *Journal of Materials Science: Mater Med*. 1995;6(12):749-753.
45. Li Y, Zou S, Wang D, Feng G, Bao C, Hu J. The effect of hydrofluoric acid treatment on titanium implant osseointegration in ovariectomized rats. *Biomater*. 2010;31(12):3266-3273.
46. Park JY, Davies JE. Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. *Clin Oral Implan Res*. 2000;11(6):530-539.
47. Cochran DL, Schenk R, Lussi A, Higginbottom F, Buser D. Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: A histometric study in the canine mandible. *J Biomed Mater Res*. 1998;40(1):1-11.

48. Trisi P, Lazzara R, Rebaudi A, Rao W, Testori T, Porter SS. Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *J Periodontol.* 2003;74(7):945-956.
49. Buser D, Broggini N, Wieland M, Schenk R, Denzer A, Cochran DL, et al. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J Dental Res.* 2004;83(7):529-533.
50. Buser D, Nydegger T, Oxland T, Cochran DL, Schenk RK, Hirt HP, et al. Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: A biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res.* 1999;45(2):75-83.
51. Galli C, Guizzardi S, Passeri G, Martini D, Tinti A, Mauro G, et al. Comparison of human mandibular osteoblasts grown on two commercially available titanium implant surfaces. *J Periodontol.* 2005;76(3):364-372.
52. Cochran DL, Nummikoski P, Higginbottom F, Hermann J, Makins S, Buser D. Evaluation of an endosseous titanium implant with a sandblasted and acid-etched surface in the canine mandible: radiographic results. *Clin Oral Implan Res.* 1996;7(3):240-252.
53. Bornstein MM, Lussi A, Schmid B, Belser UC, Buser D. Early loading of nonsubmerged titanium implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: 3-year results of a prospective study in partially edentulous patients. *Int J Oral & Maxillofacial Implan.* 2003;18(5):144-148.
54. Olivares-Navarrete R, Hyzy SL, Boyan BD, Schwartz Z. Regulation of osteoblast differentiation by acid-etched and/or grit-blasted titanium substrate topography is enhanced by 1, 25 (OH) 2D3 in a sex-dependent manner. *BioMed Res Int.* 2015;2015.
55. Abdel-Haq J, Karabuda CZ, Arisan V, Mutlu Z, Kürkçü M. Osseointegration and stability of a modified sand-blasted acid-etched implant: an experimental pilot study in sheep. *Clin Oral Implan Res.* 2011;22(3):265-274.
56. Van Velzen FJ, Ofec R, Schulten EA, Ten Bruggenkate CM. 10-year survival rate and the incidence of peri-implant disease of 374 titanium dental implants with a SLA surface: a prospective cohort study in 177 fully and partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(10):1121-1128.
57. Uzun G, Keyf F. Implantların Yüzey Özellikleri Ve Osseointegrasyon. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg.* 2007;2:43-50.
58. Schwarz F, Wieland M, Schwartz Z, Zhao G, Rupp F, Geis-Gerstorfer J, et al. Potential of chemically modified hydrophilic surface characteristics to support tissue integration of titanium dental implants. *J Biomed Mater Res.* 2009;88(2):544-557.
59. Favero V, Lang NP, Rossi F, Favero R, Baffone D, Botticelli D. Peri-implant tissues morphometry at SLA ctive surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implant Res.* 2016;27(8):993-998.
60. Khan MR, Mordan N, Parkar M, Salih V, Donos N, Brett PM. Atypical Mesenchymal Stromal Cell Responses to Topographic Modifications of Titanium Biomaterials Indicate Cytoskeletal-and Genetic Plasticity-Based Heterogeneity of Cells. *Stem Cells Int.* 2019;2019.

61. Bornstein MM, Wittneben JG, Brägger U, Buser D. Early loading at 21 days of non-submerged titanium implants with a chemically modified sandblasted and acid-etched surface: 3-year results of a prospective study in the posterior mandible. *J Periodontol*. 2010;81(6):809-818.
62. Goyal N, Kaur R. Effect Of Various Implant Surface Treatments On Osseointegration-A Literature Review. *Indian J Dental Sci*. 2012;4(1).
63. Ou K-L, Hsu H-J, Yang T-S, Lin Y-H, Chen C-S, Peng P-W. Osseointegration of titanium implants with SLAffinity treatment: a histological and biomechanical study in miniature pigs. *Clin Oral invest*. 2016;20(7):1515-1524.
64. Bitar R, Cools P, De Geyter N, Morent R. Acrylic acid plasma polymerization for biomedical use. *App Surface Sci*. 2018;448:168-185.
65. Meng H-W, Chien EY, Chien H-H. Dental implant bioactive surface modifications and their effects on osseointegration: a review. *Biomarker Res*. 2016;4(1):1-14.
66. Yoo I-S, Yim S-B, Chung C-H, Hong K-S. A compare research of machined implant and RBM surface implant. *J Periodont Implant Sci*. 2008;38(3):467-474.
67. Park EY, Sohn HO, Kim E-K. Comparison of the removal torque and a histomorphometric evaluation of the RBM treated implants with the RBM followed by laser treated implants: an experimental study in rabbits. *Yeungnam Univ J Med*. 2019;36(1):43.
68. Jun MH, Kim M-J, Sim Y-S, Kook M-S. Comparative study for osseointegration according to surface treatments of dental implants. *Oral Biol Res (OBR)*. 2020;44(2):77-82.
69. Khalil MF, Sanad ME, Ahmed GA, Elboraey AN. Effect of Two Types of Surface Treatment of Dental Implants Retaining Mandibular Complete Overdenture on Bone Density Changes. *Al-Azhar Dental J Girls*. 2020;7(1):23-29.
70. Su Y, Cockerill I, Zheng Y, Tang L, Qin Y-X, Zhu D. Biofunctionalization of metallic implants by calcium phosphate coatings. *Bioactive Mater*. 2019;4:196-206.
71. Chai YC, Roberts SJ, Desmet E, Kerckhofs G, van Gastel N, Geris L, et al. Mechanisms of ectopic bone formation by human osteoprogenitor cells on CaP biomaterial carriers. *Biomater*. 2012;33(11):3127-3142.
72. Costa DO, Prowse PD, Chrones T, Sims SM, Hamilton DW, Rizkalla AS, et al. The differential regulation of osteoblast and osteoclast activity by surface topography of hydroxyapatite coatings. *Biomater*. 2013;34(30):7215-7226.
73. Chung C-J, Long H-Y. Systematic strontium substitution in hydroxyapatite coatings on titanium via micro-arc treatment and their osteoblast/osteoclast responses. *Acta Biomater*. 2011;7(11):4081-4087.
74. Surmenev RA, Surmeneva MA, Ivanova AA. Significance of calcium phosphate coatings for the enhancement of new bone osteogenesis—a review. *Acta Biomater*. 2014;10(2):557-579.
75. Steliino G, Landi L. A 6-year unloaded hydroxyapatite-coated dental implant placed into an extraction socket in conjunction with nonresorbable hydroxyapatite grafting material: Histologic evaluation. *Int J Periodont Rest Dent*. 2002;22(6):575-582.

76. Baltriukienė D, Sabaliauskas V, Balciunas E, Melninkaitis A, Liutkevicius E, Bukelskienė V, et al. The effect of laser-treated titanium surface on human gingival fibroblast behavior. *J Biomed Mater Res*. 2014;102(3):713-720.
77. Baxter L, Frauchiger V, Textor M, Ap Gwynn I, Richards R. Fibroblast and osteoblast adhesion and morphology on calcium phosphate surfaces. *Eur Cell Mater*. 2002;4(1):1-17.
78. Heinrich A, Dengler K, Koerner T, Haczek C, Deppe H, Stritzker B. Laser-modified titanium implants for improved cell adhesion. *Lasers Med Sci* 2008;23(1):55-58.
79. Taichman RS. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood*. 2005;105(7):2631-2639.
80. Feng X. Chemical and biochemical basis of cell-bone matrix interaction in health and disease. *Curr Chem Biol*. 2009;3(2):189-196.
81. Bellido T, Plotkin LI, Bruzzaniti A. Bone cells. *Basic and applied bone biology*: Elsevier, 2019:37-55.
82. Capulli M, Paone R, Rucci N. Osteoblast and osteocyte: games without frontiers. *Arch Biochem Biophys*. 2014;561:3-12.
83. Pi C, Li Y-P, Zhou X, Gao B. The expression and function of microRNAs in bone homeostasis. *Differentiation*. 2015;16:17.
84. Hu L, Yin C, Zhao F, Ali A, Ma J, Qian A. Mesenchymal stem cells: cell fate decision to osteoblast or adipocyte and application in osteoporosis treatment. *Int J Mol Sci*. 2018;19(2):360.
85. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell*. 1997;89:747-754.
86. Seyman İZ. Plateletten zengin fibrin (PRF)'nin hızlı üst çene genişletmesi (RME) sonrası kemik yapım miktarına etkisi: Uzmanlık Tezi Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ortodonti Anabilim Dalı; 2018.
87. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003;423(6937):337-342.
88. Boyce BF, Hughes DE, Wright KR, Xing L, Dai A. Recent advances in bone biology provide insight into the pathogenesis of bone diseases. *Laboratory investigation. J Tech Method Pathol*. 1999;79(2):83-94.
89. Crockett J, Mellis D, Scott D, Helfrich M. New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: focus on the RANK/RANKL axis. *Osteoporosis Int*. 2011;22(1):1-20.
90. Lee NK. Molecular understanding of osteoclast differentiation and physiology. *Endocrinol Metabol*. 2010;25(4):264-269.
91. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Gen*. 2003;4(8):638.
92. Sodek J, Mckee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol2000*. 2000;24(1):99-126.
93. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*. 2008;473(2):139-146.

94. Wang J, Hao X, Kundrát M, Liu Z, Uesugi K, Jurašková Z, et al. Bone tissue histology of the Early Cretaceous bird *Yanornis*: evidence for a diphyletic origin of modern avian growth strategies within Ornithuromorpha. *Historical Biol.* 2019;1-13.
95. Sano H, Kondo N, Shimakura T, Fujisawa J, Kijima Y, Kanai T, et al. Evidence for Ongoing Modeling-Based Bone Formation in Human Femoral Head Trabeculae via Forming Minimodeling Structures: A Study in Patients with Fractures and Arthritis. *Frontiers in Endocrinol.* 2018;9:88.
96. Crockett JC, Rogers MJ, Coxon FP, Hocking LJ, Helfrich MH. Bone remodelling at a glance. *J Cell Sci.* 2011;124(7):991-998.
97. Onigata K. Thyroid hormone and skeletal metabolism. *Clin Calcium.* 2014;24(6):821-827.
98. Schoenau E. From mechanostat theory to development of the "Functional Muscle-Bone-Unit". *J Musculoskeletal Neur Interact.* 2005;5(3):232.
99. Frost HM. Bone's mechanostat: a 2003 update. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology. An Official Publication of the American Association of Anatomists.* 2003;275(2):1081-101.
100. Kenkre J, Bassett J. The bone remodelling cycle. *Ann Clin Biochem.* 2018;55(3):308-327.
101. Katsimbri P. The biology of normal bone remodelling. *Eur J Cancer Care.* 2017;26(6):e12740.
102. Geraldles DM, Modenese L, Phillips AT. Consideration of multiple load cases is critical in modelling orthotropic bone adaptation in the femur. *Biomechanics Model Mechanobiol.* 2016;15(5):1029-1042.
103. Burger EH, Klein-Nulend J. Mechanotransduction in bone—role of the lacunocanalicular network. *FASEB J.* 1999;13(9001):101-112.
104. Agerbaek M, Eriksen E, Kragstrup J, Mosekilde L, Melsen F. A reconstruction of the remodelling cycle in normal human cortical iliac bone. *Bone and Miner.* 1991;12(2):101-112.
105. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem.* 2010;285(33):25103-2518.
106. Marahleh A, Kitaura H, Otori F, Kishikawa A, Ogawa S, Shen W-R, et al. TNF- α Directly Enhances Osteocyte RANKL Expression and Promotes Osteoclast Formation. *Frontiers Immunol.* 2019;10:2925.
107. Sagalovsky S. Bone remodeling: cellular-molecular biology and cytokine rank-rankosteoprotegerin (opg) system and growth factors. 2013;3: 1-2.
108. Troen BR. The role of cathepsin K in normal bone resorption. *Drug news & Perspectives.* 2004;17(1):19.
109. Kini U, Nandeesh B. Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism. *Radionuclide and hybrid bone imaging: Springer,* 2012:29-57.
110. Zaiss MM, Kurowska-Stolarska M, Böhm C, Gary R, Scholtyssek C, Stolarski B, et al. IL-33 shifts the balance from osteoclast to alternatively activated macrophage

- differentiation and protects from TNF- α -mediated bone loss. *J Immunol.* 2011;186(11):6097-6105.
111. Delaisse JM, Andersen TL, Engsig MT, Henriksen K, Troen T, Blavier L. Matrix metalloproteinases (MMP) and cathepsin K contribute differently to osteoclastic activities. *Microscopy Res Techniq.* 2003;61(6):504-513.
 112. Xing L, Boyce BF. Regulation of apoptosis in osteoclasts and osteoblastic cells. *Biochem Biophysical Res Comm.* 2005;328(3):709-720.
 113. Everts V, Delaisse J, Korper W, Jansen D, Tigchelaar-Gutter W, Saftig P, et al. The bone lining cell: its role in cleaning Howship's lacunae and initiating bone formation. *J Bone Miner Res.* 2002;17(1):77-90.
 114. Lamora A, Talbot J, Mullard M, Royer B-L, Redini F, Verrecchia F. TGF- β signaling in bone remodeling and osteosarcoma progression. *J Clin Med.* 2016;5(11):96.
 115. Pederson L, Ruan M, Westendorf JJ, Khosla S, Oursler MJ. Regulation of bone formation by osteoclasts involves Wnt/BMP signaling and the chemokine sphingosine-1-phosphate. *Proceed Nat Acad Sci.* 2008;105(52):20764-2079.
 116. Delaisse J-M. The reversal phase of the bone-remodeling cycle: cellular prerequisites for coupling resorption and formation. *Bonekey Repor.* 2014;3.
 117. Golub EE. Role of matrix vesicles in biomineralization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects.* 2009;1790(12):1592-1598.
 118. Kogawa M, Wijenayaka AR, Ormsby RT, Thomas GP, Anderson PH, Bonewald LF, et al. Sclerostin regulates release of bone mineral by osteocytes by induction of carbonic anhydrase 2. *J Bone Min Res.* 2013;28(12):2436-2448.
 119. Cui L, Houston D, Farquharson C, MacRae V. Characterisation of matrix vesicles in skeletal and soft tissue mineralisation. *Bone.* 2016;87:147-158.
 120. Lind M, Deleuran B, Thestrup-Pedersen K, Balle K, Eriksen EF, B nger C. Chemotaxis of human osteoblasts: Effects Osteotropic Growth factors. *Apmis.* 1995;103(1-6):140-146.
 121. Franz-Odenaal TA, Hall BK, Witten PE. Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Developmental dynamics.* Am Assoc Anatom. 2006;235(1):176-190.
 122. Berger C, Goltzman D, Langsetmo L, Joseph L, Jackson S, Kreiger N, et al. Peak bone mass from longitudinal data: implications for the prevalence, pathophysiology, and diagnosis of osteoporosis. *J Bone and Miner Res.* 2010;25(9):1948-1957.
 123. Hasano lu A, Emino lu FT. Doruk Kemik Kütlesi ve Etkileyen Faktörler. *Türkiye Klinikleri Pediatrik Bilimler- zel Konular.* 2008;4(5):21-25.
 124. T z n  . D., Kemik Kütlesi, Osteoporoz Ve Kemik Kalitesi. *Lilly.* 2003;69:82.
 125. Gordon CM, Zemel BS, Wren TA, Leonard MB, Bachrach LK, Rauch F, et al. The determinants of peak bone mass. *J Pediat.* 2017;180:261-269.
 126. Weaver C, Gordon C, Janz K, Kalkwarf H, Lappe JM, Lewis R, et al. The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations. *Osteopor Int.* 2016;27(4):1281-386.

127. Tamaki J, Iki M, Kadowaki E, Sato Y, Chiba Y, Akiba T, et al. Biochemical markers for bone turnover predict risk of vertebral fractures in postmenopausal women over 10 years: the Japanese Population-based Osteoporosis (JPOS) Cohort Study. *Osteoporos Int.* 2013;24(3):887-897.
128. Ebeling PR, Akesson K. Role of biochemical markers in the management of osteoporosis. *Best Practice & Res Clin Rheumatol.* 2001;15(3):385-400.
129. Szulc P, Delmas P. Biochemical markers of bone turnover: potential use in the investigation and management of postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2008;19(12):1683-704.
130. Delmas P, Eastell R, Garnero P, Seibel M, Stepan J, Foundation Cosantio. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporosis Inter.* 2000;11(6): 2-4.
131. Yap CY, Aw TC. Bone turnover markers. *Proceedings of Singapore Healthcare.* 2010;19(3):273-275.
132. Çeler Ö. Postmenopozal osteoporozlu hastalarda teriparatid tedavisinin endotel fonksiyonları üzerine etkisi. *Endokrinoloji Bilim Dalı Tıpta Yan Dal Uzmanlık Tezi, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Eskişehir, 2013.*
133. Nanke Y, Kotake S, Akama H, Kamatani N. Alkaline phosphatase in rheumatoid arthritis patients: possible contribution of bone-type ALP to the raised activities of ALP in rheumatoid arthritis patients. *Clin Rheumatol.* 2002;21(3):198-202.
134. Demir H. Osteoporoz Tanı ve Tedavisinde Biyokimyasal Markerler. *Türkiye Klinikleri Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon-Özel Konular.* 2012;5(3):29-33.
135. Papaioannou A, Morin S, Cheung AM, Atkinson S, Brown JP, Feldman S, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada: summary. *CMAJ.* 2010;182(17):1864-1873.
136. Malaval L, Aubin JE, Vico L. Role of the small integrin-binding ligand N-linked glycoprotein (SIBLING), bone sialoprotein (BSP) in bone development and remodeling. *Osteoporos Int.* 2009;20(6):1077-1080.
137. Dempster D, Baylink D, Bikle D. Biochemical markers in the diagnosis and treatment of osteoporosis. *Am J Managed Care.* 1996;2:10-15.
138. Looker A, Bauer D, Chesnut Iii C, Gundberg C, Hochberg M, Klee G, et al. Clinical use of biochemical markers of bone remodeling: current status and future directions. *OsteoporosInt.* 2000;11(6):467-480.
139. Cumming S. Clinical use of bone densitometry. *JAMA.* 2002;16:1889-1897.
140. Jakob C, Zavrski I, Heider U, Brux B, Eucker J, Langelotz C, et al. Bone resorption parameters [carboxy-terminal telopeptide of type-I collagen (ICTP), amino-terminal collagen type-I telopeptide (NTx), and deoxypyridinoline (Dpd)] in MGUS and multiple myeloma. *Eur J Haematol.* 2002;69(1):37-42.
141. Iki M, Morita A, Ikeda Y, Sato Y, Akiba T, Matsumoto T, et al. Biochemical markers of bone turnover may predict progression to osteoporosis in osteopenic women: the JPOS Cohort Study. *J Bone Miner Metabol.* 2007;25(2):122-129.
142. Vrahnas C, Sims NA. Basic Aspects of Osteoblast Function. *Osteoporosis: Springer;* 2020:1-16.

143. Bradley EW, Westendorf JJ, Van Wijnen AJ, Dudakovic A. Osteoblasts: function, development, and regulation. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*; John Wiley & Sons, Inc: Hoboken, NJ, USA. 2018:31-37.
144. Shnayder M, Shirinsky V, Kalinovskaya N, Shirinsky I. Effect of DNA methylation modulators on the production of osteoprotegerin by rheumatoid fibroblast-like synoviocytes in vitro: their migration and invasion. *Bull Siberian Med.* 2019;18(3):116-124.
145. Udagawa N, Takahashi N, Yasuda H, Mizuno A, Itoh K, Ueno Y, et al. Osteoprotegerin produced by osteoblasts is an important regulator in osteoclast development and function. *Endocrinol.* 2000;141(9):3478-3484.
146. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes & Develop.* 1998;12(9):1260-1268.
147. Simonet W, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 1997;89:309-319.
148. Mizuno A, Amizuka N, Irie K, Murakami A, Fujise N, Kanno T, et al. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophysical Res Commun.* 1998;247(3):610-615.
149. Khosla S. Minireview: The opg/rankl/rank system. *Endocrinol.* 2001;142(12):5050-5055.
150. Lacey D, Timms E, Tan H-L, Kelley M, Dunstan C, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 1998;93(2):165-176.
151. Li J, Sarosi I, Yan X-Q, Morony S, Capparelli C, Tan H-L, et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc National Acad Sci.* 2000;97(4):1566-1571.
152. Nguyen TV, Center JR, Sambrook PN, Eisman JA. Risk factors for proximal humerus, forearm, and wrist fractures in elderly men and women the dubbo osteoporosis epidemiology study. *Am J Epidemiol.* 2001;153(6):587-595.
153. Esposito M, Hirsch J-M, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants.(II). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci.* 1998;106(3):721.
154. Molly L. Bone density and primary stability in implant therapy. *Clin Oral Implan Res.* 2006;17(S2):124-135.
155. Resnik C, Engelmeier R, Kunkel T, Shah N, Kukunas S. Comparison of Primary Stability of Tapered and Parallel Walled Implants in Poor Quality Bone: An in vitro study: University of Pittsburgh, Department of Prosthodontics, Thesis of Master of Dental Sciences 2020.
156. Misch CE. *Dental Implant Prosthetics*. St. Louis. Mosby Inc. 2005;211:223.
157. Li J, Jansen JA, Walboomers XF, van den Beucken JJ. Mechanical aspects of dental implants and osseointegration: A narrative review. *J Mechanic Behavior Biomed Materials.* 2020;103:103574.

158. Alghamdi HS. Methods to improve osseointegration of dental implants in low quality (type-IV) bone: an overview. *J Function Biomater.* 2018;9(1):7.
159. George Broughton I, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plastic Reconstructive Surg.* 2006;117(7):12-34.
160. Friedman A. Wound healing: from basic science to clinical practice and beyond. *J Drugs Dermatol, JDD.* 2011;10(4):427-433.
161. Alshahrani NS, Abu-Nada L, Garcia-Luna JLR, Al-Hamed FS, Alamri A, Makhoul NM, et al. Ranitidine Impairs Bone Healing and Implant Osseointegration in Rats' Tibiae. *J Oral Maxillofacial Surg.* 2020.
162. Jacob SA, Nandini V, Nayar S, Gopalakrishnan A. Occlusal principles and considerations for the osseointegrated prosthesis. *J Dental Med Sci.* 2013;3(5):47-54.
163. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants,(II). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci.* 1998;106(3):721-764.
164. Kanis J, Glüer C-C. An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. *Osteoporos Inter.* 2000;11(3):192-202.
165. Taştaban E. Osteoporoz patogenezinde antioksidan enzimler ve RANKL. Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı; 2008.
166. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster J-Y. Review of the guideline of the American College of Physicians on the treatment of osteoporosis. *Osteoporosis Inter.* 2018;29(7):1505-1510.
167. Compston J. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis (WHO Technical Report Series No 843). *Annals of the Rheum Dis.* 1995;54(7):548.
168. Murat S, Kabayel DD. Sekonder Osteoporoz. *Türkiye Klinikleri Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon-Özel Konular.* 2019;12(1):26-34.
169. Robertshaw P, Beers MH, Porter RS, Jones TV, Kaplan JL, Berkwits M. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. *J Aust Tradit-Med Soc.* 2007;13(1):47-48.
170. O'Neill TW, Roy DK. The epidemiology and scale of the problem. *Hosp Med.* 2003;64(9):517-520.
171. Siminoski K, Leslie WD, Frame H, Hodsman A, Josse RG, Khan A, et al. Recommendations for bone mineral density reporting in Canada: a shift to absolute fracture risk assessment. *J Clin Densit.* 2007;10(2):120-123.
172. Qaseem A, Forciea M, McLean R, Denberg T. Treatment of Low Bone Density or Osteoporosis to Prevent Fracture. *Amer Coll Physicians Independence Mall West 6th And Race St, Philadelphia,* 2017.
173. Becker C. Pathophysiology and clinical manifestations of osteoporosis. *Clin Corner.* 2006;8(1):19-27.
174. Lentle B, Worsley D. Osteoporosis redux. *J Nuclear Med.* 2006;47(12):1945-1959.

175. Shih MS. Bone adaptation in osteoporosis. *Curr Osteopor Repor.* 2012;10(3):187-189.
176. Ercan O. Bone health in adolescence/Ergenlik caginda kemik sagligi. *Turkish Pediatrics Archive.* 2011: 54-60.
177. Pfeilschifter J, Köditz R, Pfohl M, Schatz H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endoc Rev.* 2002;23(1):90-119.
178. Cheung J, Mak Y, Papaioannou S, Evans B, Fogelman I, Hampson G. Interleukin-6 (IL-6), IL-1, receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin production by human osteoblastic cells: comparison of the effects of 17-beta oestradiol and raloxifene. *J Endocrinol.* 2003;177(3):423-433.
179. Lories R, Luyten F. Osteoprotegerin and osteoprotegerin-ligand balance: a new paradigm in bone metabolism providing new therapeutic targets. *Clin Rheumatol.* 2001;20(1):3-9.
180. Kasagi S, Chen W. TGF-beta1 on osteoimmunology and the bone component cells. *Cell & Bioscience.* 2013;3(1):4-8.
181. Yano K, Tsuda E, Washida N, Kobayashi F, Goto M, Harada A, et al. Immunological characterization of circulating osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1999;14(4):518-527.
182. Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G. Serum osteoprotegerin and its relationship with bone mineral density and markers of bone turnover. *Osteoporosis Int.* 2005;16(4):417-423.
183. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S-i, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Nat Acad Sci.* 1998;95(7):3597-602.
184. Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, Boyle WJ, Lacey DL, Riggs BL. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Inves.* 2003;111(8):1221-1230.
185. Hofbauer LC, Schoppet M, Schüller P, Viereck V, Christ M. Effects of oral contraceptives on circulating osteoprotegerin and soluble RANK ligand serum levels in healthy young women. *Clin Endocrinol .* 2004;60(2):214-219.
186. Şentürk S. Biyokimyasal kemik yapım ve yıkım belirteçleri osteoporozun erken tanısında kullanılabilir mi? (Yüksek Lisans Tezi). Maltepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul.2008.
187. Reid RL, Blake J, Abramson B, Khan A, Senikas V, Fortier M. Menopause and osteoporosis update 2009. *J Obstetric Gynaecol Canada.* 2009;31(1):1-3.
188. Sela EI, Pulungan R. Osteoporosis identification based on the validated trabecular area on digital dental radiographic images. *Proc Comp Sci.* 2019;157:282-289.
189. Kirazli Y. Osteoporoz Tanısında Görüntüleme Yöntemleri. *Türkiye Klinikleri Ortopedi Travmatoloji-Özel Konular.* 2008;1(3):41-450.
190. Akpolat VA. Osteoporoz tanısında kullanılan kemik mineral yoğunluğu ölçüm yöntemleri. *Dicle Tıp Dergisi.* 2008;35(3):216-220.

191. Lu Y, Genant HK, Shepherd J, Zhao S, Mathur A, Fuerst TP, et al. Classification of osteoporosis based on bone mineral densities. *J Bone Miner Res.* 2001;16(5):901-910.
192. Ioannidis G, Papaioannou A, Hopman WM, Akhtar-Danesh N, Anastassiades T, Pickard L, et al. Relation between fractures and mortality: results from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *Cmaj.* 2009;181(5):265-71.
193. Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustat B, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res.* 2000;15(8):1526-1536.
194. Schwab P, Klein RF. Nonpharmacological approaches to improve bone health and reduce osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20(2):213-217.
195. Tabatabaei-Malazy O, Salari P, Khashayar P, Larijani B. New horizons in treatment of osteoporosis. *DARU J Pharmaceut Sci.* 2017;25(1):2.
196. Moreno AC, Sahni SK, Smith TL, Batur P. Women's health 2019: Osteoporosis, breast cancer, contraception, and hormone therapy. *Cleveland Clin J Med.* 2019;86(6):400-406.
197. Quintanilla Rodriguez BS, Correa R. Raloxifene. *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
198. Castelo-Branco C, Cancelo Hidalgo M, Palacios S, Ciria-Recasens M, Fernández-Pareja A, Carbonell-Abella C, et al. Efficacy and safety of ossein-hydroxyapatite complex versus calcium carbonate to prevent bone loss. *Climacteric.* 2020;23(3):252-258.
199. Delmas PD. The use of bisphosphonates in the treatment of osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2005;17(4):462-466.
200. Nakamura K. Vitamin D insufficiency in Japanese populations: from the viewpoint of the prevention of osteoporosis. *J Bone Miner Metabol.* 2006;24(1):1-6.
201. Boonen S, Body J-J, Boutsen Y, Devogelaer J-P, Goemaere S, Kaufman J-M, et al. Evidence-based guidelines for the treatment of postmenopausal osteoporosis: a consensus document of the Belgian Bone Club. *Osteoporosis Inter.* 2005;16(3):239-54.
202. Anastasilakis AD, Toulis K, Goulis D, Polyzos S, Delaroudis S, Giomisi A, et al. Efficacy and safety of denosumab in postmenopausal women with osteopenia or osteoporosis: a systematic review and a meta-analysis. *Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE): Quality-assessed Reviews: Centre Rev Dissemin (UK);* 2009.
203. McLaughlin MB, Jialal I. Calcitonin. *StatPearls: Stat Pearls Publishing,* 2019.
204. Lavaill M, Trichilo S, Scheiner S, Forwood MR, Cooper DM, Pivonka P. Study of the combined effects of PTH treatment and mechanical loading in postmenopausal osteoporosis using a new mechanistic PK-PD model. *Biomech Model Mechanobiology.* 2020:1-16.
205. Hagenauer D, Welch V, Shea B, Tugwell P, Adachi J, Wells G. Fluoride for the treatment of postmenopausal osteoporotic fractures: a meta-analysis. *Osteoporosis International.* 2000;11(9):727-38.

206. Rizzoli R. A new treatment for post-menopausal osteoporosis: strontium ranelate. *J Endocrinol Invest* 2005;28: 50-57.
207. Rubin J, Ackert-Bicknell C, Zhu L, Fan X, Murphy T, Nanes M, et al. IGF-I regulates osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor- κ B ligand in vitro and OPG in vivo. *J Clin Endocrinol & Metab.* 2002;87(9):4273-4279.
208. Mellado-Valero A, Ferrer-García JC, Calvo-Catalá J, Labaig-Rueda C. Implant treatment in patients with osteoporosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;15(1):52-57.
209. Duarte, P. M., Cesar Neto, J. B., Goncalves, P. F., Sallum, E. A. & Nociti, F. H. Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants: a histometric study in rats. *Implants Dentistry* 2003; 12: 340–346.
210. Giro G, Gonçalves D, Sakakura CE, Pereira RMR, Júnior EM, Orrico SRP. Influence of estrogen deficiency and its treatment with alendronate and estrogen on bone density around osseointegrated implants: radiographic study in female rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 2008;105(2):162-167.
211. Dario LJ, Cucchiaro PJ, Deluzio AJ. Electronic monitoring of dental implant osseointegration. *The Journal of the American Dental Association.* 2002;133(4):483-490.
212. Ribeiro RA, Barbosa JDS, Amaral JMB, Franco CR, Cortes ARG, Costa C. Correlation between index panoramic radiomorfometric and primary stability of implants. *RGO-Revista Gaúcha de Odontologia.* 2018;66(3):219-224.
213. França FL, Honorio-França AC, Honorio MS, Silva FHD, Fujimori M, França EL, et al. Dental implant surfaces treated with phosphoric acid can modulate cytokine production by blood MN cells. *Brazilian Oral Research.* 2019;33.
214. Lee SY, Kim SJ, An HW, Kim HS, Ha DG, Ryo KH, et al. The effect of the thread depth on the mechanical properties of the dental implant. *J Advan Prosthodont.* 2015;7(2):115-121.
215. Turkyilmaz I, Tözüm T, Tumer C, Ozbek E. Assessment of correlation between computerized tomography values of the bone, and maximum torque and resonance frequency values at dental implant placement. *J Oral Rehabil.* 2006;33(12):881-888.
216. Sherif AS, Abdalla MF, Abdelnaby N, Nassouhy NM. A General Correlation of Primary Implant Stability between the Non-Invasive Methods Osstell and Periotest. *Ind J Public Health Res & Develop.* 2020;11(7):1056-1062.
217. Aparicio C, Lang NP, Rangert B. Validity and clinical significance of biomechanical testing of implant/bone interface. *Clin Oral Impl Res.* 2006;17(S2):2-7.
218. Mistry G, Shetty O, Shetty S, Singh RD. Measuring implant stability: A review of different methods. *J Dental Impl.* 2014;4(2):165.
219. Jividen G, Misch CE. Reverse torque testing and early loading failures: help or hindrance? *J Oral Implantol.* 2000;26(2):82-90.
220. Ghasemi-Mobarakeh L, Kolahreez D, Ramakrishna S, Williams D. Key terminology in biomaterials and biocompatibility. *Curr Opin Biomed Engineer.* 2019;10:45-50.

221. Grizon F, Aguado E, Huré G, Baslé M, Chappard D. Enhanced bone integration of implants with increased surface roughness: a long term study in the sheep. *J Dentis.* 2002;30(5-6):195-203.
222. Van der Lubbe H, Klein C, De Groot K. A simple method for preparing thin (10 µm) histological sections of undecalcified plastic embedded bone with implants. *Stain Technol.* 1988;63(3):171-176.
223. Vitale DC, Piazza C, Melilli B, Drago F, Salomone S. Isoflavones: estrogenic activity, biological effect and bioavailability. *Eur J Drug Metabol Pharmacokinetics.* 2013;38(1):15-25.
224. Benassayag C, Perrot-Appianat M, Ferre F. Phytoestrogens as modulators of steroid action in target cells. *J Chromatog B.* 2002;777(1-2):233-248.
225. Batool S, Iqbal R. 87. Effect of isoflavone (SOY) on histopathology of reproductive organs of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Pure and Applied Biology (PAB).* 2020;9(1):925-935.
226. Setchell KD, Cassidy A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *J Nutrit.* 1999;129(3):758-767.
227. Adlercreutz H, Mazur W. Phyto-oestrogens and Western diseases. *Ann Med.* 1997;29(2):95-120.
228. Patisaul HB, Jefferson W. The pros and cons of phytoestrogens. *Frontiers in Neuroendocrinol.* 2010;31(4):400-19.
229. Pilsakova L, Riečanský I, Jagla F. The physiological actions of isoflavone phytoestrogens. *Physiolog Res.* 2010;59(5):651.
230. Aguiar P, de Paula Barbosa A. Use of soy isoflavones on hormone replacement therapy during climacteric. *African J Pharma Pharmacol.* 2014;8(42):1071-1078.
231. Martin C, Zhang Y, Tonelli C, Petroni K. Plants, diet, and health. *Ann Rev Plant Biol.* 2013;64:19-46.
232. Polkowski K, Mazurek AP. Biological properties of genistein. A review of in vitro and in vivo data. *Acta Poloniae Pliarmaceutica—Drug Research.* 2000;57(2):135-155.
233. Damodaran S, Arora A. Off-flavor precursors in soy protein isolate and novel strategies for their removal. *Ann Rev Food Sci Technol.* 2013;4:327-346.
234. Oseni T, Patel R, Pyle J, Jordan VC. Selective estrogen receptor modulators and phytoestrogens. *Planta Med.* 2008;74(13):1656-1665.
235. Dang Z, Van Bezooijen R, Karperien M, Papapoulos S, Löwik C. Exposure of KS483 cells to estrogen enhances osteogenesis and inhibits adipogenesis. *J Bone Miner Res.* 2002;17(3):394-405.
236. Dang Z-C, Audinot V, Papapoulos SE, Boutin JA, Löwik CW. Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) as a molecular target for the soy phytoestrogen genistein. *J Biol Chem.* 2003;278(2):962-967.
237. Anderson J, Ambrose W, Garner S. Biphasic effects of genistein on bone tissue in the ovariectomized, lactating rat model. *Proceedings of the Society for Experimental Biol Med.* 1998;217(3):345-350.

238. Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, Onoe Y, Sato T, Uchiyama Y, et al. Selective effects of genistein, a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. *Endocrinol.* 1999;140(4):1893-900.
239. Verheus M, van Gils CH, Keinan-Boker L, Grace PB, Bingham SA, Peeters PH. Plasma phytoestrogens and subsequent breast cancer risk. *J Clin Oncol.* 2007;25(6):648-55.
240. Klinge CM, Risinger KE, Watts MB, Beck V, Eder R, Jungbauer A. Estrogenic activity in white and red wine extracts. *J Agricultural Food Chem.* 2003;51(7):1850-7.
241. Li Y, Che M, Bhagat S, Ellis K-L, Kucuk O, Doerge DR, et al. Regulation of gene expression and inhibition of experimental prostate cancer bone metastasis by dietary genistein. *Neoplasia (New York, NY).* 2004;6(4):354.
242. Perabo F, Von Löw E, Ellinger J, Von Rücker A, Müller S, Bastian P. Soy isoflavone genistein in prevention and treatment of prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Diseases.* 2008;11(1):6-12.
243. Khani B, Mehrabian F, Khalesi E, Eshraghi A. Effect of soy phytoestrogen on metabolic and hormonal disturbance of women with polycystic ovary syndrome. *Journal of research in medical sciences. J Isfahan Univ Med Sci.* 2011;16(3):297.
244. Rajaei S, Alihemmati A, Abedelahi A. Antioxidant effect of genistein on ovarian tissue morphology, oxidant and antioxidant activity in rats with induced polycystic ovary syndrome. *Int J Reproductive BioMed.* 2019;17(1).
245. Jungbauer A, Medjakovic S. Phytoestrogens and the metabolic syndrome. *The J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;139:277-289.
246. Cassidy A, Bingham S, Setchell K. Biological effects of a diet of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 1994;60(3):333-340.
247. Anthony MS, Clarkson TB, Hughes Jr CL, Morgan TM, Burke GL. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. *J Nutr.* 1996;126(1):43-50.
248. Wood CE, Appt SE, Clarkson TB, Franke AA, Lees CJ, Doerge DR, et al. Effects of high-dose soy isoflavones and equol on reproductive tissues in female cynomolgus monkeys. *Biol Reprod.* 2006;75(3):477-486.
249. Norris DO, Lopez KH. *Hormones and reproduction of vertebrates: Academic Press;* 2010.
250. Zeriouh IF, Addou S, Bouferkas Y, Kheroua O, Saidi D. Effect of the consumption of milk of soya on the male fertility of swiss mice. *Int J Pharma Pharmaceutical Sci.* 2014;6(4): 669-676
251. Helmy A, Emarah H, Abdelrazek H. Estrogenic effect of soy phytoestrogens on the uterus of ovariectomized female rats. *Clin Pharma & Biopharma S.* 2014;2:7.
252. Zin SRM, Omar SZ, Khan NLA, Musameh NI, Das S, Kassim NM. Effects of the phytoestrogen genistein on the development of the reproductive system of Sprague Dawley rats. *Clinics.* 2013;68(2):253-262.

253. Batool S, Iqbal R. Effect of isoflavone (SOY) on histopathology of reproductive organs of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Pure and Applied Biology*. 2020; 9(1): 925-935.
254. Mittal N, Hota D, Dutta P, Bhansali A, Suri V, Aggarwal N, et al. Evaluation of effect of isoflavone on thyroid economy & autoimmunity in oophorectomised women: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Indian J Med Research*. 2011;133(6):633.
255. Yellayi S, Naaz A, Szewczykowski MA, Sato T, Woods JA, Chang J, et al. The phytoestrogen genistein induces thymic and immune changes: a human health concern? *Proceed Nation Acad Sci*. 2002;99(11):7616-7621.
256. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2002;288(3):321-333.
257. Yamaguchi M, Gao YH. Inhibitory effect of genistein on bone resorption in tissue culture. *Biochem Pharmacol*. 1998;55(1):71-76.
258. Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Stacewicz-Sapuntzakis M, Guo P, et al. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutrit*. 1996;126(1):161-167.
259. Society NAM. Treatment of menopause-associated vasomotor symptoms: position statement of the North American Menopause Society. *Menopause (New York, NY)*. 2004;11(1):11.
260. Sahin K, Tuzcu M, Sahin N, Akdemir F, Ozercan I, Bayraktar S, et al. Inhibitory effects of combination of lycopene and genistein on 7, 12-dimethyl benz (a) anthracene-induced breast cancer in rats. *Nutrit Cancer*. 2011;63(8):1279-1286.
261. Khajuria DK, Razdan R, Mahapatra DR. Description of a new method of ovariectomy in female rats. *Rev Bras Reumatol*. 2012;52(3):462-470.
262. Dundar S, Bozoglan A, Bulmus O, Tekin S, Yildirim TT, Kirtay M, et al. Effects of restraint stress and high-fat diet on osseointegration of titanium implants: an experimental study. *Brazilian Oral Res*. 2020;34.
263. Correa MG, Gomes Campos ML, César-Neto JB, Casati MZ, Nociti FH, Sallum EA. Histometric evaluation of bone around titanium implants with different surface treatments in rats exposed to cigarette smoke inhalation. *Clin Oral Implan Res*. 2009;20(6):588-593.
264. Groen J, Duyvensz F, Halsted J. Diffuse alveolar atrophy of the jaw (non-inflammatory form of paradental disease) and pre-senile osteoporosis *Gerontol Clin (Basel)* 1960; 2: 68-86. Manson JD, Lucas RB A microradiographic study of age changes in the human mandible *Arch Oral Biol*. 1962;7:761-769.
265. Hildebolt C. Osteoporosis and oral bone loss. *Dentomaxillofacial Radiol*. 1997;26(1):3-15.
266. Consensus N. Development panel on osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy, March 7-29 2000: highlights of the conference. *South Med J*. 2001;94(6):569-573.

267. Perilli E, Le V, Ma B, Salmon P, Reynolds K, Fazzalari N. Detecting early bone changes using in vivo micro-CT in ovariectomized, zoledronic acid-treated, and sham-operated rats. *Osteoporosis Inter.* 2010;21(8):1371-1382.
268. Chen B, Li Y, Yang X, Xu H, Xie D. Zoledronic acid enhances bone-implant osseointegration more than alendronate and strontium ranelate in ovariectomized rats. *Osteoporosis Inter.* 2013;24(7):2115-2121.
269. Laib A, Kumer J, Majumdar S, Lane NE. The temporal changes of trabecular architecture in ovariectomized rats assessed by MicroCT. *Osteoporosis Inter.* 2001;12(11):936-941.
270. Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Rev Endoc Metabol Dis.* 2010;11(4):219-227.
271. Gasser JA, Willnecker J. Bone Measurements by Peripheral Quantitative Computed Tomography in Rodents. *Bone Research Protocols: Springer*, 2019. p. 533-58.
272. Langdahl B, Ferrari S, Dempster DW. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. *Therapeutic advances in Musculoskeletal Disease.* 2016;8(6):225-235.
273. Turner AS. Animal models of osteoporosis—necessity and limitations. *Eur Cell Mater.* 2001;1(66-81):13.
274. Li L-H, Wang Z-C, Yu J, Zhang Y-Q. Ovariectomy results in variable changes in nociception, mood and depression in adult female rats. *PloS one.* 2014;9(4).
275. Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA. The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comparative Med.* 2008;58(5):424-430.
276. Bazzigaluppi P, Adams C, Koletar MM, Dorr A, Pikula A, Carlen PL, et al. Oophorectomy reduces estradiol levels and long-term spontaneous neurovascular recovery in a female rat model of focal ischemic stroke. *Frontiers in Mol Neurosci.* 2018;11:338.
277. Thompson D, Simmons H, Pirie C, Ke H. FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone.* 1995;17(4): 125-133.
278. Yousefzadeh N, Kashfi K, Jeddi S, Ghasemi A. Ovariectomized rat model of osteoporosis: a practical guide. *EXCLI J.* 2020;19:89.
279. Liu XL, Li CL, Lu WW, Cai WX, Zheng LW. Skeletal site-specific response to ovariectomy in a rat model: change in bone density and microarchitecture. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(4):392-398.
280. Li M, Shen Y, Wronski T. Time course of femoral neck osteopenia in ovariectomized rats. *Bone.* 1997;20(1):55-61.
281. Pleiner-Duxneuner J, Zwettler E, Paschalis E, Roschger P, Nell-Duxneuner V, Klaushofer K. Treatment of osteoporosis with parathyroid hormone and teriparatide. *Calcified Tissue International.* 2009;84(3):159-170.
282. Gao Y, Zou S, Liu X, Bao C, Hu J. The effect of surface immobilized bisphosphonates on the fixation of hydroxyapatite-coated titanium implants in ovariectomized rats. *Biomaterials.* 2009;30(9):1790-1796.

283. Collins BM, McLachlan JA, Arnold SF. The estrogenic and antiestrogenic activities of phytochemicals with the human estrogen receptor expressed in yeast. *Steroids*. 1997;62(4):365-372.
284. Fujioka M, Uehara M, Wu J, Adlercreutz H, Suzuki K, Kanazawa K, et al. Equol, a metabolite of daidzein, inhibits bone loss in ovariectomized mice. *J Nutrit*. 2004;134(10):2623-2627.
285. Yamaguchi M, Gao Y. Anabolic effect of genistein on bone metabolism in the femoral-metaphyseal tissues of elderly rats is inhibited by the anti-estrogen tamoxifen. *Res Exper Med*. 1997;197(2):101-107.
286. Büyüktuncer Z., Fitoöstrojenlerin menopoz üzerine etkileri. IV. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi Bildiriler Kitabı 2000; 67: 171.
287. Alekel DL, Germain AS, Peterson CT, Hanson KB, Stewart JW, Toda T. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutrit*. 2000;72(3):844-852.
288. Choi M-J, Jung J-W. Effects of soybean protein on bone mineral density and bone mineral content in ovariectomized rats. *J Nutrit Health*. 2005;38(4):279-288.
289. Davey RA, Morris HA. The effects of salmon calcitonin-induced hypocalcemia on bone metabolism in ovariectomized rats. *J Bone Miner Metabol*. 2005;23(5):359-365.
290. Dick I, John AS, Heal S, Prince R. The effect of estrogen deficiency on bone mineral density, renal calcium and phosphorus handling and calcitropic hormones in the rat. *Calcified Tissue Inter*. 1996;59(3):174-178.
291. Keikhosravi, F., Daryanoosh, F., Koushkie Jahromi, M., Nemati, J. (2021). The high-intensity interval training effects with genistein on serum osteocalcin and bone alkaline phosphatase in female elderly rats. *Journal of Nutrition, Fasting and Health*, 9(2),
292. Qi S, Zheng H. Combined effects of phytoestrogen genistein and silicon on ovariectomy-induced bone loss in rat. *Biolog Trace Element Res*. 2017;177(2):281-287.
293. Gökçöl B. Köpeklerde ovariohysterektominin serum bakır, çinko, kalsiyum, fosfor konsantrasyonları üzerine etkisi: Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya (Veterinerlik) Anabilim Dalı; 2009.
294. Park J-H, Omi N, Nosaka T, Kitajima A, Ezawa I. Estrogen deficiency and low-calcium diet increased bone loss and urinary calcium excretion but did not alter arterial stiffness in young female rats. *J Bone Miner Metabol*. 2008;26(3):218.
295. Yang L, Yu Z, Qu H, Li M. Comparative effects of hispidulin, genistein, and icariin with estrogen on bone tissue in ovariectomized rats. *Cell Biochem Biophysics*. 2014;70(1):485-490.
296. Ynsa M, Ager F, Alves L, Zubeldia M, Millán J, Pinheiro T. Elemental distributions in femoral bone of rat under osteoporosis preventive treatments. *J Microscopy*. 2006;224(3):298-305.
297. Li F, Yang X, Yang Y, Guo C, Zhang C, Yang Z, et al. Antiosteoporotic activity of echinacoside in ovariectomized rats. *Phytomed*. 2013;20(6):549-557.

298. Huang Q, Huang R, Zhang S, Lin J, Wei L, He M, et al. Protective effect of genistein isolated from *Hydrocotyle sibthorpioides* on hepatic injury and fibrosis induced by chronic alcohol in rats. *Toxicol Letters*. 2013;217(2):102-110.
299. Qiu S, Divine G, Warner E, Rao SD. Reference Intervals for Bone Histomorphometric Measurements Based on Data from Healthy Premenopausal Women. *Calcified Tissue Inter*. 2020;107(6):543-550.
300. De Maeztu M, Bracerás I, Alava J, Gay-Escoda C. Improvement of osseointegration of titanium dental implant surfaces modified with CO ions: a comparative histomorphometric study in beagle dogs. *Int J Oral and Maxillofacial Surgery*. 2008;37(5):441-447.
301. Vidal B, Pinto A, Galvão M, Santos A, Rodrigues A, Cascão R, et al. Bone histomorphometry revisited. *Acta Reumatologica Portuguesa*. 2012:294-300.
302. Arisan V, Özdemir T, Anil A, Jansen JA, Özer K. Injectable calcium phosphate cement as a bone-graft material around peri-implant dehiscence defects: a dog study. *Int J Oral & Maxillofacial Implants*. 2008; 23(6): 126-133.
303. Dundar S, Bozoglan A. Evaluation of the effects of topically applied simvastatin on titanium implant osseointegration. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2020;10(2):149-152.
304. Duarte PM, Neto JBC, Gonçalves PF, Sallum EA, Nociti Jr FH. Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants: a histometric study in rats. *Implant Dentis*. 2003;12(4):340-346.
305. Fini M, Giavaresi G, Rimondini L, Giardino R. Titanium alloy osseointegration in cancellous and cortical bone of ovariectomized animals: histomorphometric and bone hardness measurements. *Int J Oral & Maxillofacial Implants*. 2002;17(1)., 111-116.
306. Osterhoff G, Morgan E, Shefelbine S, Karim L, McNamara L, Augat P. Bone mechanical properties and changes with osteoporosis. *Injury* 2016; 47: 11–20.
307. Lee J-H, Han S-S, Lee C, Kim YH, Battulga B. Microarchitectural changes in the mandibles of ovariectomized rats: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health*. 2019;19(1):128.
308. Pytlik M, Janiec W, Misiarz-Myrta Mg, Gubala I. Effects of simvastatin on the development of osteopenia caused by ovariectomy in rats. *Polish J Pharmacol*. 2003;55(1):63-72.
309. Fanti P, Monier-Faugere M, Geng Z, Schmidt J, Morris P, Cohen D, et al. The phytoestrogen genistein reduces bone loss in short-term ovariectomized rats. *Osteoporosis International* 1998;8(3):274-281.

9. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Kararı



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar No	Protokol No	Proje Yürütücüsü
04.04.2018	2018/06	82	2018/43	Dr. Öğr. Üyesi Serkan DÜNDAR

“Ovariyektomi uygulanmış ratlarda genisteinin titanyum implantların osseointegrasyon düzeyine etkisinin incelenmesi” başlıklı çalışmanız başlıklı araştırma projenizde **40 Adet Sprague-Dawley Rat** kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı tarafınızdan beyan edilmiştir. Bu çerçevede aşağıda ismi bulunan araştırmacılara ait bu çalışmanın “Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi” yönünden uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

1. Dr. Öğr. Üyesi Serkan DÜNDAR
2. Arş. Gör. Dt. Cansu Büşra UZUN
3. Dr. Öğr. Üyesi. Alihan BOZOĞLAN
4. Dr. Öğr. Üyesi. Tuba TALO YILDIRIM
5. Prof. Dr. Kazım ŞAHİN
6. Doç. Dr. Cemal ORHAN

Başkan	Prof. Dr. Mustafa İSSİ	
Başkan V.	Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE	
Üye	Prof. Dr. Sinan CANPOLAT	
Üye	Doç. Dr. Asiye BAŞUSTA	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Serkan DÜNDAR	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜL BAYKALIR	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT	
Üye	Vet. Hek. Özgür BULMUŞ	
Üye	Onur UYGUR	
Üye	Murat DAĞHAN	

10. ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Çankaya’da doğdum. İlköğrenimimi, Muratpaşa İlköğretim Okulu ve Namık Kemal İlköğretim Okulu’nda 2006 yılında bitirdim. Orta öğrenimimi Adem Tolunay Anadolu Lisesi’nde 2010 yılında tamamladım. 2010’da başladığım Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’ndeki eğitimimi 2015 yılında mezun olarak tamamladım. 2016’da Diş Hekimliğinde Uzmanlık Sınavı sonucunda kazandığım Fırat Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı’nda uzmanlık eğitimime devam etmekteyim.