

**T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL KEMİK DEFİKTLERİNDE LOKAL OLARAK UYGULANAN
ALENDRONATIN İYİLEŞME ÜZERİNE ETKİLERİNİN HİSTOMORFOMETRİK
VE RADYOLOJİK YÖNTEMLER İLE İNCELENMESİ**

Dr. Taha ÖZER

Cerrahi Programı

DOKTORA TEZİ

ANKARA

2017

**T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL KEMİK DEFİKTLERİNDE LOKAL OLARAK UYGULANAN
ALENDRONATIN İYİLEŞME ÜZERİNE ETKİLERİNİN HİSTOMORFOMETRİK
VE RADYOLOJİK YÖNTEMLER İLE İNCELENMESİ**

Dr. Taha ÖZER

Cerrahi Programı

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Alper AKTAŞ

ANKARA

2017

**DENEYSEL KEMİK DEFEKTLERİNDE LOKAL OLARAK UYGULANAN ALENDRONATIN
İYİLEŞME ÜZERİNE ETKİLERİNİN HİSTOMORFOMETRİK VE RADYOLOJİK
YÖNTEMLER İLE İNCELENMESİ**

Taha ÖZER

Bu çalışma 14/02/2017 tarihinde jürimiz tarafından “ Cerrahi
Programı” nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof.Dr.Osman Taha KÖSEOĞLU
Hacettepe Üniversitesi



Tez Danışmanı:

Doç.Dr.Alper AKTAŞ
Hacettepe Üniversitesi



Üye:

Prof.Dr.Murat AKKOCAOĞLU
Hacettepe Üniversitesi



Üye:

Prof.Dr.İhsan Levent ARAL
Gazi Üniversitesi



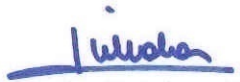
Üye:

Prof.Dr.Mustafa ÖZTÜRK
Gazi Üniversitesi



ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Diclehan Orhan
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini

Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

☐ Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)

☒ Tezimin/Raporumun 01/07/2018 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)

☐ Tezimin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

☐ Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi

14 /02/2017

Taha ÖZER

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Doç. Dr. Alper AKTAş danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

**Taha ÖZER**

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresinde ve tezimin gerçekleştirilmesinde çok büyük emeği olan ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen tez danışman hocam *Sayın Doç. Dr. Alper AKTAŞ'a* ,

Akademik eğitimimde bilgi ve tecrübeleriyle yetişme ve gelişmeme çok önemli katkıları olan başta Dekanımız *Sayın Prof. Dr. Osman Taha KÖSEOĞLU* ve tüm hocalarıma; özellikle *Sayın Prof. Dr. Murat AKKOCAOĞLU'na* ,

Tez çalışmalarına katkıları ve desteklerinden dolayı Hacettepe Üniversitesi Transgenik Hayvan Teknolojileri UAM veteriner hekimi *Sayın Doç. Dr. İlyas ONBAŞILAR'a* ,

Örneklerin histolojik analizlerindeki emeklerinden dolayı *Sayın Doç. Dr. Emre BARIŞ'a* ve radyolojik analizlerindeki katkılarından dolayı *Sayın Dr. Alper VATANSEVER'e* ,

Deneyisel çalışmalardaki yardımları için *Sayın Prof. Dr. Hakan H. TÜZ'e* , *Dt. Onur KOÇ* ve *Dt. S. Eren MERAL'e*

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalışma fırsatı bulduğum tüm asistan, hemşire ve personel arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca her türlü fedakârlığı göstererek beni destekleyen sevgili aileme,

TEŞEKKÜR EDERİM.

ÖZET

Taha, Ö. Deneysel Kemik Defektlerinde Lokal Olarak Uygulanan Alendronatın İyileşme Üzerine Etkilerinin Histomorfometrik ve Radyolojik Yöntemler ile İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara 2017. Diş hekimliği cerrahisinde kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu ve yetersiz kemik miktarının artırılması için çeşitli yöntemler mevcuttur. Travma, enfeksiyon, tümör, fraktür gibi kemik defektlerine neden olan durumlarda otojen greftlerin kullanımı ise; bazı dezavantajları olmasına rağmen hala kemik augmentasyon yöntemleri arasında altın standart olarak kabul edilmektedir. Bifosfonatlar; osteoklastik aktivitenin arttığı menapoz sonrası dönemde osteoporoz, Paget hastalığı, özellikle meme ve prostat kanserlerinde görülen kemik metastazı gibi durumlarda tedavi amaçlı kullanılan ve en sık tercih edilen antirezorptif ajanlardır. Osteopenik bireylerde kemik rezorpsiyonunu azaltarak dansitesini artıran yeni nesil bifosfonatlardan alendronat, antikatabolik özelliğinden dolayı osteoklastik aktiviteyi inhibe ederek kemik formasyonunu artırmaktadır. Aynı zamanda osteoblastların proliferasyonu ve maturasyonunu da güçlendirerek anabolik etkiye de sahiptir. Bu çalışmada intramembranöz kemikleşme modeli ile kemikleşen çene kemiklerinden elde edilen otojen greftlerin başarısını artırmak amaçlı lokal alendronat kullanımının etkinliğinin tavşan defekt modeli üzerinde histomorfometrik ve radyolojik olarak incelenmesi amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bisfosfonat, alendronat, otojen greft, kemik iyileşmesi, tavşan defekt modeli

ABSTRACT

Taha, Ö. Histomorphometric and Radiologic Evaluation of Local Alendronate Administration on Experimental Bone Defect Healing. Hacettepe University Institute of Health Science, Ph.D. Thesis in Oral Surgery, Ankara 2017. In dental surgery, various methods for reconstruction of bone defects and improving the insufficient amount of bone are available. Bone defects that cause trauma, infection, tumors, fractures and such cases, the use of autogenous grafts is gold standart for bone augmentation method; although there are still some disadvantages. Bisphosphonates are the most often preferred antiresorptive agents and used for treatment in postmenopausal osteoporosis, Paget's disease, bone metastases and such increased osteoclastic activity cases. Alendronate, the new generation bisphosphonate, reduces bone resorption in osteopenic individuals, increases the density, and increases bone formation due to anticatabolic feature. At the same time, it has also anabolic effects while strengthening the maturation and proliferation of osteoblasts. In this study, we aimed to histomorphometric and radiological examination of effectiveness of local alendronate therapy for increase the success of autogenous grafts on rabbit defect model.

Keywords: bisphosphonate, alendronate, autogenous graft, bone healing, rabbit defect model

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xvii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Dokusu	3
2.2. Kemik Yapısı	3
2.2.1. Kemiğin Makroskopik Yapısı	4
2.2.2. Kemiğin Mikroskopik Yapısı	6
2.2.3. Kemiğin Moleküler Yapısı	8
2.3. Kemik Hücreleri	12
2.3.1. Osteoblastlar	12
2.3.2. Osteoklastlar	14
2.3.3. Osteositler	16
2.3.4. Osteoprogenitör Hücreler	17
2.4. Kemik Oluşumu (Osteogenezis)	18
2.4.1. İntramembranöz Kemikleşme	18
2.4.2. Endokondral Kemikleşme	19
2.5. Kalsifikasyon Mekanizması	20
2.6. Kemik Büyümesi ve Şekillenmesi	20
2.7. Kemiğin Hücresel İşlevlerinde Etkili Lokal ve Sistemik Düzenleyiciler	21
2.7.1. Lokal Düzenleyiciler	21
2.7.2. Sistemik Düzenleyiciler	23

2.8. Kemik Greftleri	24
2.8.1. Otojen Greftler	24
2.8.2. Allogreftler	26
2.8.3. Ksenogreftler	28
2.8.4. Alloplastlar	29
2.9. Kemik Greftlerinin İyileşme Mekanizması	32
2.9.1. Serbest Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi	34
2.9.2. Vasküler Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi	35
2.9.3. Allogreftlerin ve Alloplastların İyileşmesi	35
2.10. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunda Kullanılan Bariyerler	36
2.10.1. Rezorbe Olmayan Rejeneratif Bariyerler	36
2.10.2. Rezorbe Olan Rejeneratif Bariyerler	37
2.11. Bisfosfonatlar	38
2.11.1. Bisfosfonatların Kimyasal Yapısı	39
2.11.2. Bisfosfonatların Etki Mekanizması	40
2.11.3. Bisfosfonatların Farmakodinamik Özellikleri	44
2.11.4. Bisfosfonatların Farmakokinetik Özellikleri	44
2.11.5. Bisfosfonatların Kullanım Alanları	44
2.11.6. Bisfosfonatların Toksik Etkileri	46
2.11.7. Bisfosfonatların Yan Etkileri	47
2.11.8. Alendronat Sodyum	47
2.11.9. Bisfosfonatlara Bağlı Olarak Çenelerde Gelişen Osteonekroz (BRONJ)	50
3.GEREÇ VE YÖNTEM	53
3.1. Lokal Alendronatın Hazırlanması	55
3.2. Cerrahi Yöntem	55
3.3. Deney Hayvanlarının Bakımı	63
3.4. Doku Takibi ve Değerlendirilmesi	63
3.5. Radyolojik Analiz	63
3.6. Histopatolojik ve Histomorfometrik Analiz	65
3.7. İstatistiksel Analiz	68

4. BULGULAR	69
4.1. Histopatolojik Bulgular	69
4.1.1. Dördüncü Hafta 1. Grup	69
4.1.2. Dördüncü Hafta 2. Grup	71
4.1.3. Dördüncü Hafta 3. Grup	73
4.1.4. Dördüncü Hafta 4. Grup	75
4.1.5. Sekizinci Hafta 1. Grup	77
4.1.6. Sekizinci Hafta 2. Grup	79
4.1.7. Sekizinci Hafta 3. Grup	81
4.1.8. Sekizinci Hafta 4. Grup	83
4.2. Histomorfometrik Bulgular	85
4.3. Radyolojik Bulgular	90
4.4. İstatistiksel Bulgular	94
5. TARTIŞMA	99
6. KAYNAKLAR	110
7.ÖZGEÇMİŞ	120
8. EKLER	122
EK-1	122

SİMGELER VE KISALTMALAR

BMP	Kemik morfogenetik proteini (Bone morphogenetic protein)
BRONJ	Bifosfonata bağlı çene kemiklerinin osteonekrozu
CSF	Koloni stimule edici faktör (Colony stimulating factor)
CTX	C-Terminal telopeptit
DBM	Demineralize kemik matriksi (Demineralized bone matrix)
DFDB	Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik (Demineralized freeze-dried bone)
EGF	Epidermal büyüme faktörü (Epidermal growth factor)
ePTFE	Genişletilmiş politetrafloroetilen
FB	Dondurulmuş kemik (Frozen bone)
FDA	Amerika gıda ve ilaç dairesi (Food and drug administration)
FDB	Dondurulmuş kurutulmuş kemik (Freeze-dried bone)
FGF	Fibroblast büyüme faktörü (Fibroblast growth factor)
FPP	Farnesildifosfat
GGPP	Geranilgeranildifosfat
HA	Hidroksiapatit
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü (Insulin-like growth factor)
IL	İnterlökin
M-CSF	Makrofaj koloni oluşturu faktör (Macrophage colony stimulating factor)
MMP	Matriks metalloproteinaz
OPG	Osteoprotegerin
PDGF	Trombosit kökenli büyüme faktörü (Platelet-derived growth factor)

PGA	Poliglikolik asit
PHEMA	Polihidroksietil metakrilat
PLA	Polilaktik asit
PMMA	Polimetil metakrilat
PTFE	Politetrafloroetilen
PTH	Paratiroid hormon
PTHrP	Paratiroid hormonla ilişkili protein (Parathyroid hormone related protein)
RANK	Reseptör aktivator nükleer faktör kappa B
RANKL	Reseptör aktivator nükleer faktör kappa B ligand
ROI	Region of Interest
TCP	Trikalsiyum Fosfat (Tricalcium Phosphate)
TGF	Tümör büyüme faktörü (Transforming growth factor)
TNFR	Tümör nekroz faktör reseptör(Tumor necrosis factor receptor)

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2. 1. Kemiğin Yapısı[22]	6
2. 2. Pirofosfat ile analogu bisfosfonat arasındaki moleküler farklılık[101]	39
2. 3. Bisfosfonatların mevalonat yolağı üzerine etkisi[116]	43
2. 4. Alendronat Sodyumun kimyasal yapısı[138]	48
2. 5. Bisfosfonatların R1-R2 zincirleri, potensleri ve osteonekroz oluşturma riskleri[101]	50
3. 1. Alendronat Sodyum Trihidrat (Cayman Chemical, ABD)	53
3. 2. Kollajen membran (Collagene AT, İtalya)	54
3. 3. Tıraşlanıp povidon-iyot ile temizlenmiş operasyon sahası	56
3. 4. Operasyon sahası açıkta kalacak şekilde steril örtü ile örtülmesi	56
3. 5. İnsizyon sonrası açığa çıkarılmış kemik yüzeyi	57
3. 6. Tavşan kafa anatomisi ve açılacak defektlerin anatomik lokasyonu	58
3. 7. Defekt oluşturmak için kullanılan trefan frez (Ø-5mm)	58
3. 8. Trefan frez ile 3mm arayla oluşturulmuş 5mm çapındaki kemik defektleri	59
3. 9. Defekt bölgesinden çıkarılan disk şeklindeki otojen kemikler	59
3. 10. Disk şeklindeki kortikal kemik greftinin kemik öğütücü yardımıyla küçük partiküller haline getirilmesi	61
3. 11. Otojen greft partikülleri ile doldurulmuş ve hemen yanında boş bırakılmış defekt kavimleri	61
3. 12. Kollajen membran ile örtülmüş defekt kavimleri	62
3. 13. Primer olarak suture edilmiş operasyon bölgesi	62
3. 14. Radyolojik analizde kullanılan mikro-BT cihazı	64
3. 15. Ham verilerin rekonstrüksiyonların yapıldığı NRecon yazılımı	65
4. 1. 1.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X40), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	69
4. 2. 1.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X100), (g: greft partikülü, yd: yumuşak doku)	70
4. 3. 1.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X200), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü)	70
4. 4. 2.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X40), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	71

4. 5. 2.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X100), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	72
4. 6. 2.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X100), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	72
4. 7. 3.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X40), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	73
4. 8. 3.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X100), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	74
4. 9. 3.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X400), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	74
4. 10. 4.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X40), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	75
4. 11. 4.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X100), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	76
4. 12. 4.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X100), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	76
4. 13. 1.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X40), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	77
4. 14. 1.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X100), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	78
4. 15. 1.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X100), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	78
4. 16. 2.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X40), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	79
4. 17. 2.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X100), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	80
4. 18. 2.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X200), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	80
4. 19. 3.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X40), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	81
4. 20. 3.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X40), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	82
4. 21. 3.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X200), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	82
4. 22. Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X40), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	83
4. 23. 4.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X40), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	84

4. 24. 4.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X400), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)	84
4. 25. Dördüncü haftada 2.Gruptan alınan örneğin üç boyutlu görüntüsü	90
4. 26. Sekizinci haftada 4.Gruptan alınan örneğin üç boyutlu görüntüsü	90
4. 27. Sekizinci haftada 4.Gruptan alınan örneğin üç boyutlu görüntüsü	91



TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2. 1. Kemiğin mikroskopik yapısı.	8
2. 2. Kemiğin moleküler yapısı[34].	11
2. 3. Bisfosfonatların ticari preparatlar şeklinde sınıflandırılması.	40
3. 1. Deney grupları	55
3. 2. Parafin takip protokolü.	66
3. 3. Hematoksilen&Eozin boyama protokolü.	67
3. 4. Movat'ın modifiye pentakrom boyaması protokolü.	67
4. 1. Histomorfometrik analiz sonucu elde edilen veriler (4. Hafta).	86
4. 2. Histomorfometrik analiz sonucu elde edilen veriler (8. Hafta).	88
4. 3. Radyolojik analiz sonucu elde edilen veriler.	92
4. 4. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta yeni kemik alanı değerlerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması.	94
4. 5. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta yumuşak doku alanı değerlerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması.	95
4. 6. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta rezidüel greft alanı değerlerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması.	95
4. 7. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta yeni kemik yüzdesi değerlerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması.	96
4. 8. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta yeni kemik ve rezidüel greft yüzde değerlerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması.	96
4. 9. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta kemik hacmi değerlerinin radyolojik olarak karşılaştırılması.	97
4. 10. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta kemik hacmi yüzde değerlerinin radyolojik olarak karşılaştırılması.	97
4. 11. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta dansite değerlerinin radyolojik olarak karşılaştırılması.	98

1.GİRİŞ

Ağız, diş ve çene cerrahisi, diş hekimliğinin ağız ve çene bölgesindeki cerrahi tedavileri içeren bir dalıdır. Bu bölgelere yapılan cerrahi müdahalelerin büyük bir kısmı kemiğe yöneliktir. Travma, rezeksiyon veya patoloji sonucu oluşan segmental kemik defektleri, kemik dokusunun devamlılığını ve direncini bozabilen sık karşılaşılan bir durumdur. Ağız ve çene bölgesinin estetik ve fonksiyonel öneminden dolayı, destek yapı olan çene kemiğindeki bu defektlerin hızlı ve kaliteli iyileşmesi amaçlanmaktadır. Bu yüzden araştırmalar kemik iyileşmesini olumlu yönde etkileyen ve hızlandıran faktörler üzerine yoğunlaşmıştır.

Defekt tamiri tedavisinde en sık başvurulanan cerrahi yöntem kemik greftleme işlemidir ve her yıl tüm dünyada yaklaşık 2.2 milyon greftleme operasyonunun gerçekleştirildiği bildirilmektedir [1, 2]. Kemik defektlerinin tedavisinde kullanılacak ideal kemik greft materyali osteoindüksiyon, osteokondüksiyon ve osteogenezis özelliklerine sahip olmalıdır [3]. Otojen kemik greftleri; sınırlı miktarda elde edilebilmeleri, donör saha morbitidesi, uzun süreli postoperatif ağrı ve hareket kısıtlılığı görülebilmesi gibi dezavantajlarına rağmen, tüm bu üç özelliği karşılayan tek kemik greft materyali olarak altın standart kabul edilmektedir. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilen allogreftler, immünolojik uyumsuzluk, erken rezorbsiyon süreleri gibi nedenlerden; alloplastlar ise geç rezorbsiyon süreleri ile yeterli klinik başarıyı sağlayamamışlardır [4]. Dolayısıyla günümüzde tüm bu özelliklere sahip ideal bir greft materyali bulunamamıştır.

Bisfosfonatlar çeşitli kemik ve kalsiyum metabolizması hastalıklarının tedavisi için geliştirilmiş bir ilaç grubudur ve günümüzde osteoporoz, Paget hastalığı, maligniteye bağlı hiperkalsemi, multiple myeloma, fibröz displazi ve bazı metabolik kemik hastalıklarında kullanılmaktadır. Alendronat ise nitrojen içeren ikinci jenerasyon bir bisfosfonat olup içerdiği yan zinciri amino grubu ile güçlü ve selektif yapıya sahiptir. Diğer bisfosfonatlar gibi osteoklast öncü hücrelerinin kemiğe geçişini, osteoklast oluşumunu ve osteoklastların neden olduğu kemik

rezorbsiyonunu önleyerek antirezorbtif etki yapmakta; ayrıca büyüme faktörleri stimülasyonu ile osteoblastik hücre proliferasyonunu da artırmaktadır [5-8].

Bu çalışmanın amacı; sistemik kullanımında kemik yıkımını inhibe eden ve osteoblast proliferasyonunu artıran alendronat sodyumun defekt bölgesine lokal olarak uygulandığında iyileşmeye olan etkilerini araştırmaktır. Bu amaca yönelik olarak; tavşanlarda oluşturulan kemik defektlerinde lokal olarak uygulanan alendronat sodyumun yeni kemik oluşumu üzerine etkileri, radyolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu

Kemik dokusu, kalsiyum ve fosfat tuzlarıyla mineralize olmuş, sıralı ve aynı doğrultuda kollajen matriksten oluşan, canlı, özelleşmiş bir bağ dokusudur. Yapısal destek ve kalsiyum depolanması gibi iki temel görevi vardır. İskelet sisteminin yapıtaşını oluşturur. Yetişkin bir iskelet sisteminde, osteoblastlar ve osteoklastlar tarafından sürekli koordine edilen kemik yapımı ve kemik yıkımı özelliğiyle dinamik bir yapıdır. İçinde bulundurduğu kemik iliği sayesinde kan hücrelerini üreterek dolaşım ve bağışıklık sistemi için önem taşır. Ayrıca kalsiyum depolama görevi ile de endokrin sistem içerisinde önemli bir rolü vardır [9, 10]. Kemik dokusunun organik ve inorganik komponentleri bulunmaktadır. Organik komponentini %80-90 oranında Tip I kollajen, kalan kısmını proteoglikan, proteinler, büyüme faktörleri ve sitokinler oluştururken; kemiğin kuru ağırlığının %65'ini oluşturan inorganik komponentinde ise büyük çoğunlukta hidroksiapatit (HA) kristalleri ve az miktarda fosfor, bikarbonat, sitrat, sodyum, potasyum, magnezyum yer alır [11-13].

Mimarisine bakıldığında en dışta kortikal kemik veya kompakt kemik denilen kısmı görülür. Kortikal tabakanın altında yeralan ve metabolik faaliyetlerden sorumlu olan kısmı ise trabeküler kemik yada kansellöz kemiktir [11].

2.2. Kemik Yapısı

Kemiğin yapısını 3 farklı boyutta inceleyebiliriz:

1. Makroskopik Yapı
2. Mikroskopik Yapı
3. Moleküler Yapı [9, 14]

2.2.1. Kemiğin Makroskopik Yapısı

Kemik makroskopik olarak kortikal (kompakt) ve trabeküler (süngerimsi, kansellöz) olarak sınıflandırılmaktadır. Kortikal kemik genellikle uzun kemiklerin gövdelerinde bulunurken, kemiğin distal ve proksimal uçlarında ise trabeküler kemiğin üzerinde bulunur. Trabeküler kemik ise kortikal kemik tabakası altında uzun kemiklerde, küçük kemiklerin iç bölgelerinde ve vertebralarda bulunur [15].

Hemen her zaman her kemik bölgesinde kortikal ve trabeküler kemik bulunurken, miktarları ve dağılımları farklılık göstermektedir. Bazı kemiklerin iç bölgelerinde de, asıl görevi kan hücrelerinin üretimi olan, kan damarları ve sinirler içeren kemik iliği denilen bir yapı bulunur [9].

Kortikal Kemik

İskelet sisteminin yaklaşık %85'ini oluşturur. Görevleri arasında hayati organları korumak, mobilizasyona yardımcı olmak ve gelen kuvvetlere direnç göstermek yer alır [16]. İçerisinde mikroskobik düzeyde kanalcıklar bulunduran sert ve yoğun bir kitleden oluşur. Bu kanalcıkları meydana getiren kemik katmanlarına lamel adı verilir. Özellikle uzun kemiklerin diyafizlerinde rastlanan bu lamellerin dört farklı tipi bulunur. Bunlar; dış çevresel lameller (*outer circumferential*), iç çevresel lameller (*inner circumferential*), osteonlar (*Haversian* Kanal Sistemi) ve interstisyel (*intersitial*) lamellerdir [17, 18].

Dış çevresel lameller periostun en alt tabakasında bulunurlar diyafizin en dış tabakasını oluştururlar ve içerisindeki Sharpey lifleri sayesinde periost ile kemik arasındaki sıkı bağlantıyı sağlarlar. İç çevresel lameller de dış çevresel lamellere benzerler. Spongioz kemik trabekülleri bu tabakaya bağlı olarak kemik iliğine doğru gelişim gösterirler [13].

Kortikal kemiğin, merkezde bulunan kan damarlarının çevresinde toplanmış ve silindirik şeklinde yapılanmış şekline *Haversian* kanal sistemi veya Osteonlar denir. Bu *Haversian* kanal sistemleri kemiğin uzun aksına paralel yerleşirler. Osteonlar

ortalama 200 μm çapındadırlar. Bu osteonların ortasında kan damarlarını ve sinirleri içinde bulunduran yaklaşık 50 μm çapında *Haversian* kanalları bulunmaktadır. Bu kanalların içi yüzeyini ise ince bir osteoblast ve osteoprogenitör hücre tabakası kaplamaktadır. Ayrıca osteonların kendi aralarında ve kemik dış yüzeyi ile iletişimini sağlayan, aynı zamanda *Haversian* kanalları ile de bağlantılı, kemik yüzeyine dik seyreden *Volkman* Kanalları bulunmaktadır. Bu kanalların çevresinde organize olmuş herhangi bir lamel sistemi ise yoktur. Lamellar yapının içerisinde bulunan osteositler de, Kanalikuli adı verilen ayrı bir haberleşme ağı ile hem kendi aralarında hem de *Haversian* ve *Volkman* kanalları ile iletişimde dirler [13, 15, 19].

Osteonlar *Haversian* kanalı çevresinde halka lameller halinde dizilirler. İlk olarak en dış halka oluşur ve içe doğru daralarak lamel sayısını artırır. Bir kanal çevresinde ortalama olarak en fazla 4 ile 20 lamel oluşabilir. Bu sayıyı lamellerin içindeki hücrelerin beslenme kapasiteleri belirler. Hücrelerin metabolik alışveriş sağlayabilmeleri için en yakın damara uzaklığı en fazla 300 μm olmalıdır.

Kortikal kemiğin gözenekli yapısı, toplam miktarın %5 ile 10'u arasındadır. Bu gözenek miktarı, *Volkman* kanalları, *Haversian* kanalları, ve rezorbsiyon kaviteleri tarafından belirlenir. Rezorbsiyon kaviteleri, osteoklastların remodeling safhasında ortaya çıkardığı geçici boşluklardır. Bunun yanı sıra, toplam gözenekli yapı içerisinde; osteositlerin kemik matriksi içerisine gömüldükleri lakünalar ve kanalikuliler sadece %10'luk bir paya sahiptirler [14, 20].

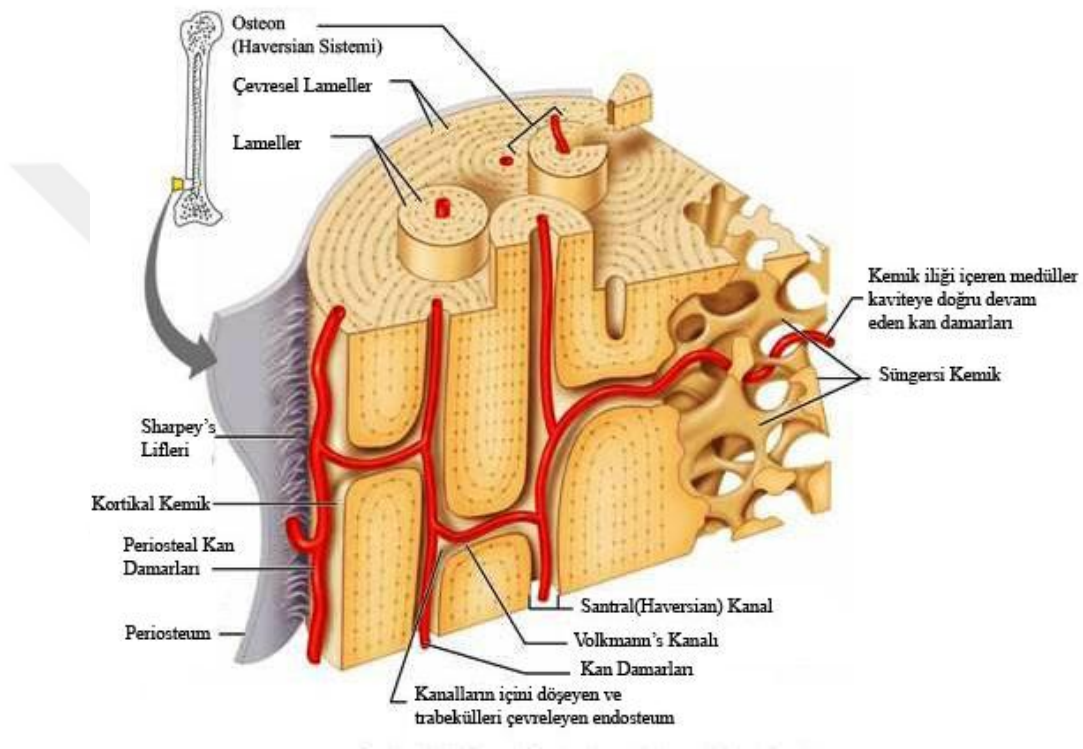
Trabeküler Kemik

Kanselöz kemik veya süngerimsi kemik olarak da adlandırılan trabeküler kemik, düz kemiklerde, vertebralarda ve uzun kemiklerin medullar kaviteleri ile metafizlerinde bulunurlar. Toplam kemiklerin %15'ini oluşturan trabeküler kemiklerin matriksi; her biri 200 μm kalınlığında ve kafes tarzında, trabekül denilen üç boyutlu yapısal elemanlardan oluşur [9, 15, 20].

Trabeküler kemikte %75 ile %95 arasında gözenekli yapı bulunur. Bu gözenekler dolu ve kemik iliği ile bağlantılıdır. Kan hücrelerinin aktif üretim

döneminde veya mezenkimal kök hücreler için depo olarak kullanıldığında kırmızı renktedir. Yaşlanmayla beraber bu yapılar yağ depolanması için kullanılacağından sarı renk alırlar [9, 15].

Trabeküllerin dizilimi genelde rastgele olmakla beraber, özellikle iliak kemikte olduğu gibi bazı bölgelerde, gelen fonksiyonel kuvvetlere göre hizalanırlar. Bu dizilimler paralel olmadığından girintili çıkıntılı bir yapı gösterirler [21].



Şekil 2. 1. Kemiğin Yapısı [22]

2.2.2. Kemiğin Mikroskopik Yapısı

Makroskopik olarak kortikal ve trabeküler olmak üzere iki tipi bulunan kemik, mikroskopik olarak da primer kemik ve sekonder kemik olarak iki ana başlık altında sınıflandırılmaktadır. Ayrıca kompozit ve bundle olarak adlandırılmış kemik tipleri de bulunmaktadır. Mikroskopik olarak kemiği oluşturan, yapısına katılan, metabolizmasına yardımcı olan temel hücreler osteositler, osteoblastlar, osteoprogenitör hücreler ve osteoklastlardır (Tablo 2.1).

Primer Kemik

Olgunlaşmamış kemik ya da woven kemik olarak da adlandırılan primer kemik, fetal gelişim sırasında veya kemik iyileşmesi esnasında oluşturulmuş çoğunlukla geçici olan kemik yapısıdır. Daimi olarak bulunabildiği yapılar, kafatasındaki düz kemiklerin suturları, diş soketleri ve bazı tendonların bağlanma bölgeleri ile sınırlıdır. Yetişkinlerde primer kemik, yaşam boyunca sekonder kemikle yer değiştirir. Bu devamlı döngüye remodeling denir. Primer kemikte kollajen lifleri düzensiz bir yapıda bulunmaktadır ve mineral içeriği sekonder kemiğe oranla daha az olmakla beraber içerdiği osteosit oranı daha yüksektir [13, 19].

30-60mm/gün'lük oluşma hızı ile iyileşme sırasında büyük önem taşımaktadır. Organize olmayan bir yapı olduğundan mekanik olarak güçsüzdür. İyileşme sırasında hızlıca mineralize olarak yerini sekonder kemiğe bırakır [9].

Sekonder Kemik

Lameller veya olgunlaşmamış kemik olarak da adlandırılan sekonder kemik, genellikle yetişkinlerde bulunan, matriksi primer kemiğe göre daha kalsifiye olan kemik türüdür. *Haversian* kanalları çevresinde paralel veya eşmerkezli yerleşmiş 3-7 µm kalınlığındaki lamellerden oluşmaktadır [13, 19].

Lameller kemik, iyi organize olmuş kollajen yapısı ve mineralizasyonu ile, kuvvete karşı koyabilen çok güçlü bir kemik yapısıdır. *Haversian* kanalından dışarıya doğru incelendiğinde, her lamel içerisinde birbirine paralel ve sarmal yapıda seyreden kollajen lifleri, komşu lameldeki kollajen lifleri ile ters doğrultuda sarmal yaptıklarından birbirlerini dik açı ile keserler. Bu yapı, ışık altında incelenen *Haversian* kanal sisteminde parlak ve karanlık alanların gözükmesini açıklar, aynı zamanda kemiğin baskı ve torsiyon kuvvetlerine olan direncini de artırır. Büyüme hızı 0.6-1mm/gün ile primer kemiğe göre çok daha yavaştır [9, 23].

Komposit & Bundle Kemik

Primer kemikten sekonder kemiğe geçiş sırasında gözlenen kemiğe kompozit kemik denmektedir. Bundle kemik ise ligamanların ve eklemlerin etrafında çizgisel iç bağlantılara sahip başlıca kemiktir [9].

Tablo 2. 1. Kemiğin mikroskopik yapısı.

<i>Mikroskopik Görünüm</i>	<i>Alt Tip</i>	<i>Özellikleri</i>	<i>Örnek</i>
Primer Kemik	Kansellöz	Kortikal kemikten daha elastik	Distal femoral matefiz
	İmmatür	Stres yönelimli değildir.	Embriyonik iskelet, Kırık kallusu
	Patolojik	Rastgele organizasyon Artmış döngü Zayıf ve esnek yapı	Osteojenik sarkom, Fibröz displazi
Sekonder Kemik	Kortikal	Yapı, güçlü ve stres çizgileri boyunca yönelmiştir.	Femur

2.2.3. Kemiğin Moleküler Yapısı

Moleküler seviyede kemik; tip I kollajen, HA, su, pretoglikanlar ve kollajen olmayan proteinlerden oluşur. Kollajen lifleri ile mineralize kristallerin bileşimi olarak da düşünülebilir [9, 15]. Genel olarak organik ve inorganik bileşenler başlıkları altında incelenir (Tablo 2.2).

Organik Bileşenler

Organik yapının % 90-96'sı, bağ dokusunun ana bileşeni olan ve tüm vücut proteinlerinin 1/3'ünü oluşturan kollajendir. Diğer bölgelerde görülen kollajenden farklı olarak mineralize bir yapı olarak bulunur ve birbirine paralel seyreden lamellar denilen bantlar şeklinde döşenmiştir. Kollajenin bu türüne tip I kollajen denir. Kollajen dışında proteoglikan ve glikoproteinler gibi kollajen olmayan proteinler de bulunur. Proteoglikanlara örnek olarak çeşitli glikozaminoglikanlardan oluşan versican, decorin, biglycan, fibromodulin, osteoglisin ve osteoaderin verilebilir. Glikoproteinler arasında ise osteonektin, trombospondin, fibronektin, vitronektin, fibrilin, osteopontin ve kemik sialoproteini sayılabilir [13, 24, 25].

Kollajen

Kollajen bağ dokusunun ana bileşeni olan ve memelilerde en fazla bulunan proteindir. Bugüne kadar tanımlanmış 29 farklı kollajen bulunmaktadır. Organik matriksin büyük bölümünü ise Tip I kollajen oluşturur. Kollajenin ana molekülü, hücre içinde üretilmiş prokollajenlerden oluşan tropokollajendir [26, 27].

Tip I kollajen molekülünde iki adet $\alpha 1$ polipeptid ve bir adet $\alpha 2$ polipeptid zinciri üçlü sarmal yaparlar. Daha sonra birleşerek kollajen liflerini oluştururlar. 300nm uzunluğunda olan kollajen molekülleri birbirleriyle çakışmayacak şekilde dizilim gösterdiklerinden, aralarında meydana gelen gözeneklere inorganik matriks tuzları çöker [21, 28, 29].

Kemiğin mekanik kuvvetlere karşı olan direncini kollajen ve HA oranı ile dizilimleri belirler. Kollajen çekme kuvvetlerine karşı direnç ve esneklik sağlar. Eksikliğinde meydana gelen osteogenezis imperfekta, osteoporoz, osteoartroz, Ehlers-Danlos sendromu gibi durumlarda kemiğin morfolojik yapısında bir değişim olmaz ancak kırılabilirliği artmış olur [9, 14, 30].

Kollajen Olmayan Proteinler

Görevleri tam olarak anlaşılamamış olmakla beraber; büyüme faktörlerinin salınımına yardımcı olmak, HA kristallerinin kollajene tutunmasını sağlamak, organik matriksin kalsifikasyonu, osteoblast ve osteoklast metabolizmasını düzenlemek gibi fonksiyonları olduğu düşünülen az sayıda çeşitli proteinler de bu organik yapının içinde bulunmaktadır. Osteokalsin, osteonektin, osteopontin, kemik sialoprotein, en çok bulunan kollajen olmayan proteinlerdendir [31].

İnorganik Bileşenler

İnorganik matriks olarak da bilinen kemiğin mineralize kısmı, kemiğin kuru ağırlığının % 60-70'ini oluşturur. Aynı zamanda kemik dokusunun direnci ve sertliğinde de önemli rol oynar.

Vücuttaki kalsiyumun % 99'u, fosforun % 85'i, sodyum ve magnezyumun % 40-60'ı iskelet sistemindedir. Bunların yanı sıra, bikarbonat, sitrat ve potasyum da bulunur. Mineralize kısmın büyük çoğunluğu; kalsiyum, fosfat ve hidroksil iyonlarından oluşan kristal yapıdaki HA'tir [13, 19, 32].

Hidroksiapatit

Kemiğin mineralize bölümünü oluşturan asıl moleküldür. Doğada da bulunan, kristal formundaki fosfat minerallerinin OH- iyonu bulundurmasıyla oluşur ancak doğadaki kadar saf değildir. Önemli miktarda amorf kristalize olmayan kalsiyum fosfat bulunmaktadır. Ayrıca çok az miktarda karbonat, florit, magnezyum ve stronsiyum elementleri bulunur. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde, kollajen fibrilleri arasındaki HA kristallerinin yüzey iyonlarının hidrate olarak su ve iyonlardan oluşan bir tabaka bulundurduğu görülebilmektedir. Hidrasyon kabuğu olarak adlandırılan bu tabaka, vücut sıvıları ile kristal arasındaki iyon alışverişini kolaylaştırır. Doğal halinden daha kolay çözünebilen kristallerin gerektiğinde kalsiyum, fosfat ve magnezyum iyonlarını ekstraselüler sıvıya aktarması ile vücut iyon dengesi sağlanır [9, 15, 19, 29, 33].

HA kemiğe sertlik ve baskı kuvvetlerine karşı dayanıklılık sağlar. Dekalsifiye olup mineralize yapısını kaybetmiş kemik yapıları morfolojilerini kaybetmezler ancak esnek bir yapı kazanırlar [14].

Tablo 2. 2. Kemiğin moleküler yapısı [34].

Bileşen	Fonksiyon	Tipler	Özellikler	
Organik Matriks				
Kollajen	Gerilim gücü sağlama	Primer olarak tip I kollajen		Organik matriksin %90'ı Yapı: iki α1 ve bir α2 zincirinin çeyrek atlamalı, bir fibril üretimi için düzenlenmiş
Proteoglikanlar	Kompresif gücün kısmi sorumludur.	Glikozaminoglik an-protein kompleksleri		Mineralizasyon inhibisyonu
Matriks Proteinleri (kollajen olmayanlar)	Mineralizasyon ve kemik oluşumunu artırmak		Osteokalsin (kemik γ-karboksiglumatik asit içeren protein -kemik Gla proteini-).	Osteoklastları etkiler; doğrudan kemik yoğunluğu regülasyonu; en çok kollajen olmayan matriks protein (%10-20'si)
			Osteopontin	İntegrin'e benzer, hücre bağlayıcı protein
Büyüme Faktörleri ve Sitokinler	Kemik hücresi farklılaşması, aktivasyonu, büyümesi ve döngü'üne yardımcı olur		Transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF-β), İnsülin-benzeri büyüme faktörü (IGF). İnterlökinler (IL-1, IL-6). Kemik morfogenetik Proteinleri (BMP1-6).	Küçük miktarlarda kemik matriks içinde mevcut
İnorganik Matriks				
Kalsiyum HA	Kompresif gücü sağlama			İnorganik matriksin büyük kısmını oluşturur, kollajen boşluklar arası primer mineralizasyon (delikler ve gözenekler), periferde sekonder mineralizasyon
Osteokalsiyum Fosfat				Geriye kalan inorganik matriksi oluşturur

2.3. Kemik Hücreleri

Kemik; osteblastlar, osteoklastlar, osteositler ve osteoprogenitor hücrelerden oluşur. Osteoblastlar ve osteositler, tek bir hücre türünün olgunlaşmasındaki farklı evrelerin hücreleri olduklarından benzer yapıda hücrelerdir. Osteoklast ise dolaşımda bulunan bütün hücreleri içine alan, kan hücrelerini oluşturan hücre ailesine aittir ve monositlerden farklılaşarak oluşur.

Osteoblastlar ve osteoklastlar farklı kökenli ve zıt görevleri olmalarına rağmen yaşam süreçleri, kısa ömürlü ve geçici hücre olmaları bakımından oldukça benzerdir [21, 35, 36].

2.3.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik iliği temel dokusunda yer alan kök hücrelerden oluşur. Osteoblast dizilimine geçilirken osteoblast ön hücreler çoğalır, önce preosteoblastlara sonra olgun osteoblastlara farklılaşır. Hücre büyümesinde bir duraklama olduğunda, matriks olgunlaşır ve mineral yapımında önemli olan alkalin fosfataz ile özelleşmiş kemik proteinleri ortamda belirginleşir.

Osteoblastlar organik matriksin sentezlenmesinden sorumludur. Bunun için önce kollajen sentezler ve salgılar, ardından kalsifikasyon için gerekli kalsiyum ve fosfat iyonlarının kemik içine ve dışına salınımlarını düzenler. Kemik oluşumu da, matriks oluşumu ve mineralizasyon aşamalarından meydana gelir. Mineralizasyon ve matriks oluşumu arasında geçen zamanda, yüzeyde osteoid bileşim denilen mineralize olmamış bir tabaka kalır. Erişkin bir bireyde geçen bu zaman 10 gündür. Erişkin olmayanlarda ise daha kısadır. Kemik yapımının hızı, tetrasiklin benzeri florasan kemik belirleyicilerinin mineralizasyon sınırında birikmesi özelliği kullanılarak ölçülür [37-39]. Osteoblastların aktif yaşam ömrü 1-10 hafta arasındadır. % 15'lik bir kısmı osteositlere dönüşürken, bir kısmı da kemik yüzeyini döşeyen hücrelere dönüşür.

Osteoblastlar kemik yüzeylerinde epitel hücrelerini andıracak şekilde yan yana dizilirler. Morfolojik görünümleri sentez durumunda olup olmadıklarına göre değişiklik gösterir. Matriks sentezini yapmaya başladıklarında şekilleri kübikten prizmatığe kadar değişebilir. Alkalen fosfataz seviyesi artar ve sitoplazmaları bazofilik hale gelir. Sentez faaliyetleri azaldıkça yassılaşırlar ve alkalen fosfataz aktiviteleri yavaşladıkça, bazofilik özellikleri de azalmaktadır [19].

Osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara dönüşümünde iki farklı mekanizma bulunmaktadır. Bunlardan ilki, embriyogenik dönemde hücre kolonizasyonu ve farklılaşması sonucu direkt kemik dokusunun oluşturulmasıdır. İkinci dönüşüm mekanizmasında ise kemik yeniden şekillenme safhasında rezorbe olan kemik yerine veya kırık iyileşmesinde yaralanmış kemik dokusu yerine yeni kemik oluşturulabilmesi için osteoprogenitör hücrelere özel transkripsiyon faktörlerinin ve hormonların iyi bir zamanlama ile etki etmesi gerekir. Bu tip faktörlerin ve hormonların eksikliği mineralize yapının tam olarak oluşmasını engelleyebilir [13, 19, 40]. Osteoblastlar; paratiroid hormon (PTH), paratiroid hormon ilişkili protein (PTHrP), prostaglandinler, D vitamini metabolitleri, kemik morfogenetik proteini (BMPler), gonadal ve adrenal steroidler, bazı sitokinler, lenfokinler ve koloni stimule edici faktör(CSF-1) için reseptörler barındırırlar. Bu reseptörler aracılığıyla düzenleyici faktörler osteoblastların aktivasyon, diferensiasyon, proliferasyon miktarlarını, osteoblastların ve öncü hücrelerin uyarılmasını ya da apoptosisini sağlarlar.

Osteoblastlar matriks oluşumundan sonra kalsifikasyon sırasında kalsifiye matriks içinde gömülerek osteositlere dönüşürler. Osteositlere dönüştükten sonra komşu osteositler, yüzeydeki osteoblastlar veya döşeyici hücreler ile iletişimi sağlamak için uzantılar oluştururlar [29]. Bu uzantılar, hücre kendi etrafını matriks ile sarmaya başladığı zaman daha da belirginleşir. Osteoblastlar yeni sentezi yapılmış matriks ile sarıldığında osteosit adını alırlar. Hücre ve sitoplazmik uzantıların etrafında matriksin oluşması lakuna ve kanalcıkları belirgin hale getirir. Matriks

sentezi sırasında osteoblastlar ultra strüktürel olarak aktif protein sentezi yapan ve salgılayan hücrelere benzerler.

Osteoblastlar kutuplaşmış hücreler olup sitoplazmalarında büyük miktarda alkalen fosfataz enzimi bulundurmaktadırlar. İçerdiği bu enzim yalnız matriks yapımıyla ilgili olmayıp, kalsifikasyonla da ilişkisidir. Matriksin sekresyonu, daha önce yapılmış kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblast yüzeylerinden olur. Böylece yeni fakat henüz kalsifiye olmamış matriks, osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında yer alır. Bu olaya “kemik apozisyonu” denir ve zamanla kalsiyum tuzlarının çökmesi ile bu süreç tamamlanır. Bu olayın, osteoblastların salgıladığı alkalen fosfataz ile yerel olarak inorganik fosfat konsantrasyonunu arttırdığından ya da kollajeni aktive ettiğinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Bir miktar alkalen fosfataz difüzyonla kana geçtiğinden, alkalen fosfatazın kandaki düzeyi de kemik yapım hızını yansıtan ölçütlerden biridir [19].

2.3.2. Osteoklastlar

Osteoklastlar, çapları 20 µm ile 100 µm arasında değişen, 5 ile 50 arasında çekirdeği bulunabilen, kemik dokusunun rezorpsiyonundan sorumlu çok çekirdekli dev hücrelerdir. Kemik rezorbsiyonunun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış howship lakunası adı verilen çukurcularda bulunurlar. Kan kaynaklı monositlerin birleşmesi ile meydana geldikleri için “mononükleer fagositöz sistem”e dahil edilirler.

Osteoklastların yüzeye yakın kısımlarda aşırı membran katlanmasına bağlı olarak ektoplazmik bir bölgeyle çevrilmiş dalgalı bir görüntü oluşur. Bu bölgede osteoklastlar kemiğe yapışır ve bir mikro ortam oluşturarak kemik rezorbsiyonunu başlatırlar. Daha sonra kemik yıkımı için gerekli ürünler salgılanır.

Osteoklastların sitoplazmaları genellikle asidofiliktir. Hücrede pek çok lizozomla birlikte, bol miktarda serbest polizom, bir miktar granüler endoplazmik retikulum, çok sayıda mitokondri ve iyi gelişmiş golgi kompleksi vardır. Kalsiyum içeren kristaller kıvrımlar arasında ve sitoplazmik vakuollerde görülebilmektedir.

Osteoklastların neden olduğu bu olaylar, hiçbir zaman hücrenin sitoplazması içinde gerçekleşmez. Osteoklastlar kemik matriksine hücum eden asit, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgırlar. Böylece kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale getirirler ve kemik rezorbsiyonu sırasında meydana gelen artıkların da ortadan kaldırılmasında aktif rol oynarlar [19].

Osteoklastlar mitoz bölünme yapmazlar. Osteoblastlarla beraber mekanik streslere bağılı olarak kemiğin şekillenmesine, plastik etkinliğini en iyi şekilde yapabilmesine yardımcı olurlar. Ayrıca kemikte depolanmış kalsiyumun salınımını da sağlarlar [28, 41].

Osteoklastların oluşturulmasında osteoblast hücre serisinin de büyük önemi vardır. Kemik yüzeyini döşeyen osteoblastik hücreler uygun sinyalleri aldıklarında kontrakte olurken yapıştıkları kemik matriksi yüzeyini osteoklastik rezorbsiyon için hazır hale getirmek amacıyla sindirim enzimleri salgırlar. Kemik yüzeyinden ayrılan osteoblastlar kemik iliğine doğru hareket ederek öncü osteoklast hücreleri ile direkt temasa geçerler. Osteoklastların farklılaşması ve düzenlenmesi için osteoblastlar tarafından üç sinyal molekülü salgılanır.

Bunlardan ilki makrofaj koloni olusturucu faktör(M-CSF) makrofaj üstündeki reseptöre tutunarak osteoklast proliferasyonunu baslatır. Böylece nükleer faktör kapa B(RANK) aktivasyonu için reseptörler salgılanır.

Kemik döşeyici hücrenin ikinci sinyal molekülü RANKL aktive olan reseptöre yapışarak bir arada bulunan tek çekirdekli fagositlerin birleşerek çok çekirdekli hale geçmelerini sağlarlar. Kemik yüzeyinden ayrılmış olan osteoblastik hücreler ile kemik matriksi arasında “clear zone” denilen bir alan oluşur. Hücre dışı sıvıdan izole olan bu alanda girintili çıkıntılı osteoklast yüzeyi kemik matriksine tutunduktan sonra klorid kanalları sayesinde kemik demineralizasyonu sağlanır. Osteoklast tanımlaması yapılması için kemik yüzeyi ile çok çekirdekli hücrenin birebir teması olması gerekir.

Osteoblastik hücrelerden salgılanan üçüncü sinyal ise tümör nekrotizan faktör reseptör(TNFR) ailesine üye osteoprotegerindir (OPG). RANKL sinyalinin

makrofajlara bağlanmasını inhibe ederek osteoklast diferansiasyonunu kısıtlar. OPG sadece osteoblastlar tarafından değil başka dokulardan da salgılanabilir. Ayrıca rezorbsiyon kapasitelerini de düşürürler. Böylelik kemik metabolizması ve osteoklastik aktivite düzenlenmiş olur. Hormonal osteoklastik aktivite kalsitonin, PTH ve 1,25-dehidroksivitamin D3 tarafından kontrol edilir. PTH dışında diğerleri için osteoklastlar üzerinde reseptörler bulunmaktadır. PTH reseptörünün osteoklastlarda bulunmaması, osteoklast metabolizmasının osteoblastik hücreler tarafından düzenlendiği hipotezinin desteklenmesine neden olmuştur. RANK-RANKL sinyal yolu bu hipotezin gerçekliğini ortaya koymuştur. Bunun yanında hormonal olmayan lokal faktörler ve sitokinler gibi osteoklastik metabolizma düzenleyicileri de vardır [13, 14, 28, 29, 42, 43].

2.3.3. Osteositler

Osteositler, osteoblast kaynaklı lakünler içinde bulunan olgun kemik hücreleridir. 1mm³ kemikte 20000 ile 30000 arasında osteosit bulunur. % 95 oranla kemik dokusunda en fazla bulunan hücre tipidir. Osteoblasttan osteosite dönüşümde hücrelerin boyutu küçülür, yassı elips şeklini alır. Osteositler yaşlandıkça hücrenin ve organellerinin boyutu da küçülür. Küçük çekirdekleri ve az sayıda mitokondrili seyrek ve bazofilik sitoplazmaları vardır. Golgi kompleksleri ve endoplazmik retikulumları ise oldukça küçülmüştür. Çekirdek kromatinleri ise osteoblastlara oranla daha yoğundur. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığı ile aktif olarak ilgilidirler. Osteositlerin ölümünü takiben matriks rezorbsiyonu görülür [9, 13, 14, 19, 29, 44].

Osteositler boyut olarak kaynak hücreleri osteoblastlara göre küçülürken kanülikuliler içinde sitoplazmik uzantılar oluştururlar. Her yöne gelişen bu uzantılar, çevredeki diğer hücreler ile (komşu osteositler, osteoblastlar, periost hücreleri, kemik yüzeyini döşeyen hücreler, vazküler yapılar) , gap bağlantıları sayesinde iletişim kurarlar. Moleküllerin, bu yapılar üzerinden hücreden hücreye aktarılması sağlanır. Ayrıca osteositler ile kemik matriksi arasında kalan az miktarda hücre dışı sıvı da, bu moleküler alışverişe yardımcı olurlar. Periosteositik boşluk denilen bu

alandaki yaklaşık 1-1,5 litre hücre dışı sıvı bulunur. Bu sistemin toplam yüzey alanı ise 1000-5000m² arasındadır. Bu ağsı bağlantı sistemi kan damarlarından başlayarak 15 hücrelik bir beslenme zinciri oluşturabilir. Ayrıca bu üç boyutlu osteositik laküno-kanaliküler bağlantı yapısı, dışarıdan gelen mekanik kuvvetleri hücre sensörleri tarafından algılanabilen içsel mekanik sinyallere dönüştürür. Kemik matriksinde meydana gelen herhangi bir distorsiyon ya da deformasyon, periosteositik boşlukta baskıya neden olarak hücre dışı sıvıyı hareketlendirir. Bu sıvı hareketi de sitoplazmik membranda stresler üretilerek; prostaglandin, nitrik oksit gibi biyokimyasal sinyallerin salgılanmasını sağlar [19, 29].

Osteositlerin işlevlerine yönelik varsayımlara göre osteositler, osteoblastların olgun şekilleridir ve canlı kaldıkları süre içinde bulundukları matrisin devamlılığını korurlar. Osteositlerin kemik içindeki işlevlerine ilişkin bir diğer varsayım ise, osteoliz yaparak kan kalsiyum düzeyini dengelediğidir [41]. Osteositler kemik yüzeyini döşeyen hücrelerle beraber kalsiyum akışını kontrol eder, kemiğin mineral direncini sağlar, mikro hasarları belirler, hücreler arası ilişkiyle bükülme kuvvetlerine göre kemiğin yeniden şekillenmesini düzenler.

Osteositler canlı hücrelerdir ve canlılıklarını yukarıda anlatılan ağsı bağlantı sistemi sayesinde devam ettirirler. Yaşam süreleri, bulunduğu kemiğin döngü hızına bağlı olarak uzun hücrelerdir. Ortalama ömürleri birkaç yıl olmasına rağmen yavaş döngü hızı olan bölgelerde yarılanma ömürleri 25 seneye kadar çıkabilmektedir [14, 29]. Aynı zamanda; kuvvet uygulanması, östrojen kaybı, yaşlanma ve kronik glukokortikoid uygulanması da osteosit ölümünü arttırır.

2.3.4. Osteoprogenitör Hücreler

Osteoprogenitör hücreler, mitoz bölünme yeteneklerini koruyan embriyonik mezenkimal kökenli hücrelerdir. Büyüme gelişme döneminde aktivitelerini sürekli korurken, erişkinde kırık iyileşmesi sırasında veya farklı tipteki yaralanma durumlarında aktive olabilirler. Osteoblast veya osteoklast veya diğer kemik hücre tiplerine dönüşme yetenekleri vardır. Yağ hücresine, fibroblastlara, kemik iliğindeki

kan yapıcı hücrelere, hatta yetersiz oksijen düzeyi gibi bazı özel şartlar altında kondrojenik hücrelere de dönüşebilirler. Periosteumun iç hücresel tabakalarında, *Haversian* kanallarına bakan iç yüzeylerde ve endosteumda bulunurlar. Aslında spesifik mezenkimal kök hücreler olan bu hücrelerin kökeni tam olarak anlaşılamamıştır. Çevre yumuşak dokular ve kemik iliği kaynak olarak düşünülse de, dolaşımdaki mezenkimal kök hücrelerin de tam bir kırık iyileşmesi için gerekli olduğu göz önünde bulundurulmalıdır [13, 19, 45, 46].

Osteoprogenitör hücreler, soluk boyanan oval çekirdekli, soluk sitoplazmalı yassı hücrelerdir. Organellerinin mikroskopik özellikleri, bu hücrelerin gelecekleri hakkında da fikir verir. Gelişmemiş endoplazmik retikulum ve az gelişmiş golgi cisimciğine sahip olan osteoprogenitör hücreler, preosteoblastlardır ve osteoblastlara farklılaşırlar. Belirgin mitokondrilere ve serbest ribozomlara sahip hücreler ise osteoklastlara öncülük ederler [13, 14, 47].

2.4. Kemik Oluşumu (Osteogenezis)

Kemik şekillenmesi, osteoblastlar tarafından salgılanmış matriksin doğrudan mineralizasyonu ile (intramembranöz kemikleşme) veya kemik matriksinin daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine çökmesi ile (endokondral kemikleşme) olur. Her iki mekanizmada da ilk olarak primer kemik dokusu oluşur. Daha sonra sekonder kemik ile yer değiştirir. Kemik sentezi ve yıkımı, yalnızca büyüyen kemikte görülen bir olay değil, yaşam boyu yavaşlayarak devam eden bir mekanizmadır [19].

2.4.1. İntramembranöz Kemikleşme

Membran kemikleri de denilen kafatasındaki frontal, temporal, pariyetal ve çene kemiklerinde görülen bu kemikleşme türü bağ dokusu tarafından gerçekleştirilir. Osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonudur. Kısa kemiklerin büyümesinde, uzun kemiklerin de kalınlaşmasında etkilidir.

Mezenkim hücrelerinin damarlar etrafında toplanıp çoğalmasıyla başlayan bu kemikleşme türünde, mezenkim hücreleri hücreler arası madde ve lif sentezini de yaparak osteoblast ve osteositlere dönüşürler. Bu bölgelere primer kemikleşme merkezi adı verilir. Oluşan ilk kemik yapısı, trabeküler yapıdadır ve lamel içermez. Henüz kalsiyumun çökelmediği bu yapıya da osteoid doku denir. Damar çevresinde toplanmış osteoblastların osteositlere dönüşerek boşalttıkları yerlere yeni hücrelerin yerleşmesiyle mekanizma devam eder. Anastomozlarla trabeküller büyüyüp çoğalmış, spongios kemik yapısı oluşmuş olur. Trabeküller arası boşluklardaki bağ dokusu da kemik iliğinin myeloid veya hematopoetik dokusuna dönüşür [48]. Kalsifiye olmayan mezenkimal hücreler periost ve endosteuma döner. Periostun iç tabakası ve duranın periosteal tabakası kompakt kemiğe dönüşerek iç ve dış tabakayı yaparlar [19].

2.4.2. Endokondral Kemikleşme

Bu kemikleşme asıl olarak, kıkırdak matriksin üzerine özellikle uzun kemiklerde diyafiz bölgelerinde kemik matriksin çökmesi ile meydana gelir. Endokondral kemikleşme iki aşamadan oluşur. İlki hyalin kıkırdak bir çatının oluşması; ikincisi ise kıkırdak yapının büyümesi ve kemik çatı için bir model oluşturması ardından rezorbsiyonu ve yeni kemik oluşumudur.

Uzun kemikler uzun bir diyafiz ve epifizden oluşmaktadır. Meydana gelen ilk kemik diyafizi saran perikondriumda intramembranöz yolla olmakta ve periost şekillenmektedir. Uzun kemiklerin gelişiminde önce hyalin kıkırdak yapıda bir taslak oluşur, ardından apozisyonel büyüme ile uzunca bir şekil alır, perikondriumla sarılı epifiz ve diyafiz oluşur. Bu kıkırdak taslağın içindeki kondrositler büyürler, sitoplazmalarında glikojen depolarlar ve vakuolize hale gelirler. Etraflarındaki kıkırdağı rezorbe ederek trabeküllü bir kıkırdak matriksi meydana getirir. Bu matriksin kalsifiye olmasıyla kıkırdak taslağın üzerinde yeni kemik oluşur. Bu taslağın içindeki boşlukları ise daha sonra kemik iliği hücrelerine ve osteoblastlara dönüşecek mezenkim dokusu ile kan damarları doldurur [41].

Primer kemikleşme merkeziyle kıkırdak taslağın uçları birbirinden ayrılarak kıkırdak uçları büyümeye devam eder ve kemikleşmeye başlar. Bu esnada kemik, uzun bir diyafiz ve uçlarında yarım ay şeklinde epifizden oluşur. Diyafiz ile epifiz arasındaki bölgeye ise büyüme plağı adı verilir. Büyüme plağında kıkırdak hücrelerinin proliferasyonu ile kemiğin boyunun uzaması devam eder. Diyafizde ise olgunlaşan kondrositler kaybolarak yerlerini osteoprogenitör hücrelere bırakırlar. Perikondrium ise periosteuma dönüşür. Büyüme ve gelişmenin tamamlanmasıyla meydana gelen hormonal değişikliklerle, büyüme plakları kemikleşir, epifiz ile diyafiz birleşir. Epifizlerin içinde, sekonder kemikleşme merkezi adı verilen, diyafize benzer yeni kemik dokusu oluşur [19, 41].

2.5. Kalsifikasyon Mekanizması

Kalsiyum fosfatın, kemik matriksi üzerine çöküşünü açıklayabilen kabul görmüş genel bir hipotez olmamasına rağmen, kalsiyum tuzlarının kollajen fibriller üzerine çökmesi ile başladığı bilinmektedir. Bu olayı, kalsiyum bağlamada yüksek afinitesi olan glikoproteinler ve proteoglikanlar başlatır. Ayrıca kemik yüzeylerinde bulunan ve osteoblastlarca üretilen alkalen fosfatazın da bu kalsifikasyon mekanizmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir. Osteoid maddenin oluşumunu takiben 4-8 gün sonra meydana gelen kalsifikasyon sonrası kalsifikasyon çizgileri denen tabakalar oluşur [19, 41].

2.6. Kemik Büyümesi ve Şekillenmesi

Daha önce yapılmış olan kemik dokusunun yıkılarak aynı anda yeni kemik dokusunun yapımı ile kemik büyümesi gerçekleşir. Büyüme gerçekleşirken kemik yapım hızı, yıkım hızından daha fazladır ve kemiğin şekli de korunmaktadır [19]. Bu kemik şeklinin korunması, periostun bir yerinde apozisyon ve buna karşıt olarak başka bir yerinde rezorbsiyonla sağlanmaktadır [41].

Kemik, karşılaştığı farklı kuvvetlerin etkisiyle içyapısını yeniden şekillendirebilir. Buna en güzel örnek ortodontik apareylerdir. Kuvvetin çektiği yerlerde kemik yapımı, ittiği yerlerde kemik yıkımı olur. Bu şekil alma yeteneği

remodelasyon, tüm kemikler için geçerli olup hayat boyu devam etmektedir [19, 41].

2.7. Kemiğin Hücresel İşlevlerinde Etkili Lokal ve Sistemik Düzenleyiciler

Kemik yapımı, şekillenmesi, yeniden şekillenmesi ve tamiri gibi hücresel işlevlerin uyumlu bir şekilde yürütülebilmesi, çeşitli düzenleyici faktörlerle sağlanmaktadır. Sonuç olarak bütün kemik hücre işlevleri; sistemik hormonlardan lokal faktörlere kadar uzanan, farklı hücreler arasında düzenlemeleri sağlayan parakrin faktörler ile aynı hücreler arasında düzenlemeleri sağlayan otokrin faktörler tarafından düzenlenir. Sistemik hormonlar, kalsiyum düzeyinin dengelenmesi gibi tüm vücut seviyesindeki değerler doğrultusunda etkili olurlarken aynı zamanda hedef hücrelerden yerel düzenleyici faktörlerin üretimini kontrol ederler. Yerel düzenleyici faktörler ise sınırlı alanlarda işlevlerin kontrolünü üstlenirler.

2.7.1. Lokal Düzenleyiciler

Prostaglandinler

Bir siklopenton veya siklohekzan halkasına bağlı 20 karbon atomlu karboksilik asit türevidir. Yapılan in vitro çalışmalarda kemik emilimi ve osteoklast aktivitesinde artış yönünde etki göstermiştir [49].

Büyüme Hormonu

Somatotropin hormon, tek zincirinde 191 aminoasit içeren küçük bir protein molekülü olup büyüme yeteneğine sahip tüm dokuların büyümesini sağlar. Ayrıca mitoz bölünmeyi uyarak da hücre sayısını artırır, kemik büyüme hücrelerinin ve ön kas hücrelerinin farklılaşmasını sağlar.

İskelet sisteminde ise, kondrosit ve osteojenik hücrelerin protein depolamasını sağlar, bu hücrelerin çoğalma hızını artırır, kondrositlerin osteojenik hücrelere dönüşümünü sağlayarak yeni kemik yapımını sağlar. Ayrıca karaciğerde

somatomedinlere dönüşerek kemik büyümesinde hızlandırıcı etkiye sahip proteinlerin oluşturulmasını tetikler [50].

Kemik Morfogenetik Proteinler (BMP)

BMP'ler geniş bir büyüme faktörü ailesi olup, kültür ortamında fibroblastları dönüştürme yeteneklerinden dolayı Transforming Growth Factor (dönüştürücü büyüme faktörü, TGF) adlı gruba dahil edilirler. 20'ye yakın protein içerirler [51, 52].

BMP'ler organizmada değişime uğramadan saklanan özgün yapılardır. Bağ dokusu hücrelerinin proliferasyonunu sağlarlar. Büyüme faktörleri arasında bağ dokusu hücrelerini kemik hücrelerine dönüştürebilen tek morfojendir. TGF β , IGF (Insulin-Like Growth Factor), FGF (Fibroblast Growth Factor), damar endotel büyüme faktörü gibi diğer büyüme faktörleri de proliferasyonu uyarır. BMP sinyal mekanizması, sistemin içerisinde bulunan birden fazla molekülün birbiriyle çapraz haberleşmesini içeren bir durumdur [52, 53].

Diğer Lokal Faktörler

a. Polipeptid yapıda olanlar

- Ekstrasellüler : (EGF, TGF, PDGF, vb)
- İntrasellüler : (lenfosit, makrofaj, osteoblast kökenli olabilirler)

b. Nonpolipeptid yapıda olanlar

- Florid (kemikte hidroksil iyonları ile yer değiştirerek florohidroksiapatit kristalleri oluşturur, kalsiyumun çözünürlüğünü azaltır.)
- Bisfosfonat (osteogenezi inhibe ederek matriks oluşumunu azaltırlar)
- Adenozinler
- Fosfat

- Pirofosfat [54]

2.7.2. Sistemik Düzenleyiciler

Çeşitli hormon ve bileşikler, reseptörler aracılığıyla hedef hücrelere etki ederler. Bunlardan bazıları; parathormon, kalsitonin, vitamin D, glukokortikoidler, cinsiyet hormonları, tiroit hormonları, vitamin A ve vitamin K gibi maddelerdir.

Paratiroid Hormon (PTH) ve Kalsitonin

PTH, kemik ve böbrekler üzerinde etkili olan, plazma kalsiyum seviyesini düzenleyen bir hormondur. Kemik remodelasyonunu uyaran PTH'ın etkilediği ana hücre osteoblastlar olmasına rağmen kısmen osteoklastları da etkileyerek kemik üzerinde katabolik etki yapar. Hücresel düzeyde PTH, kemik iliği kültürlerinde osteoklast oluşumunu arttırmakta, metalloproteinaz matriks oluşumunu uyarmakta, osteoblastik hücrelerde tip I kollajen açığa çıkmasını engellemektedir. PTH'ın osteoblastlar üzerindeki anabolik etkisi, apoptozisi baskılamasıdır. Bu etki, osteoblastların farklılaşmanın hangi evresinde olduğuyla ilgilidir.

Kalsitonin, fizyolojik olarak kemik emilimini geçici olarak baskılar. Olgun osteoklastlar üzerinde, osteoklastik aktivitelerini engelleyici bir etki gösterir [53].

Steroid Reseptörleri, Glukokortikoidler, Östrojen ve Androjen

Hücre çekirdeğinin steroid reseptörlerine ait uzantılar yağda çözünen maddeler olup hücre çekirdeğine taşıyıcı proteinler ile getirilir.

Glukokortikoidlerin kemik rezorpsiyonunu baskıladığı, PTH ve IGF-1 gibi hormonların etkinliğini arttırdığı bilinmektedir. Glukokortikoidlerin aktif osteoblastlar üzerindeki etkilerinin çoğu engelleme yönündedir. Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda glukokortikoidlerin osteoblastlarda apoptozise neden olduğu, sert dokuda yapısal ve hücresel düzeyde belirgin dağılmaya yol açtığı gösterilmiştir [53].

Kemik kütlesinin korunmasında etkili olan östrojenlerin, in vivo çalışmalarda kemik yapımı ve yıkımı üzerinde engelleyici yönde etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Androjenlerin büyüme gelişme döneminde kemik büyümesi üzerinde arttırıcı yönde bir etkisinin olduğu, eksikliği durumunda kemikte rezorptif aktivitenin arttığı tanımlanmıştır. Osteoblastik hücreler yapısında, östrojen reseptörlerinin yanı sıra androjen reseptörleri içerirler. In vivo çalışmalarda, östrojen düzeyindeki azalmasının IL-1 ve IL-6 başta olmak üzere, emilimi tetikleyen sitokinlerin üretiminde belirgin artışa yol açtığı gözlenmiştir. Östrojenlerin TGF üretimini uyarak osteoklastların apoptozisinde artışa yol açtığı da düşünülmektedir [52, 55].

2.8. Kemik Greftleri

Diş kayıpları sonrasında, çoğunlukla çeşitli seviyelerde kemik rezorbsiyonu da görülür. Diş kaybını takiben kemikte oluşan yeniden şekillenme sürecinde alveolar krette oluşacak atrofi kaçınılmazdır. Bu bölgelerin rekonstrüksiyonunu sağlamak için yerleştirilmesi gereken greftlerin amacı, mevcut defekti onararak alıcı bölgedeki dokuları sağlamlaştırmaktır. Kemik dokusu vücutta en sık transplante edilen dokudur. Atrofi, yaralanma, konjenital malformasyonlar ya da tümör cerrahileri sonrası oluşan defektlerin tamirinde kullanılan kemik greftleri 4 ana gruba ayrılır [56].

2.8.1. Otojen Greftler

Donör ve alıcının aynı birey olduğu greft tipidir. Yapısındaki canlı hücreler sayesinde osteojenik etkiye sahip olan tek greft materyali olması nedeniyle altın standart olarak kabul görmüştür. Zamanla bu osteojenik etki kaybolur, ancak bu sefer de osteoindüktif ve osteokondüktif etkileri ortaya çıkar. Aynı bireylerde transplantasyon yapıldığı için doku uyumluluğu sorunu bu greft türünde bulunmamaktadır. Osteojenik hücreler bulundurması ve immünolojik reaksiyon oluşturmaması nedeniyle en avantajlı greft çeşidi olarak gösterilmektedir. Ancak verici bölgede ikinci bir operasyon sahası oluşturma gereksinimi, uzun süreli

postoperatif ağrı ve hareket kaybı görülebilmesi ve bakım süresinin uzunluğu gibi dezavantajları da vardır [11].

Ağız İçi Otojen Greft Kaynakları

Otojen kemik grefti sağlamak amacıyla ağız içinde donör olarak kullanılabilecek bölgeler tercih edilme sıklığına göre; mandibular simfiz, yükselen ramus, korpus, koronoid proses, maksiller tüber bölgesi, maksiller sinüs duvarı ve zigomatik buttress sayılabilir [11, 56].

Mevcut dezavantajları elimine etmek amacıyla ağız içinden partiküler greft materyali elde etmek için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Özel olarak tasarlanmış aletler, ferzleme sırasında oluşan kemiği toplayabilme yeteneği olan aspirator uçları bunlara örnek olabilir. Bu yöntem ile daha kolay otojen kemik grefti elde edilir ve hasta morbiditesi azdır. Greftlenecek alanın hacminin küçük olduğu durumlarda daha komplike ekstraoral girişimlere gerek duyulmadan kolay uygulanan bir yöntemdir. Cerrahi sahaya yakın bölgelerden elde edilebilmesi, yapısında canlı kemik hücrelerin bulunması da avantajlarındandır.

Bunun yanında mikrobiyolojik kontaminasyon riski bulundurması, ikinci bir cerrahi sahaya ihtiyaç duyulması, donör alanda enfeksiyon, morbidite riski taşıyan başka bir defekt oluşturma gereksinimi, sınırlı miktarda greft almanın mümkün olması, diş köklerinin yaralanma riski ve duyuşal sinir yaralanmaları riski ise ağız içi otojen greftlerin dezavantajlarındandır [11].

Ağız Dışı Otojen Greft Kaynakları

İntraoral alanlardan yeterli miktarda greft sağlamanın mümkün olmadığı daha komplike vakalarda, kalvaryum, iliak krest, tibia, fibula ve kostalar, ekstraoral donör saha olarak kullanılabilecek bölgelerdir [56].

Vaskülerize olmayan serbest otojen kemik greftleri kortikal ve kansellöz tipte alınabilirler. Kortikal greftler dayanıklı, sert bir yapı oluşturarak formun devamlılığını sağlar. Horizontal veya vertikal olarak alveoler sırtta kaybın mevcut olduğu

durumlarda onlay greftlemede, kemik tabakalarının arasına inley yerleştirilerek fasiyal kontürün düzeltilmesinde kullanılabilirler [11]. Kansellöz greftler ise hem osteoblastlara dönüşebilen canlı hücrelere sahiptirler, hem de osteogenezi indüklemeye kapasitesine sahiptirler. Kortikal greftlere göre daha çabuk revaskülarize olurlar ve daha geniş kullanım alanına sahiptirler. Kullanım alanları arasında diş çekim soketleri, maksiller sinüs augmentasyonları, alveoler yarıkların onarımı sayılabilir. Bu greftlerin dezavantajı; mekanik desteği sağlayamamalarıdır [57]. Bilinen en verimli kansellöz kemik grefti kaynağı anterior veya posterior iliak krestten alınan kemik greftidir. Bunun yanında kortikokansellöz kemik greftleri de geniş kullanım alanlarına sahiptirler. Kortikokansellöz greftlerin, kortikal greftlere yakın mekanik sağlamlık göstermeleri ve osteogenezise katkıda bulunmaları gibi avantajları vardır. Bu tip greft genel olarak, kosta veya ilium kaynaklıdır. Ancak, bu iki bölgeden elde edilen kortikokansellöz greftler arasında da farklılıklar olabilmektedir [58].

Ayrıca embriyolojik olarak endokondral kemikleşme orjinli olan bu greftler, daha hızlı rezorbe olurlar. İntramembranöz orjinli olan kemik greftleri ise, çene kemiklerine benzer embriyolojik özelliklerinden dolayı, endokondral orjinli kemik greftlerine göre daha az oranda rezorbe olurlar [59].

2.8.2. Allogreftler

Allojenik greftler, aynı türden farklı genotipe sahip bireylerden elde edilen greft materyalleridir. Genellikle kadavralardan elde edilirler ve uygun işlemlerden geçirilerek çeşitli şekillerde ve boyutlarda hazırlanıp kemik bankalarında depolanırlar.

İnsanlarda kullanılan allojenik kemik greftleri farklı bir insandan elde edilen osseoz transplante dokulardır. En önemli avantajı ise cerrahi sırasında donör alan gereksinimini ortadan kaldırmasıdır [60, 61].

Hazırlanış şekillerine göre üç tip allogreft vardır. Bunlar;

1. Dondurulmuş kemik (DK)
2. Dondurulmuş - kurutulmuş kemik (DKK)
3. Demineralize dondurulmuş – kurutulmuş kemik (DDKK)

DK, alıcı dokuda antijenik cevap oluşturma ve hastalık taşıma gibi risklerden dolayı oral cerrahide nadiren kullanılır.

DKK allogreftlerde, greft tüm süreç boyunca sıvı faz olmaksızın düşük sıcaklıkta liyofilizasyonla kurutulur. DKK; düşük antijen aktivitesi, yüksek kollajen miktarı ve kortikal kemik parçaları içeriği nedeniyle tercih edilebilir greftler arasında yer almaktadır.

DDKK allogreftleri, konağın farklılaşmamış mezenşimal hücreleri üzerinde etki göstererek osteoindüksiyon ile kemik rejenerasyonu sağlarlar. Ayrıca konak kemik için matriks fonksiyonu görerek de osteokondüktif etki yaparlar. DDKK için “Demineralize kemik matriksi (DKM)” terimi de tercih edilmektedir [62, 63].

Allojenik kemik greftlerinin genel olarak avantajlarını sıralayacak olursak;

- Otojen kemik grefti elde edilmesi sırasındaki morbiditeyi önler.
- Otojen greftlerin yetersiz kaldığı, vaskülarize flep düşünülmeyi büyük kemik kayıplarında yeterli miktarda greft materyali sağlayabilir.
- Otojen kortikal greftlere göre daha büyük miktar ve değişik formlarda allojen kortikal kemik sağlayabilir.
- Blok, öğütölmüş granöl, macun, enjekte edilebilen olarak farklı şekillerde üretilebilmesiyle kullanım kolaylığı sağlar ve operasyon süresini kısaltır [64-66].

2.8.3. Ksenogreftler

Heterojen greft sınıfına dahildirler. Alıcı canlıdan farklı bir türde canlıdan elde edilen greft materyalleridir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik defektlerinde, greft gerektiren çeşitli osteotomilerde, dental implantolojide maksiler sinüs augmentasyonlarında kullanılmaktadır. Konak immün cevap oluşturma riski, otojen greftlerle kombine kullanılmasının önerilmesi, greft rezorpsiyon hızının yavaş olması dolayısıyla kemik dokusu ile yer değiştirmesinin de yavaş olması gibi dezavantajları da vardır.

Ksenojenik kemik greftleri memeli kemiklerinden veya mercan dış iskeletinden elde edilebilmektedir. Domuz, fare kaynaklı farklı ksenogreftler olsa da sığır kaynaklı ksenogreft en çok tercih edilen heterojen greft türüdür. 1960'lı yıllarda popüler olan bu greftler, sığır kaynaklı kemik transplantasyonu sonrası rapor edilen bazı otoimmün hastalıklar nedeniyle kullanımı sınırlandırılmıştır. Ancak 1990'lı yıllarda kemik partiküllerinin deproteinize edilmesinin gerçekleştirilmesiyle antijenik özelliği minime indirilerek tekrar sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Bu deproteinizasyon ile kemiğin organik komponenti tamamen uzaklaştırılmış olup, osteoindüktif yeteneğini kaybederek osteokondüktif etki gösteren bir greft materyali elde edilmiştir. Sığır kemiği organik komponentlerinden tamamen ayrıldıktan sonra kalsiyum matriks, gama radyasyon ile sterilize edilerek greft kullanıma hazır hale getirilir. Bu greft, alıcıda herhangi bir immün reaksiyona sebep olmayacak şekilde hazırlanır [11, 67, 68].

Ksenogreftlerle yapılan çalışmalarda greftin osteotomi alanlarında başarılı sonuçlar verdiği, ancak yetersiz mekanik dirençleri ile posttravmatik deformite ve hipoplastik alan düzeltmelerinde yetersiz kaldıkları gösterilmiştir [58]. Greft genellikle granül halinde hazırlandığından, malzemeyi istenilen bölgede tutabilmek için genellikle bir bariyer membrana ihtiyaç duyulmaktadır.

Sığır kaynaklı ksenogreftler hayvan çalışmalarında değişen oranlarda rezorpsiyon göstermişlerdir. Klinik çalışmalar ile hayvan çalışmalarında saptanan bu

rezorbsiyon oranları arasında gözlenen farklılıkların da ürünün imal yöntemindeki değişikliklerden kaynaklandığı bilinmektedir [69, 70].

2.8.4. Alloplastlar

Tamamen sentetik olarak üretilen kemik rejenerasyon materyalleridir. Biyouyumlu olan bu materyaller osteokondüktif yeteneğe sahiptirler.

Seramikler

Sentetik Hidroksiapatit

Hidroksiapatit (HA) bir seramiktir ve birkaç farklı tipte bulunabilir. Bunun belirlenmesi için internal gözenek çapı referans olarak kabul edilmiştir. Poröz formdaki HA, hızlı bir şekilde greft içine doğru fibrovasküler doku büyümesine izin verir ve böylece greft stabilize olarak mikrohareketliliği önler. Çeşitli kıvam ve şekilde üretilebilen HA, kemik defekti onarımı, diş çekimi sonrası alveolar sırt korunması, alveolar sırt augmentasyonları ve maksiller sinüs augmentasyonlarında kullanılmaktadır. HA kullanımı, donör saha gereksinimini ortadan kaldırırsa da granüler migrasyon ve tamamlanmayan rezorbsiyon gibi uzun dönemli problemlere yol açtığı bilinmektedir [11, 71].

Trikalsiyum Fosfat

HA gibi Trikalsiyum Fosfat (TCP) da biyoabsorbe olabilen ve biyouyumlu bir greft materyalidir. Ancak uygun olmayan porözitesi, küçük gren boyutu ve 6 hafta gibi kısa bir zamanda çözünmesi nedenlerinden dolayı diğer alternatifleri arasında güçsüz kalmıştır. TCP, bir kalsiyum fosfat formudur ve genellikle β -TCP şeklinde kullanılır. Biyouyumlu ve biyoçözünür olduğu kanıtlanmış bu materyalin ticari olarak macun, partikül ve blok formları vardır. Kimyasal kompozisyonu ve kristal yapısıyla kemiğin mineral yapısına benzerlik gösterir. Diğer greft materyalleri ile benzer iyileşme aşamalarını takip eder, ancak kemiğin mikromimari yapısına uyum sağlamakta yetersizdir. Bilinen dezavantajları arasında tahmin edilemeyen ve hızlı rezorbsiyon yer alır [11, 72].

Bioaktif Cam

Restoratif diş hekimliğinde kullanılan cam iyonomer simanlarda da bulunan silika-fosfat zincirleridir. Kemikle kimyasal bir bağ oluşturma özelliği bulunmayan bu greft materyali; kalsiyum tuzu, sodyum tuzu ve silikadan oluşur. Yapısal destek bakımından HA'ten daha güçlüdür ve uygulandığı zaman kollajen, büyüme faktörleri ve fibrine bağlanarak osteojenik hücrelerin proliferasyonunu sağlayan poröz bir matriks oluşturur [11, 66]. Bu özelliğiyle osteoindüktif yeteneği, çeşitli sayıda hayvan çalışmalarıyla gösterilmiştir [73]. Piyasada kullanılmak üzere granül, blok ve çubuk formları; ayrıca rezorbe olabilen ve rezorbe olmayan çeşitleri bulunmaktadır [74].

Klinik olarak periodontal defektlerin onarımında ve alveolar kemik hacminin korunması amacıyla kullanılmaktadır. Ancak diş kaybı sonrası yerleştirilen bu materyalin uygulanması, tamamlanmayan rezorbsiyonları nedeniyle uygulanacak dental implantı da riske atmaktadır [75]. Ayrıca bu malzemenin antibiyotik ya da başka herhangi bir madde ile karıştırılması önerilmemektedir [64, 76].

Kalsiyum Karbonat

Mercan kaynaklı olan bu materyalin rezorbsiyonu yavaştır. Ayrıca kemik formasyonu için yüzey transformasyonuna ihtiyaç duymadığından dolayı daha hızlı kemik formasyonu sağlar. Kalsiyum karbonat greftler hemostatik özelliğe sahiptirler ve uygulandıkları bölgeden kolayca uzaklaştırılmazlar. Bunun yanı sıra hassas bir yapıdadırlar ve iyileşme periyodunda migrasyona uğrayabilirler [11].

Kompozit Kopolimerler

Doğaları gereği sayısız konfigürasyonda şekillendirilebilen polimerlerden poliglikolik asit (PGA) ve polilaktik asit (PLA) kombinasyonları yıllardır rezorbe olabilen sutureların üretiminde kullanılmaktadır. Yine son zamanlarda rezorbe olabilen fiksasyon malzemelerinde de kullanılmaya başlanmıştır [11, 77]. Bu materyaller yüksek molekül ağırlığına sahiptir ve 3 yıla varan uzun yıkılma süreleri

vardır. Bu süre üzerinde hastanın yaşı ve immünitesi, doku toleransı, defektin lokalizasyonu ve ekspoz yüzeyin konfigürasyonu gibi özellikler etkilidir.

Tıpkı bioaktif camlar gibi bu materyalin de çekim soketini koruma amaçlı PLA'dan yapılmış kök formu ürünleri mevcuttur. Yine bioaktif camlarda görülen tamamlanamayan rezorbsiyon nedeniyle sonradan yapılacak olan dental implantı riske atma gibi bir dezavantajı vardır [11]. Son yıllarda PGA ve PLA'in düşük dansiteli kopolimerleri üretilmiş olup bu materyallerin degradasyon süresi 3 ile 8 ay arasında değişmektedir. Üç duvarlı osseoz defektler için toz formu, yine iki veya üç duvarlı defektler için üretilmiş sünger formu bulunmaktadır. Jel formu ise derin defektlerde kullanılmaktadır.

Rezorbe olmayan kopolimer olarak, polimetil metakrilat (PMMA) ve polihidroksietil metakrilat (PHEMA) karışımı materyal bulunmaktadır. Bu karışım radyoopasiteyi sağlamak amacıyla az miktarda baryum sülfat da eklenmektedir. Bu materyalin kimyasal ve biyolojik özelliklerinden dolayı aynı zamanda bir membran vazifesi de görmesi, dolayısıyla başka herhangi bir membran materyalinin kullanımına ihtiyaç duyulmaması bir avantajdır [73, 78].

Kalsiyum Sülfat

Paris alçısı veya Gypsum adıyla da anılan, ilk olarak 17.yüzyılda sert bandaj olarak kullanılmış, daha sonraları 1892 yılında Dressmann tarafından ilk kez kemik içi defektlerin onarımında kullanılmış materyaldir. Medikal olarak kullanılan kalsiyum sülfat kristalize yapıdadır ve yavaş çözünürlüğe sahiptir. Yerleştirildiği bölgenin konumuna ve hacmine göre yaklaşık 30-60 günde rezorbe olabilmektedir. Avantajlarının başında, enfekte bölgelere de uygulanabilmesi, biyoabsorbe olabilmesi ve ucuz bir materyal olması gelmektedir. Ancak az sayıda da olsa gösterdiği alerjik ve enflamatuvar reaksiyonlar da rapor edilmiştir [72].

2.9. Kemik Greftlerinin İyileşme Mekanizması

Kemik grefti iyileşmesinde meydana gelen rejenerasyonun 3 farklı çeşidi vardır. Bunlar; osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyondur.

Osteogenezis, greft materyali içerisindeki canlı osteoblastik hücrelerin yeni kemik formasyonu oluşturması ile olur. Bu özelliğe sahip tek greft materyali otojen kemik greftidir. Ancak bu greftlerin de osteojenik özelliklerini 5 gün içerisinde kaybettikleri, osteoindüktif ve osteokondüktif etkilerinin ise devam ettiği bilinmektedir [79, 80]. Otojen greftlerdeki bu osteojenik yeteneğini sağlamak için greftin alındıktan hemen sonra kullanılması veya steril salin içinde bekletilmesi gerekmektedir. Distile su kullanımı, hipotonsitesi nedeni ile hücre ölümüne yol açacağından dolayı kontrendikedir. Kansellöz kemik, osteogenetik özellik bakımından taşıdığı yüksek konsantrasyonda canlı kemik hücresi bakımından en etkili kemik tipidir [81].

Osteoindüksiyon, farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin uyarılması sonucu kemik üreten osteoblastların oluşumu ile açıklanmaktadır. Canlı kemikte bulunan büyüme faktörleri aracılığı ile farklılaşmamış immatür hücrelerin osteoblastlara veya kondroblastlara dönüşerek osteogenezi başlatmasıdır. Bu olay, kemik matriksinden fraktür, yaralanma, vs. gibi olaylar sonrasında çıkan bazı indüksiyon ajanları sayesinde olur. Bir uyarıyla farklılaşmamış hücreler preosteoblastlara dönüşmektedir. Osteoindüktif etkiyi göstermek amacıyla kas dokusu gibi heterotopik bir alanda uyarı sonucu kemik oluşumu oluşturularak indüktif etki gösterilmiştir. Ancak kemik gibi ortotopik bir alanda bu etkinin osteoindüksiyondan veya osteokondüksiyondan kaynaklandığını ayırt etmek oldukça zordur [82].

Urist ve ark. , çözünür bir glikoprotein olan BMP'yi izole ettikten sonra bu glikoproteinin TGF- β ailesine ait bir büyüme faktörü ve indüktif bir ajan olduğunu tanımlamışlardır. Ayrıca BMP'nin en az 15 farklı tipi olduğunu ve bunlardan BMP-2 ve BMP-7'nin en önemlileri olduğunu göstermişlerdir. Travmayı takiben veya yeniden şekillenme sürecinde doğal olarak salınan BMP'nin osteoindüktif etkili bir

materyal olduğu, kıkırdak formasyonu sonrasında endokondral kemikleşme ile yeni kemik oluşumunu indüklediği, günümüzde de kesin olarak kabul edilmiştir [82, 83].

Osteokondüksiyon terimi, kemiğın büyüebileceği bir yüzey üzerine ilerlemesi olarak açıklanır. Bu biyouyumlu materyaller üzerine, porlarına, kanallarına veya tübüllerine kemiğın büyümesine izin verecek yapıdadır ve matriks oluşturarak osteogenezi desteklerler [82]. Osteokondüktif materyaller direkt kemik oluşumuna katılmadan ancak rehberlik görevi yaparak osteogeneze katkıda bulunur. Yalnızca kemik ve farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin varlığında kemikleşebilen bu greft materyalleri cilt altı gibi ektopik bir alana yerleştirildiğinde osteogenez olmaz, greft ya rezorbe olur yada değişmeden kalır [81]. Bu özellikteki greftlere örnek olarak alloplastlar gösterilebilir. Yine ksenogreftlerde de osteokondüksiyon yeteneği bulunmaktadır [84].

Tüm greft materyalleri, doğal kemiğın yeniden şekillenmesinde olduğu gibi yer değıştirme işlemi ile yeni kemik oluştururlar. Kemik grefti yerleştirildikten hemen sonra iyileşmenin ilk aşamasında yeniden şekillenme ve rezorbsiyon başlar. Graft hacminde oluşacak bu kayıp; kemik greftinin boyutuna, kalitesine, alıcı sahadaki kemik kalitesine, biyomekanik özelliklere ve greftin çevre kemiğe fiksasyon derecesine bağlıdır [56, 81].

Graft materyalinin iyileşme süresi ve şekli, greft tipine göre değışiklik gösterir. Aynı zamanda alıcı yataktaki vasküler destek ve greft hücrelerinin sağ kalımı da iyileşmeyi doğrudan etkileyen faktörler arasındadır. Morfolojik olarak kortikal kemik *Haversian* ve *Volkman* kanallarının etrafında sıkı yapıda sirküler, paralel ve interstisyel kemik lamellalarından oluşur. Spongioz kemik ise poröz yapıdadır ve çubuk, plaka ve yay görünümlü, içerisinde kemik iliği bulunan ve trabekül denilen bir kafesle çevrili olarak görülür. Spongioz kemikte kortikal kemiğe oranla, alıcı bölgeden hücre ve damarların ulaşabileceği daha geniş bir yüzey alanı vardır. Böylece vasküler desteğın greft içinde organize olması kortikal kemiğe göre % 30 daha hızlı şekilde gerçekleşir [85].

2.9.1. Serbest Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Kemik rejenerasyonunun ilk fazı olan birkaç hafta boyunca greft içerisindeki transplante edilen hücreler prolifer olurlar ve yeni osteoid oluşturlar. Greft içerisindeki hücrelerin beslenmesi ilk 3-5 gün boyunca plazmatik difüzyon ile gerçekleşirken, beşinci günden itibaren çevre yumuşak doku ve kemikten, greft içine kapiller büyüme gerçekleşir. Serbest kemik greftleri kansellöz, kotikokansellöz veya kortikal olabilirler. Greftlerin iyileşmesi de bu greft türüne göre farklılık göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda da çene ucundan alınan greftlerin kalın kortikal tabaka ve az kansellöz kemik içerdiği, bu yüzden iliak bölgeden alınan greftlere göre daha yavaş rejenerasyon gösterdiği görülmüştür. Ayrıca pelvik kemik greftlerinin de encondral kemikleşme ile oluşmasına rağmen rejeneratif paternlerinin farklı olduğu gösterilmiştir. Anterior pelvis yüksek oranda kortikal kemik içerip bu yüzden daha az osteoindüktif özellik gösterirken, posterior pelvis bölgesi spongios içerik bakımından daha zengin ve daha yüksek osteoindüktif özellik göstermektedir [86, 87].

Kansellöz Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Cerrahi operasyonu takiben greft içerisinde ve çevresinde oluşan hemoraji ile dokudan ve kanın hücresel bileşenlerinden çeşitli mediatörler salınarak enflamatuvar hücrelerin, fagositlerin ve mezenşimal kök hücrelerin kemotaksis ile migrasyonu uyarılır. Bu uyarının tipine göre de, mezenşimal kök hücreler; endotelyal hücrelere, osteoblastlara ve fibroblastlara farklılaşıp çoğalarak yeni vasküler damarların ve bağ dokularının oluşumunu sağlar. Greftteki ve alıcı yataktaki bu vasküler yapıların anastomozu ile birkaç saat içerisinde revaskülarizasyon sağlanmış olur ve birkaç hafta içerisinde de tamamlanır. Kortikal greftlerden farklı olarak osteoklastların neden olduğu rezorbsiyon olmadan kemik formasyonu oluşur. Osteoblastlar eski trabeküllerin yüzeyinde sıralanarak osteoid oluşumunu başlatırlar ve bu doku daha sonra mineralize olarak immatür kemik yapısını oluşturur. Son yeniden şekillenme aşamasında ise yeni oluşan immatür kemik ile nekrotik kemik, osteoklastlar tarafından rezorbe edilir ve olgun lameller kemik ile yer değiştirir [85].

Kortikal Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Kortikal kemik avaskülerdir ve üzerinde çok az sayıda canlı hücre barındırır. Greftin başlangıç iyileşme fazı, kansellöz kemik grefti ile aynıdır. En önemli fark revaskülarizasyon derecesindedir. Kortikal kemik greftlerinde revaskülarizasyon süresi iki kat daha uzun sürer ve yaklaşık 2 ayda tamamlanır. Bu fark 2 greft materyali arasındaki yapısal farklılıktan kaynaklanmaktadır. Kortikal kemikte ilk aşamada vasküler penetrasyon, osteoklastik aktiviteyi takiben, varolan *Haversian* ve *Volkman* kanallarına doğru olur. *Haversian* kanalları rezorbsiyonla birlikte genişlerken yeni kemik apozisyonu başlar. Kortikal kemik grefti zamanla rezorbe olarak yerini yeni oluşan kemiğe bırakır [85].

2.9.2. Vasküler Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Greft, serbest vaskülarize ve pediküllü greftler gibi internal vasküler desteğe sahipse, beslenememe gibi bir sorunu olmayacağından nekrotik kemik oluşmaz. Bu yüzden de greftin alıcı sahaya birleşmesi çok daha kısa sürede gerçekleşir. Greftin iyileşmesi kemik fraktürü iyileşmesindekine benzer şekilde gerçekleşir [85].

2.9.3. Allogreftlerin ve Alloplastların İyileşmesi

Allogreftler immünolojik reaksiyonlara neden olmamak ve greftin kabul edilmemesini önlemek amacıyla derin dondurma, dondurup kurutma yoluyla veya kloroform-metanol, parasetik asit, hidrojen peroksit gibi kimyasallarla birtakım işlemlerden geçirilirler. Günümüzde ağız cerrahisinde en sık kullanılan allojenik greftler, zayıf mekanik özelliklerine rağmen, demineralize veya mineralize dondurulmuş kurutulmuş kemiktir. İyileşme prensipleri otojen greftlerle benzerdir ancak temel farklılık, bu greftlerin canlı hücre içermemesinden kaynaklanır. Kemik formasyonu daha geç olur ve alıcı yatakla daha az birleşme gerçekleşir [85].

Greftin rezorbsiyon süresini, greftin porözitesi, hacmi, partikül büyüklüğü, kompozisyonu, ortamın pH'ı gibi çeşitli faktörler etkiler. Örneğin; HA ile greftlenen büyük defektlerin kemik ile yer değiştirmesi, küçük defektlere kıyasla diğer tüm

faktörler eşit olduğunda daha uzun zaman alır. Dens, kristalize HA partikülleri, stabil pH varlığında ömür boyu rezorbe olmadan kalabilirken HA'in amorf formu küçük hacim ve boyutta ise birkaç ay içerisinde rezorbe olabilir. Ksenogreftler gibi mikroporöz özellikteki materyaller rezorbsiyon zamanına göre orta sırada yer alırlar. Ancak sinüs augmentasyonu gibi yüksek hacimlerde kullanıldıkları durumlarda, tamamen rezorbe olmaları 1 yılda fazla zaman alabilir [81, 88].

Burada beklenen iyileşme, *creeping substitution* olarak bilinen, greft ile temas ettiği kemik yüzeylerinden başlayarak tabakalar halinde ilerleyen, greft materyalindeki rezorbsiyon sonucu oluşacak boşlukların yeni kemik dokusu ile dolmasıyla görülen bir iyileşmedir.

2.10. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunda Kullanılan Bariyerler

Periodontolojide, geleneksel tedavi yöntemleriyle periodontal dokularda kemik rejenerasyonunun sağlanamayacağı, iyileşmenin uzun bağlantı epiteliyle sonuçlanacağı bilinmektedir. Rejenerasyonu önleyen olayın da epitel hücrelerinin çok daha hızlı proliferasyon olarak, bağ dokusu ve alveol kemiği ile kök yüzeyi arasını doldurması olarak gösterilmektedir. Aynı durum, oral cerrahi için de geçerlidir [89].

Başarılı bir kemik iyileşmesi veya yeni kemik oluşumu sürecinin önündeki en önemli engel, kemik dokusundan daha hızlı büyüyen yumuşak dokulardır. Defekt içine hızla büyüyen yumuşak dokular, osteogenezisi tamamen veya kısmen engelleyebilir [90]. Çeşitli hayvan ve insan modellerinde yapılan çalışmalar; mekanik bir bariyer kullanımının, yumuşak dokunun kemikleşme beklenen bölgeden uzak tutularak, rejenerasyonu arttırdığını göstermektedir.

2.10.1. Rezorbe Olmayan Rejeneratif Bariyerler

Rezorbe olmayan bariyerlerin daha sonra çıkarılması için ikinci bir cerrahi gerektirmesi, maliyeti ve tedavi süresini uzattığından sıklıkla tercih edilmezler. Aynı zamanda ikinci cerrahi sırasında iyileşmekte olan dokunun zarar görme riski de mevcuttur [91].

Genişletilmiş Politetrafloroetilen

Genişletilmiş politetrafloroetilen (ePTFE); teflon yapıda poröz bir bariyerdir. Farklı kemik defektleri için farklı şekillerde üretilen bu materyallerin yaka ve gövde kısımları farklı yapısal özellikte hazırlanabilir. Por çapları 0,2 – 5 µm arasındadır. İlk olarak 1984 yılında kullanılan bu materyal oral kaviteye ekspoz olması durumunda bile bütünlüğünü devam ettirir [92].

Nanopolitetrafloroetilen

Nanopolitetrafloroetilende sinterleme işlemi yapılmaz; bu da materyali daha esnek, manüplasyonu ve adaptasyonu daha kolay hale getirir. 0,2 – 0,3 µm'lik porlara sahiptir. Daha küçük porların, epiteliyal büyümeyi ve bakteriyel infiltrasyonu limitlediği düşünülmektedir [93].

Titanyumla Güçlendirilmiş PTFE

İki tabaka PTFE arasına yerleştirilmiş titanyumdan oluşur. Yüzey yapısı ve porları, bakteri geçişini ve tutunmasını engelleyecek şekilde tasarlanmıştır. Yumuşak dokunun defekt bölgesine migrasyonunu azaltarak bölgede kemik oluşumu ve yeni oluşan vaskülerize yapılara elverişli ortam sağlar. Bükülmeyecek kadar sert, ancak yumuşak dokuyu perfore etmeyecek kadar da esnek yapıdadırlar. Yumuşak dokunun çökmesini ve greft üzerine kuvvet gelmesini engellerler [91].

2.10.2. Rezorbe Olan Rejeneratif Bariyerler

Hayvan kaynaklı ya da sentetik polimerlerden üretilmiş rezorbe olan bariyerler yavaş hidrolize olurlar ya da enzimatik reaksiyonlarla çözünürler. Bu nedenle ikinci cerrahiye uzaklaştırılmaları gerekmez. Günümüze kadar sıçan ve sığır kollajeni, öküz peritonu, polilaktik asit, poliglikolik asit, vikril, yapay deri ve dondurulmuş kurutulmuş dura mater gibi değişik kaynaklardan elde edilmişlerdir.

Doğal Rejeneratif Bariyerler

Sığır veya domuzların Tip I veya Tip II kollajeninden hazırlanırlar. Tip I kollajen periodontal bağ dokuda bulunan temel bileşendir. Çapraz bağlı yapıda olan kollajen membranlar, hazırlanma şekline göre 4 - 40 hafta arasında rezorbe olurlar.

Epitelyal hücrelerin migrasyonuna izin vermezler, hemostaza katkıları vardır. Bağ dokunun ataşmanına ve platelet agregasyonuna izin vererek erken bir pıhtı formasyonu oluşumuna yardım ederler. Zayıf immünojenite gösterirler, ePTFE membranlara kıyasla daha az ekspozе oldukları görülür ve buna bağlı olarak enfeksiyon riskleri daha düşüktür [94-96].

Sentetik Rejeneratif Bariyerler

Laktik asit ve glikolik asidin polimerleri şeklinde bulunurlar. Bunların ester bağları 30 – 60 gün arasında çözünerek enflamatuvar reaksiyon oluşturabilme potansiyeli olan serbest asitleri ortaya çıkarırlar. Sentetik bariyerler de kollajen ve ePTFE bariyerler gibi başarılı klinik sonuçlar vermektedir [97, 98].

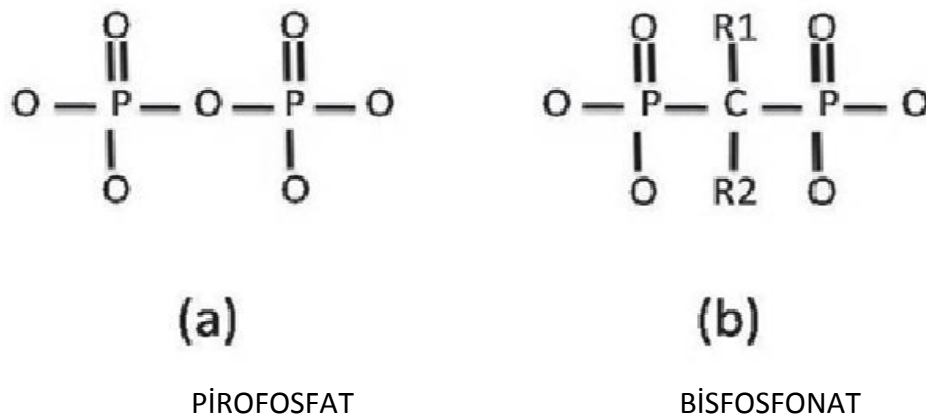
2.11. Bisfosfonatlar

Günümüzde kemik hastalıklarının tedavisinde sıklıkla başvurulanan ilaçlardan olan bisfosfonatların keşfi yaklaşık yüz yıllık bir geçmişe sahiptir. 19. yüzyıl ortalarında Alman kimyagerler Von Baeyer and Hoffmann tarafından üretilen bisfosfonatlar, ilk olarak endüstride kalsiyum tuzlarının petrol borularını kaplamasını engellemek için kullanılmışlardır. Ancak ticari amaçlı kullanımları 1960'lı yıllarda deterjanların içerisinde kullanılmaya başlaması ile olmuştur. Bisfosfonatların biyolojik özelliklerinin 1968'de rapor edilmesiyle birlikte klinik kullanımları gündeme gelmiştir ve ilk olarak böbrek taşı oluşmasını önlemek amacıyla kullanılmışlardır [99]. Daha sonraları ise 1971'de ilk kez Paget hastalığında kullanılmıştır.

2.11.1. Bisfosfonatların Kimyasal Yapısı

Kimyasal olarak bisfosfonatlar, pirofosfatların analoglarıdır. Pirofosfatlar bir oksijene bağlanmış iki fosforik asitten oluşmuş olup polifosfatların en basit şeklidir (Şekil 2.2-a). Bisfosfonatlar, pirofosfattaki oksijenin yerine karbon içerirler ve fosfor-karbon-fosfor yapısı ile kimyasal veya enzimatik yıkıma dirençli hale gelirler [100].

Bisfosfonatlar iki yan zincire sahiptirler. R^1 yan zinciri bileşiğin kemiğe bağlanma yetkinliğini etkiler, bu bir hidroksil grubu olduğunda bileşiğin kemiğe bağlanma yeteneği artar. R^2 yan zinciri ise bileşiğin antirezorptif gücünden ve yan etki profilinden sorumludur (Şekil 2.2-b). Etidronat ve klodronat klinik kullanıma giren ilk bileşikler olup etidronatta R^2 pozisyonunda metil, klodronatta ise bir halojen bulunur. Alendronat, pamidronat ve risedronat gibi daha yeni bisfosfonatlar R^2 pozisyonunda bir azot taşır.



Şekil 2. 2. Pirofosfat ile analoğu bisfosfonat arasındaki moleküler farklılık [101]

Bisfosfonatlar genel olarak üç grupta incelenmektedir. Bunlar;

- 1.kuşak bisfosfonatlar (etidronate, clodronate, tiludronate)
- 2.kuşak bisfosfonatlar (alendronate, ibandronate, pamidronate)
- 3.kuşak bisfosfonatlar (risedronate, zolendronik asit) dır.

Etidronatın sıçanlarda kemik rezorbsiyonunu inhibe etme gücü 1 olarak kabul edildiğinde, alendronatın 100-1000, zolendronik asitin ise 10000 olduğu bilinmektedir[100]. Etki güçlerine göre en düşükten en yükseğe; etidronat, klodronat, tiludronat, pamidronat, alendronat sodyum, risedronat, ibandronat ve zolendronat olarak sıralanabilirler. Etidronate ilk bulunan fakat şu an kullanımı yasaklanmış bisfosfonat türevi ilaçtır. Bulunuşunu takiben osteoporoz tedavisinde kullanılmıştır. Ancak kemik rezorbsiyonunu baskıladığı dozlarda mineralizasyonu da inhibe etmesi büyük bir sorun olarak ortaya çıkmıştır. 5 mg/kg/gün dozlarda kemik mineralizasyonunda fokal defektlere neden olabilmektedir. Daha yüksek dozlarda (≥ 10 mg/kg/gün) ise mineralizasyonu tamamen inhibe eder. Buna karşılık alendronat sodyumun kemik mineralizasyonunu baskıladığı doz, rezorbsiyonu inhibe ettiği dozun yaklaşık 1000 katıdır. Bu nedenle alendronat sodyum ile kronik tedavide osteomalazi gelişme riski söz konusu değildir [102].

Bisfosfonat grubu ilaçlar ayrıca nitrojen içeren (alendronat, risedronat, pamidronat, ibandronat, zolendronik asit) ve nitrojen içermeyenler (etidronat, klodronat) olarak da iki gruba ayrılır [103] (Tablo 2.3).

Tablo 2. 3. Bisfosfonatların ticari preparatlar şeklinde sınıflandırılması.

Jenerik	Doz	Formülasyon	Kullanım	Nitrojen	FDA Onayı
Alendronat	10mg 70mg	Oral Oral	Günlük Haftalık	+	1995
Risedronat	5mg 35mg	Oral Oral	Günlük Haftalık	+	1998
Zolendronat	4-5mg	IV	Aralıklı	+	2001
İbandronat	2-5mg 150mg 3mg	Oral Oral IV	Günlük Aylık Aralıklı	+	2003 2005 2006
Pamidronat	90mg	IV	Aralıklı	+	1991
Tiludronat	200mg	Oral	Aralıklı	-	1997
Etidronat	400mg	Oral	Aralıklı	-	1977

2.11.2. Bisfosfonatların Etki Mekanizması

Bisfosfonatların kemik rezorbsiyonu üzerine etkileri tam olarak bilinmemekle birlikte, çoğunlukla hücre mekanizmaları aracılığı ile açıklanmaktadır [104, 105]. İlk

önceleri bisfosfonatların kemik rezorbsiyonunu önleme etkisinin, kristal çözünürlüğüne fizikokimyasal etkisi ile hidroksiapatitlerin çözünmesini azaltmasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Günümüzde ise yapılan çalışmaların ışığında etki mekanizmaları detaylı bir biçimde ortaya konulmuştur.

Bisfosfonatların etki mekanizması “osteoklastlara etki ederek kemik rezorbsiyonunun azaltılması” olarak özetlenebilir. Bisfosfonatlar, fizyolojik dozlarda verildiğinde, kemiğe yüksek afiniteleri nedeniyle kemik matriksine kolaylıkla bağlanırlar [106, 107]. Hidroksiapatit kristallerine bağlanarak uzun süre inorganik yapıda kalırlar, tekrarlanan dozlarda da kemik yüzeylerinde tabakalar halinde birikirler.

Kemik rezorbsiyonunda rol alan hücrelerin başında gelen osteoklastlar da kemik yüzeyine tutunduktan sonra kemiği rezorbe ederken orada bulunan bisfosfonat moleküllerini hücre içine alır. Hücre içine alınan bisfosfonat bileşiği, bir dizi enzimatik reaksiyon sonucunda aktif osteoklastın yüzeyindeki girintili çıkıntılı yapıyı bozarak kemik yüzeyine tutunmuş olan aktif osteoklastın buradan kopmasına ve sonuçta fonksiyon görememesine yol açar. Kemik yüzeyinden ayrılan osteoklastlar zamanla apoptoza uğrar ve kemik rezorpsiyonu engellenmiş olur [108-110]. Kemik metabolizmasına, osteoklastların hem aktivitesini hem de sayısını azaltarak etki etmektedir. Bisfosfonatlar ayrıca osteoblastların osteoklastlara gönderdiği sinyalleri değiştirerek, osteoklastların etkinliğini dolaylı olarak da inhibe eder. Ayrıca osteoblastların osteoklastları rezorbsiyon yerine çeken ve onların ömrünü uzatan faktörün salınımını da inhibe eder.

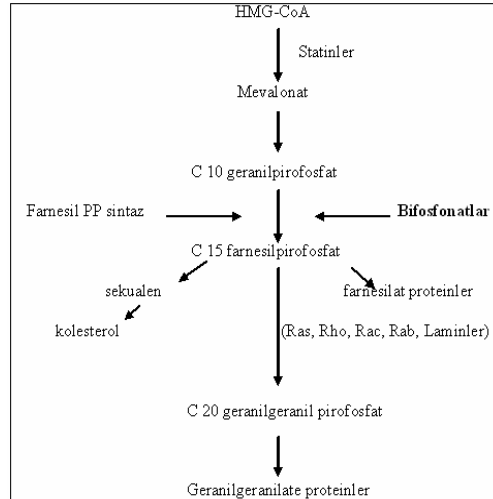
Doku düzeyindeki temel etki kemik yıkımının engellenmesine ikincil olan kemik döngüsündeki azalmadır. Kemik yıkımını engelleme etkisinin bir parçası olarak bisfosfonatlar yeni kemiğin yeniden yapılanma birimlerinin oluşma hızı olan aktivasyon sıklığını azaltırlar [104].

Hücresel düzeyde incelendiğinde bisfosfonatların etkisi beş mekanizma ile olmaktadır. Bunlar;

1. Osteoklast öncül hücrelerinin aktivasyonu ile öncül hücrelerin olgun osteoklastlara dönüşümünün engellenmesi,
2. Osteoklastların kemiğe kemotaksisi ve tutunmasının engellenmesi,
3. Erken apoptoz nedeniyle osteoklastların yaşam süresinin kısaltılması,
4. Osteoklast aktivitesinin inhibisyonu,
5. Kemik mineralinin çözünme hızının azaltılması [104, 105, 111].

Moleküler düzeyde, alkil zincirlerindeki nitrojen atomu, osteoklastlar üzerinde toksik etki yaratır veya osteoklastlardaki spesifik hücre içi mekanizmalara zarar verir [112]. Klodronat ve etidronat gibi nitrojen içermeyen bisfosfonatlar, osteoklastlar tarafından metabolize edilerek hidrolize olmayan ATP analoglarına dönüşürler. Sitotoksik olan bu metabolitlerin hücre içinde birikimi sonucunda osteoklast fonksiyonu inhibe edilir ve osteoklast apoptozisi gerçekleşir. Pamidronat, alendronat ve risedronat gibi nitrojen içeren bisfosfonatlar ise, nitrojen içermeyen bisfosfonatların aksine metabolize edilemez. Kolesterol ve izopentenildifosfat, farnesildifosfat (FPP), geranilgeranildifosfat (GGPP) gibi izoprenoid lipidlerin sentezinden sorumlu olan; dolayısıyla osteoklast fonksiyonunda önemli olan mevalonat mekanizmasını inhibe ederek etki gösterirler [113, 114].

FPP ve GGPP, osteoklast fonksiyonundaki düzenleyici proteinler olan Ras, Rho ve Rac gibi proteinlerin (*guanosine triphosphate-binding proteins*) prenilasyonu için gerekmektedir. Nitrojen içeren bisfosfonatların mevalonat mekanizmasındaki inhibisyonu sonucu hücre proliferasyonu, hayatta kalma süresi ve iskeletsel anizasyondan sorumlu olan bu sinyal moleküllerin prenilasyonu gerçekleşmediğinden osteoklast fonksiyonu engellenmekte ve osteoklastların apoptozu meydana gelmektedir [114, 115] (Şekil 2.3).



Şekil 2. 3. Bisfosfonatların mevalonat yolağı üzerine etkisi [116]

Bisfosfonatların kemik rezorbsiyonu ile ilgili birçok biyokimyasal etkileri tanımlanmıştır. Laktik asit yapımı ve proton birikiminde azalma, lizozomal enzim ve pirofosfataz inhibisyonu, prostoglandin sentezi ve IL-1 yapımının önlenmesi, membran geçirgenliğinde artış ve kalsiyum dengesinde değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir [117]. Bisfosfonatlar osteoblastların osteoklastları inhibe eden maddeler üretmelerine neden olarak dolaylı yoldan da etki gösterirler [104].

Bisfosfonatların osteoklastlar üzerindeki etkileri kanıtlanmışken, osteoblastlara olan etkisi tam olarak açıklanamamıştır. Yapılan çalışmalarda bisfosfonatların osteoblast diferasyonunu stimüle ederek kemik mineral yoğunluğunu artırdıklarını gözlenmiştir [118]. Ancak sadece nitrojen içerikli bisfosfonatların osteoblast diferasyonunu artırdığı gözlemlenmiştir [119, 120].

Nitrojen içerikli bisfosfonatlar, tümöral hücrelerde apoptozise neden olarak ve kemikteki tümör hücrelerinin intraselüler matrikse geçmesine engel olarak gösterdikleri direkt antitümoral etkileriyle, kemik dokuyu ilgilendiren tümöral hastalıklarda da kullanılmaktadır [121]. Ayrıca anti-anjiojenik etkileri, metastazı önleyerek antitümoral etkilerine katkı sağlamaktadır [122, 123].

2.11.3. Bisfosfonatların Farmakodinamik Özellikleri

Bisfosfonatlar hem oral hem de intravenöz olarak kullanılabilirler. Emilimleri ince bağırsaktan olur. Oral yolla alındıklarında çok azı emilebilen bisfosfonat dozunun sadece %1'lik bir kısmı etkindir. Bu yüzden yemeklerden 2 saat önce alınmaları daha uygun görülmektedir [108].

Vücutta kan ile dağılır, kemiklerde depo edilir ve böbreklerden hiçbir değişime uğramadan atılırlar. Başka farmakolojik ajanlarla etkileşimleri gözlenmemiş bu bileşiklerin farmakodinamiğini gastrointestinal yol, kan, kemik ve böbrekler belirler [124].

2.11.4. Bisfosfonatların Farmakokinetik Özellikleri

Oral olarak alınan bisfosfonatların bağırsaktan emilimi dozun %0.6 - %5'i arasındaki oldukça az olan bir miktardır. Bu miktar, ilacın kalsiyum ve demir içerikli gıdalarla beraber tüketilmesiyle daha da azalır. Bisfosfonatların plazmadaki yarı ömürleri 0,3 - 2 saat gibi kısa bir süredir. İlacın %20 - %60'lık kısmı kemik tarafından emilir, bu durum bisfosfonatların hidroksiapatit kristallerine karşı gösterdiği afinite ile açıklanabilir. Geri kalanı da değişime uğramadan böbreklerden atılır. Düşük dozlarda verildiğinde osteoklastlarda depo edilen bisfosfonatlar, yüksek dozlarda uygulandığında ise rezorbsiyon ve apozisyon alanlarında depo edilir [109].

İskelet sisteminden bu ilacın eliminasyonu çok yavaş bir şekilde aktif kemik rezorbsiyonu sırasında gerçekleşmektedir [125]. Bu nedenle, bisfosfonatların kemikteki yarılanma ömürleri kemik döngü hızına bağlı olarak 1-10 yıl arasında değişmek üzere oldukça uzundur. Kemikte rezorbsiyon başladığında bisfosfonatlar buradan ortama salınmaktadır [105, 117]. Bazı bisfosfonatların hayat boyu kemikte kalabildiği de gösterilmiştir [126].

2.11.5. Bisfosfonatların Kullanım Alanları

Bisfosfonatlar günümüzde, kemik metastazlarının önlenmesi ve tedavisinde [113, 118, 126, 127], orta ve şiddetli malign hastalıklara bağlı artmış kan kalsiyum

seviyesinin düzenlenmesinde [118, 127, 128], kemik kanserlerinde ağrının azaltılmasında [106, 128, 129], multipl miyelom olgularında [106, 113, 118], Paget hastalığı ile osteoporoz tedavisinde kullanılmaktadır [106, 113, 118, 127, 128, 130].

Osteoklastlarda apoptoza yol açan bisfosfonatların tümör hücreleri üzerine de direkt apoptotik etkileri bulunmaktadır. Oral klodronat, intravenöz pamidronat ve zoledronik asit kemik metastazlarında en sık kullanılan bisfosfonatlardır [131].

Klinik kullanımda en etkin bisfosfonat olan zoledronik asitin, metastatik meme kanseri, multipl miyelom, maligniteye bağlı hiperkalsemi, Paget hastalığı ve sert doku tümörlerinin kemik metastazlarında etkinliği kanıtlanmıştır. Pamidronat ile karşılaştırıldığında, maligniteye bağlı hiperkalsemi ve iskelet komplikasyonlarının azaltılmasında da daha etkin olduğu saptanmıştır [118]. Paget hastalığı, bisfosfonatların kullanımıyla, doza bağımlı olarak kemik rezorpsiyonunun inhibe edilebildiği ilk klinik hastalıktır. Paget hastalığının patogenezi kısaca, artan osteoklast sayısı ve aktivitesi olarak açıklanabilir. Tedavisinde önce etidronat kullanılmış, daha sonraları da endikasyonu sadece Paget hastalığı ile sınırlı olan tiludronat kullanılmaya başlanılmıştır. Uzun yıllar boyunca intravenöz olarak pamidronat da etkin bir şekilde kullanılmış, ancak son yıllarda daha uzun etki süreli zoledronat daha çok tercih edilir hale gelmiştir [132].

Osteoporoz, özellikle post-menopozal dönemdeki kadınlarda karşılaşılan önemli bir problemdir. Bisfosfonatların klinik uygulamalarıyla son 15 yılda osteoporoz tedavisi amaçlı oral bisfosfonat kullanımında ciddi bir artış olmuştur. Alendronat, risedronat, etidronat ve ibandronat dünya genelinde post-menopozal osteoporoz tedavisinde anti-rezorptif özellikleri nedeniyle sık kullanılan bisfosfonatlar olmuşlardır [133, 134].

Oral bisfosfonatlar genellikle günlük dozlar şeklinde uygulanmaktadır. Bununla birlikte, alendronat ve risedronat gibi bisfosfonatların haftalık doz uygulamaları da geliştirilmiştir. Günümüzde en sık olarak kullanılan bisfosfonat çeşitleri ve kullanım alanlarını kısaca özetlemek gerekirse: Etidronat, kemik

yaralanmalarından oluşan hipertrofik kalsifikasyonların tedavisinde ve Paget hastalığı tedavisinde oral yolla kullanılan ve azot içermeyen bir bisfosfonattır. Sınıfının etki gücü en az olan bisfosfonat çeşididir. Alendronat oral yolla alınan ve osteoporoz ile osteopenide en sık tercih edilen azot içerikli bisfosfonattır. Yarılanma ömrü 10 yıldan uzundur. Risedronat, azot içerikli diğer bir bisfosfonattır. Alendronattan sonra osteoporoz ve osteopenide en sık kullanılan ikinci bisfosfonattır. Yarılanma ömrü de alendronat gibi 10 yıldan uzundur. İbandronat, azot içerikli bir bisfosfonattır ve yarılanma ömrü 10 yıldan uzundur. Osteoporoz için alınan diğer ilaçların aksine ayda bir kez 150mg dozunda ya da 2,5mg'lık günlük dozlar halinde kullanılabilir. Pamidronat, multiple myeloma, metastatik meme kanseri, metastatik prostat kanseri, maligniteye bağlı hiperkalsemi olgularında kullanılır. 3-4 haftada bir, 90mg dozunda infüzyonla verilir. Zoledronat günümüzde bilinen en güçlü bisfosfonattır. 3-4 haftada 1 defa 15 dakikalık infüzyon şeklinde 4mg olarak uygulanır. Zoledronatın 4mg dozu, etidronattan 10.000 kat daha etkili bulunmuştur. Yarılanma ömrü 10 yıldan fazla, hatta kimi zaman ömür boyudur [108].

Kontrendikasyonları ise şöyle sıralanır;

- Kronik böbrek hastaları
- Düşük serum kalsiyum düzeyi
- Osteomalazi
- Vitamin D yetmezliği
- Hamilelik.

2.11.6. Bisfosfonatların Toksik Etkileri

Bisfosfonatların toksik etkileri ilaç çeşitlerinin kimyasal yapılarına göre değişiklik göstermekle birlikte yumuşak dokular ve plazmadan hızlı bir şekilde uzaklaştırılmasına ve ekstrasellüler sıvıda kısa sürede bulunmasına bağlı olarak

toksisiteleri oldukça azdır. Akut toksisite hipokalsemiye bağı olarak oluşabilmekte, kronik toksisite ise fosfat atomuna bağı olarak böbreklerde görülebilmektedir [135]. Etidronat için belirtilen ve diğr bisfosfonatlarda görülmeyen toksisite ise kemik mineralizasyonunun önlenmesi ve osteomalaziye yol açmasıdır [100].

2.11.7. Bisfosfonatların Yan Etkileri

Tüm klinik deneyimler doz ve veriliş şekli uygun olduğunda bisfosfonatların iyi tolere edildiğini göstermektedir. Bisfosfonatlara bağı en belirgin yan etki sindirim sistemi üzerine olmaktadır. Ağız yoluyla alındığında bulantı, dispepsi, özefajit, gastrit veya üst gastrointestinal sistemde enflamasyon veya ülserler oluşturabilmektedir [100]. İlacın genel kullanımında hasta seçimi ve ilaç verilmesine bağı hatalar sonucu bazı sorunlar bildirilmiş olmakla beraber alendronat kullanıcısında nadiren özefajial erozyon, ülserasyon veya kanama gibi ciddi sorunlar bildirilmiştir [136]. Alendronat alan hastaların %10-15'inde ilk 1-2 doz alındığında ciddi olmayan grip benzeri semptomlar görülebilir.

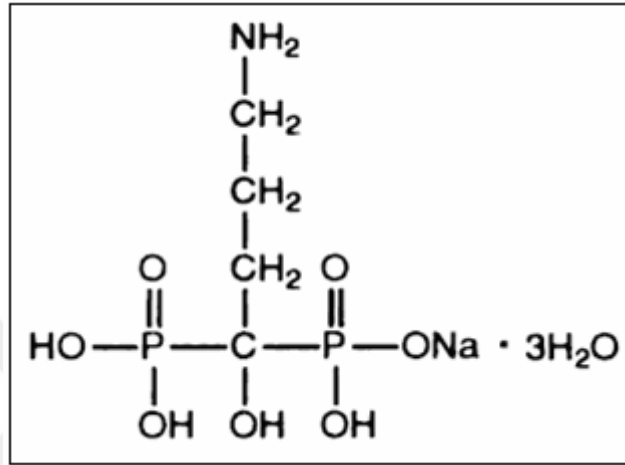
Bisfosfonatların hem düşük oral emilim sorununu hem de sindirim sistemi yan etkilerini gidermek amacıyla intravenöz ve perkütanöz uygulamaları da yapılmaktadır. Paget hastalığı nedeniyle yüksek doz bisfosfonat kullanan hastalarda bulantı ve diyare oluşmakta, bununla birlikte özellikle pamidronatın tekrarlayan intravenöz uygulamalarından sonra böbrek hasarı ve göz enfeksiyonlarının geliştiğı bildirilmiştir [137].

Bunların yanı sıra diğr hekimliğı açısından direkt önemi olan yan etkileri de gözlenmektedir. Bunlardan bir tanesi, ilacın oral kavitede fazla kaldığında oluşan ülserasyonlar, bir diğri ise kronik bisfosfonat tedavisi sonucunda çene kemiğinde gelişen osteonekrozdur [113].

2.11.8. Alendronat Sodyum

Alendronat sodyum, nitrojen içeren, oldukça potent bisfosfonat grubu bir ilaçtır, kimyasal olarak 4-amino-1-hidroksibütiliden-1, 1-bifosfonik asit ve

monosodyum trihidrat tuzu şeklinde tarif edilmektedir. Beyaz kristalize toz yapısında olup moleküler formülü $C_4H_{12}NNaO_7P_2 \cdot 3H_2O$ dur (Şekil 2.4). Molekül ağırlığı 325.124 g/mol olan alendronat nonhigroskopik bir toz halindedir. Alendronat sodyum suda çözündüğü halde alkolde çok az çözünmekte, kloroformda ise hiç çözünmemektedir.



Şekil 2. 4. Alendronat Sodyumun kimyasal yapısı [138]

Diğer bisfosfonatlar gibi pirofosfat analoglarıdır. Pirofosfatların, osteoklastik kemik rezorpsiyonunu ve osteoblastlar tarafından oluşturulan yeni kemik dokusu mineralizasyonunu birlikte inhibe etmesine karşılık, alendronat ve tüm azot içerikli bisfosfonatlar sadece osteoklastlar üzerinde etki ederler. Alendronatın kemik rezorpsiyonunu inhibe etmesi doza bağlıdır ve ilk kullanıma sokulan bifosfanat türevi ilaç olan etidronattan yaklaşık 1000 kat güçlüdür. Tedavi süresince, normal kemik dokusu gelişimine devam eder ve alendronat kemik matriksinde farmakolojik olarak inaktif formda birikir. Diğer bisfosfonatlar gibi kemik döngüsünün ve rezorpsiyonunun arttığı Paget hastalığı, fibröz displazi ile osteoporozun önlenmesi ve tedavisinde kullanılmaktadır [105].

FDA (Food and Drug Administration) ilaç sınıflandırmasına göre kalsiyum metabolizmasıyla ilişkili ilaçlar sınıfına giren ve Türkiye’de bulunan Andante, Bonemax, Fosamax, Mecomax, Osalen, Osteomax ve Vegabon’un etken maddesi alendronat sodyumdur.

Son yıllarda alendronat sodyumun sistemik uygulamasının çeşitli amaçlarla verilmesinin yanında lokal etkisi de araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalar bu ajanın lokal olarak kemik yüzeyine uygulamasını takiben bölgedeki kemik tarafından %20-30 oranında abzorbe edildiğini ve kemik rezorpsiyonunu inhibe edebildiğini göstermiştir [8, 139-141].

Alendronat Sodyumun Farmakolojik Özellikleri

Alendronat sodyum, bisfosfonat grubu ilaçların farmokodinamik özellikleri ile benzerlikler gösterir. Diğer nitrojen içeren bisfosfonat grubu ilaçlar gibi kemikteki hidroksiapatit kristallerine bağlanırlar. Göreceli olarak kemik rezorpsiyonunun ve osteoklastik aktivitenin fazla olduğu bölgelere daha fazla bağlantı yapar. Ayrıca kemik yüzeyinin asidifikasyonu, bağlanmış alendronatın serbest kalmasına yol açar. Kemik yüzeyindeki asidifikasyon osteoklastik aktivitenin olduğunu göstermektedir. Osteoklastlar rezorpsiyonu gerçekleştirebilmek için asidik bir ortam hazırlar ve bu asidik ortam alendronat sodyumun etkisini göstermesini sağlayan bir ortam meydana getirir [142].

Alendronat Sodyumun Yan Etkileri

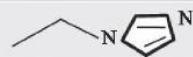
Sıklıkla gastrointestinal sistem üzerinde görülmektedir. Üst solunum yolu irritasyonlarına neden olan alendronat sodyum aynı zamanda özofagusta erozyon, ülser ve özofajite neden olabilmektedir. Ticari preparatları yalnızca oral yolla alınabilmektedir [143].

Alendronat Sodyumun Kullanım Şekli ve Dozu

Kadınlarda osteoporözü önleme ve kortikosteroidlerin neden olduğu osteoporözü tedavi amaçlı günlük 5-10mg veya haftalık 35-70mg olarak kullanılan alendronat, osteoporözün tedavisinde ise günlük 10mg veya haftalık 70mg olarak kullanılır. Paget hastalığında kullanılan alendronatın dozu ise 6 ay süresince günlük 40mg'dır [144-146].

2.11.9. Bisfosfonatlara Bağlı Olarak Çenelerde Gelişen Osteonekroz (BRONJ)

İlk kez 2003 yılında Marx tarafından tanımlanan bisfosfonata bağlı çene kemiklerinin osteonekrozu (BRONJ) günümüzde giderek büyüyen ve hekimlerin sıkça karşılaşmaya başladıkları ciddi bir sorun olmaya başlamıştır [108]. Osteonekroz oluşumundaki risk faktörleri arasında en önemlisi kullanılan bisfosfonatın tipi ve verilen total dozdur. Özellikle intravenöz bisfosfonatlar ile tedavi edilen hastalarda osteonekroz oluşma riski, oral bisfosfonat kullanımına oranla çok daha yüksektir fakat oral bisfosfonat kullanan hastalarda da bildirilmiş osteonekroz olguları bulunmaktadır (Şekil 2.5). Bunlara ek olarak kanser teşhisi, travma veya cerrahi hikayesi, kötü ağız hijyeni, dental enfeksiyonlar, uzun süreli kortikosteroid tedavisi, immün sistemin baskılanması, vasküler yetersizlikler, hastanın yaşlı olması gibi faktörler bu komplikasyonun oluşma ihtimalini arttırmaktadır [147].

	R1 zinciri	R2 zinciri	Potens	Osteonekroz oluşturma riskleri sıralaması
Etidronat	OH	—CH ₃	X1	8
Klodronat	Cl	—Cl	X10	7
Tiludronat	H	- S -  - Cl	X10	6
Pamidronat	OH	—CH ₂ —CH ₂ —NH ₂	X100	5
Alendronat	OH	—(CH ₂) ₃ —NH ₂	X1000	4
İbandronat	OH	-CH ₂ -CH ₂ N 	X5000	3
Risedronat	OH		X5000	2
Zolendronat	OH		X10,000	1

Şekil 2. 5. Bisfosfonatların R1-R2 zincirleri, potensleri ve osteonekroz oluşturma riskleri [101]

Olgularla ilgili tipik semptomlar ağrı, yumuşak dokuda ödem, enfeksiyon, dişlerde mobilité, halitozis, pürülan akıntı ve ekspoze nekrotik kemiktir. Semptomlar spontan olarak gelişebildiği gibi sıklıkla diş çekimi sonrası görülür [148].

Olguların %70'i mandibula molar bölgesinde, %30'u ise posterior maksiller bölgede ortaya çıkmaktadır. BRONJ'un sadece çene kemiklerinde görülmesi; diş çekimi, periodontal lezyonlar, protez irritasyonu gibi nedenlerle bakterilerin kemiğe invaze olmasıyla açıklanmaktadır. Uzun süre bisfosfonat kullanımına bağlı olarak maksilla ve mandibuladaki kanlanmanın bozulduğu ve diş çekimi sonrası bu açık yara yerinin mevcut oral flora içinde iyileşme gösteremediği düşünülmektedir. Vücuttaki diğer kemiklerin yumuşak doku ile iyi bir şekilde kapandığı ve floraları tarafından iyi korunduğu da, bu kemikleri çene kemiklerinden ayırmaktadır [106]. Ayrıca bisfosfonatlar çene kemikleri gibi yüksek metabolizma hızı gösteren kemiklerde daha fazla depolanmaktadır [133]. Kullanılan bisfosfonatlar doza, kullanım süresine ve şekline, ilacın cinsine göre etki gösterirler [149].

Yapılan çalışmaların bazıları BRONJ'un genetik mutasyona bağlı olduğu hipotezini savunmuşlardır. Matriks metalloproteinaz ailesinden *matriks metalloproteinase-2* (MMP2) genindeki mutasyonun bisfosfonatın yarattığı osteonekrozla ilişkili olabileceğini düşünmüşlerdir. Ayrıca zoledronat ve alendronatın neden olduğu atrial fibrilasyonla vücutta ilişkili tek genin MMP2 olduğu belirlenmiştir [150].

Bisfosfonatlar teropatik dozlarda kullanıldıklarında osteoklastların rezorptif aktivitesini inhibe ederken, osteoblastları ise stimule ederler. Osteoblastların reseptör aktivatör nükleer $\kappa\beta$ ligand (rankl) üreterek uyardığı fizyolojik kemik rezorbsiyonunu ise engellemezler ve kemik metabolizmasına daha az sitotoksik etki oluştururlar. Bisfosfonatların yüksek dozda kullanılması ise hem osteoblastlar hem de osteoklastlarda hücre içi kalsiyum birikmesine neden olarak sitotoksik etki oluşturur. Buna bağlı olarak kemik yenilenme mekanizması bozulur ve gereken remodelasyon gerçekleşemez. Kemikte yenilenmenin azalması avasküler nekroz riskini artırır. Kemikte osteoklastik aktivite başladığı zaman, oluşan yeni kemik matriksinin matürasyonu için sitokinler ve büyüme faktörleri salgılanır. Kemikte rezorbsiyonun azalmasıyla birlikte apozisyon da azalmaya başlar; kemik tamir metabolizması, büyüme gelişme kapasitesi ve kalitesi bozulur. Travma, periodontal

hastalık, periradiküler lezyon ya da dental işleme bağlı gelişen nekrozlarda osteoklastlar, nekrotik kemiği ortadan kaldırmak için gerekli aktivasyonu gösteremezler [151].

Amerikan Maksillofasiyal Cerrahlar Derneği (AMCD) tarafından belirlenen kemik metabolizması ile ilişkili serum parametreleri kalsitonin, troid stimulator hormon, T4, T3, *N-Terminal Telopeptit*, *C-Terminal Telopeptit* (CTX), 25 Hidroksi vitamin D, kemiğe özgü alkalen fosfotaz, osteokalsin, paratroid hormon ve TLX telopeptitdir. Bisfosfonat kullanan hastalarda kemikte remodelasyon ve rezorptif aktiviteyle ilgili bu değerlerin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir. Özellikle BRONJ oluşmuş hastalarda invaziv bir uygulama planlanmadan önce bu değerler dikkatlice analiz edilmelidir [152].

BRONJ gelişimi, oral bisfosfonatlarda sürekli kullanımın 3. yılı itibariyle görülmeye başlanırken bu zaman dilimi intravenöz uygulanan bisfosfonatlarda 6 aydan daha kısa sürelerle kadar düşebilir. Oluşumunu takiben etkin bir tedavi protokolü olmayan bu vakalarda önleyici tedaviler önem kazanır. Sistemik uzun süreli antibiyotik kullanımı, antiseptik gargaralar ile semptomlar hafifletilmeye çalışılır. Penisilin ilk tercih edilen antibiyotiktir; klindamisin *Eikenella* ve *Moraxella*'ya karşı etkisiz, *Actinomyces*'lere karşı da zayıf etkili olduğundan tercih edilmez [108].

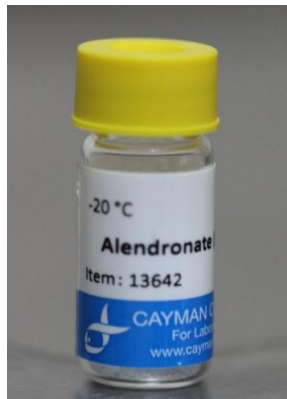
İnvaziv cerrahi girişimler genelde durumun daha da kötüleşmesine yol açar. Bu nedenle tedavide asıl amaç sekonder enfeksiyon kontrolüdür. Penisilin veya ikinci jenerasyon sefalosporinler, klorheksidin gargaraları, periyodik minör debridman ve yara yerinin düzenli lavajı tedavinin temelini oluşturmaktadır [106]. Koruyucu hekimlik açısından, bisfosfonat kullanılacak olan hastaların rutin dental muayenelerinin yapılması ve gerekli oral cerrahi girişimlerin tamamlanması sonrasında bisfosfonat tedavisine başlanması önerilmektedir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmanın deneysel kısmı Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında, histolojik inceleme Gazi Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Oral Patoloji Bilim Dalında, radyolojik inceleme ise Hacettepe Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalında gerçekleştirildi. Bu çalışma için Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 10/06/2014 tarih ve 2014/29-1 sayılı karar ile onay alındı.

Çalışma ortalama 3500gr ağırlığında ve yetişkin 20 adet erkek-dişi *New Zealand* tavşan üzerinde yapıldı. Denekler uygun kafeslerde, $22\pm2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamın sağlandığı koşullarda barındırıldı. Yeterli sağlık şartlarının sağlanması, enfeksiyondan korunmaları, yeni yerlerine uyum sağlamaları ve genel sağlık durumlarının kontrolü için cerrahi operasyondan en az 1 hafta önce deneylerin gerçekleştirileceği laboratuvar ortamına nakledildi. Denekler standart laboratuvar yemi ve su verilerek beslendi. Su ve yiyeceğe rahat ulaşabilmeleri, yeterli hareket alanına sahip olmaları ve stressiz ortam sağlanması açısından her biri ayrı kafeslerde barındırıldı.

Deney hayvanlarına lokal alendronat uygulaması için alendronat sodyum trihidrat (Cayman Chemical, ABD) kullanıldı (Şekil 3.1). Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunu sağlamak içinse tüm defektlere geç rezorbe olan kollajen membran (Collagene AT, İtalya) uygulandı (Şekil 3.2).



Şekil 3. 1. Alendronat Sodyum Trihidrat (Cayman Chemical, ABD)



Şekil 3. 2. Kollajen membran (Collagene AT, İtalya)

Deney hayvanları, 4 hafta ve 8 hafta olmak üzere iki gruba ayrıldı. Böylece 10'ar deney hayvanından oluşan iki grup oluşturuldu. Daha sonra her bir deney hayvanında; 2'si sağ mandibulada, 2'si sol mandibulada olacak şekilde 4 grup tasarlandı (Tablo 3.1).

1.grup: Oluşturulan defekt otojen kemikle doldurulup kollajen membran ile örtülen grup (otojen grup)

2.grup: Oluşturulan defektin boş bırakılarak yalnızca kollajen membran ile örtülen grup (kontrol grubu)

3.grup: Oluşturulan defektin lokal alendronatla beraber otojen greft ile doldurulup lokal alendronat uygulanmış kollajen membranla örtülmesiyle elde edilen grup (otojen+alendronat grubu)

4.grup: Oluşturulan defekte otojen greft konulmaksızın yalnızca lokal alendronat uygulanması ve lokal alendronat uygulanmış kollajen membran ile örtülmesiyle elde edilen grup (alendronat grubu).

Deney grupları dizayn edilirken; her deney hayvanında 1. ve 2. grubun mandibulanın sağ tarafında, 3. ve 4. grubun ise mandibulanın sol tarafında kalmasına dikkat edildi. Ayrıca standardizasyonu sağlamak ve muhtemel

karışımların önüne geçmek amacıyla; otojen greft yerleştirilen 1. ve 3. gruplar posterior bölgede, boş bırakılan 2. ve 4. gruplar anterior bölgede olacak şekilde çalışıldı.

Tablo 3. 1. Deney grupları

Gruplar	Lokal Alendronat	Otojen Greft	Kollajen Membran
Grup 1	-	+	+
Grup 2	-	-	+
Grup 3	+	+	+
Grup 4	+	-	+

3.1. Lokal Alendronatın Hazırlanması

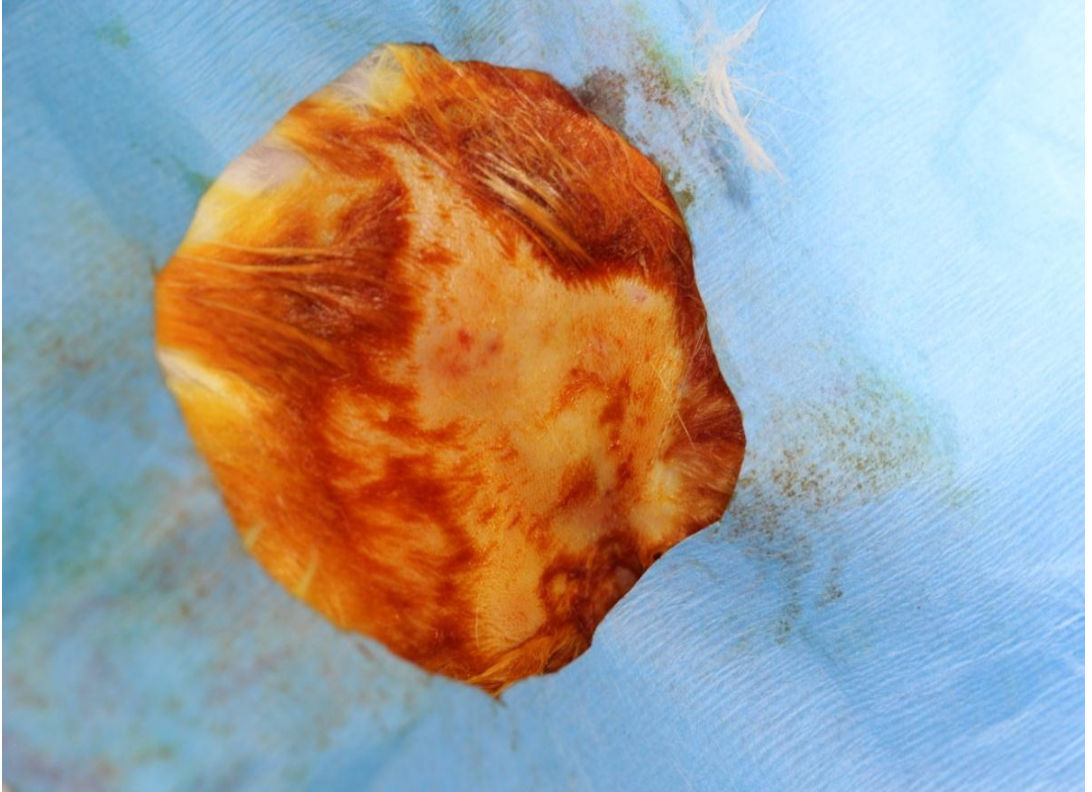
Alendronat sodyum üretici firmanın önerileri doğrultusunda -20°C'de ışık almayacak bir ortamda muhafaza edildi. Operasyon günü 1ml salinde 1mg alendronat sodyum olacak şekilde alendronat solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan solüsyon yine üretici firma önerileri doğrultusunda 5°C'de ve 24 saati aşmayacak şekilde steril olarak saklandı. Uygulama esnasında steril bir enjektör ile çalışma sahasına taşındı ve uygulandı.

3.2. Cerrahi Yöntem

Tüm deney hayvanlarına anestezi için intramuskuler yolla ketamin hidroklorür (Alfamine, Alfasan, Hollanda) 35mg/kg ve ksilazin hidroklorür (Alfazyne, Alfasan, Hollanda) 2,5mg/kg uygulandı. Anestezi sonrası deney hayvanlarının sağ ve sol mandibula bölgesindeki tüyler tıraş edildi. Asepsi ve antisepsi kurallarına dikkat edilerek operasyon sahası povidon-iyot (Batticon, Adeka, Türkiye) ile temizlendi (Şekil 3.3). Daha sonra steril örtüler ile operasyon sahası açıkta kalacak şekilde örtüldü (Şekil 3.4). Kanama kontrolü amacıyla 2ml lokal anestezi solüsyon (Ultracain D-S forte, Sanofi Aventis, Türkiye) 1ml'si sağ mandibulada, 1ml'si ise sol mandibulada ilgili bölgeye infiltratif olarak uygulandı.

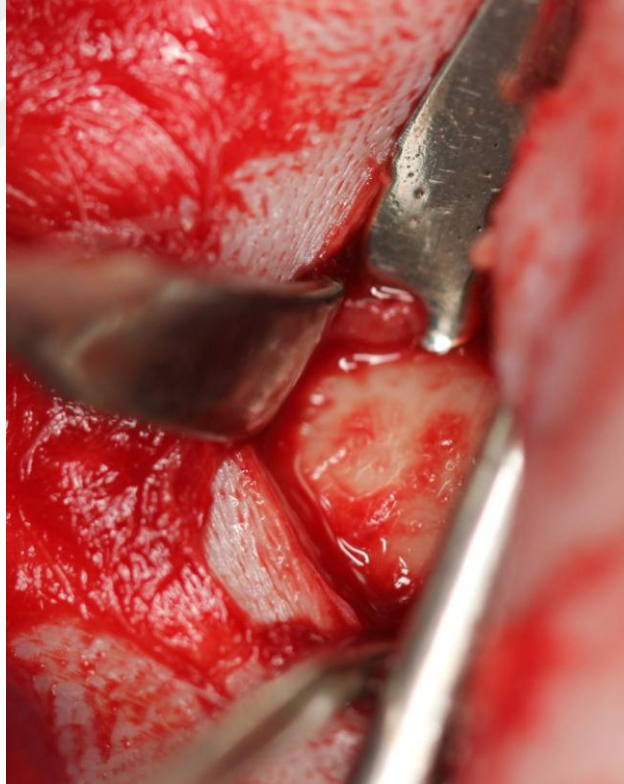


Şekil 3. 3. Tıraşlanıp povidon-iyot ile temizlenmiş operasyon sahası

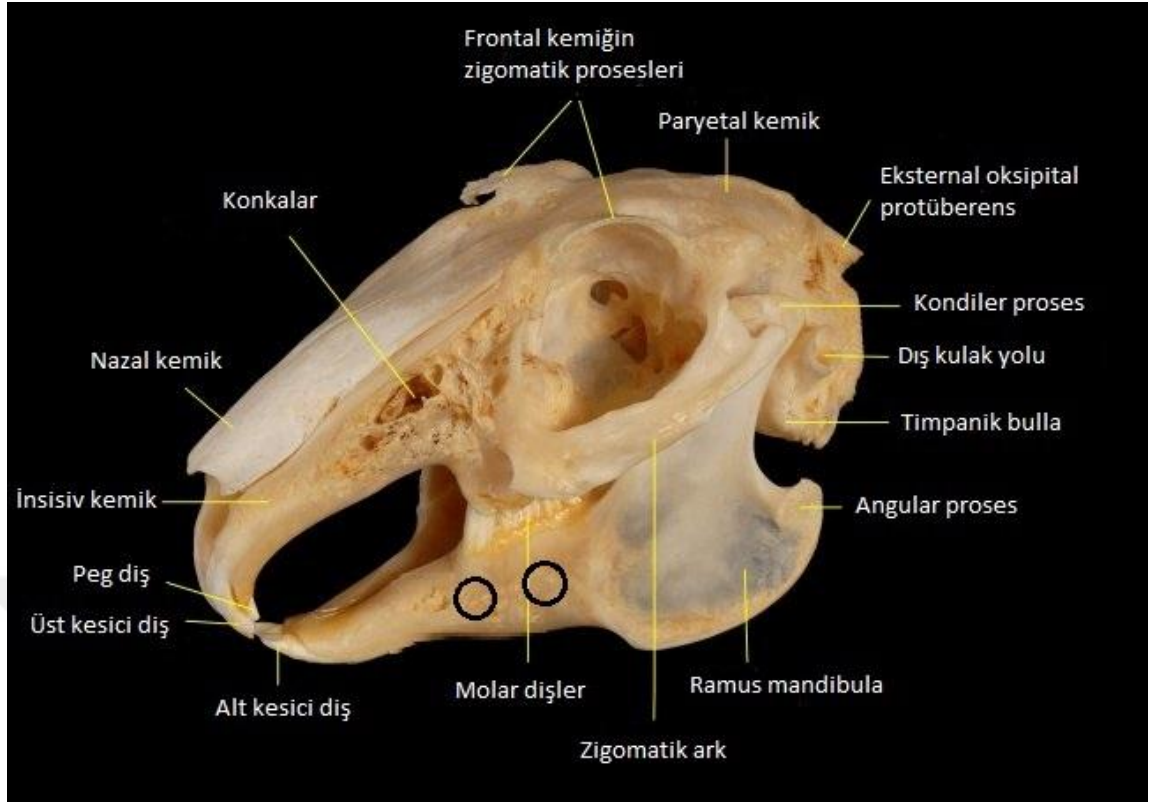


Şekil 3. 4. Operasyon sahası açıkta kalacak şekilde steril örtü ile örtülmesi

Mandibulanın sağ ve sol korpusu üzerinde 15 numaralı bistüri ile 1,5cm uzunluğunda periostu da kapsayacak şekilde tam kalınlık insizyon yapıldı. Ardından masseter kasın anteriorunda kalan bir miktar kas ataçmanı diseke edildikten sonra periost elevatörü ile kemik yüzeyi açığa çıkarıldı (Şekil 3.5). Korpus üzerinde (Şekil 3.6), dış çapı 5mm, iç çapı 4mm olan bir trefan frez (Şekil 3.7) ile steril salin soğutması altında 3mm derinliğinde ve aralarında en az 3'er mm aralık bırakılarak sağda ve solda ikişer adet olmak üzere toplam 4 adet kemik osteotomisi yapıldı (Şekil 3.8). Kanama ve enfeksiyon kontrolü açısından tüm deneklerde önce sağ taraf opere edilip ardından sol tarafa başlandı. Ortada kalan disk şeklindeki kortikal kemikler bir elevatör yardımı ile çıkarılarak kemik defekti oluşturuldu. Sağ mandibuladan çıkan kortikal kemikler sağ tarafta 1. grupta ve sol mandibuladan çıkan kortikal kemikler yine sol tarafta 3. grupta kullanılmak üzere bir gode içerisinde saklandı (Şekil 3.9).



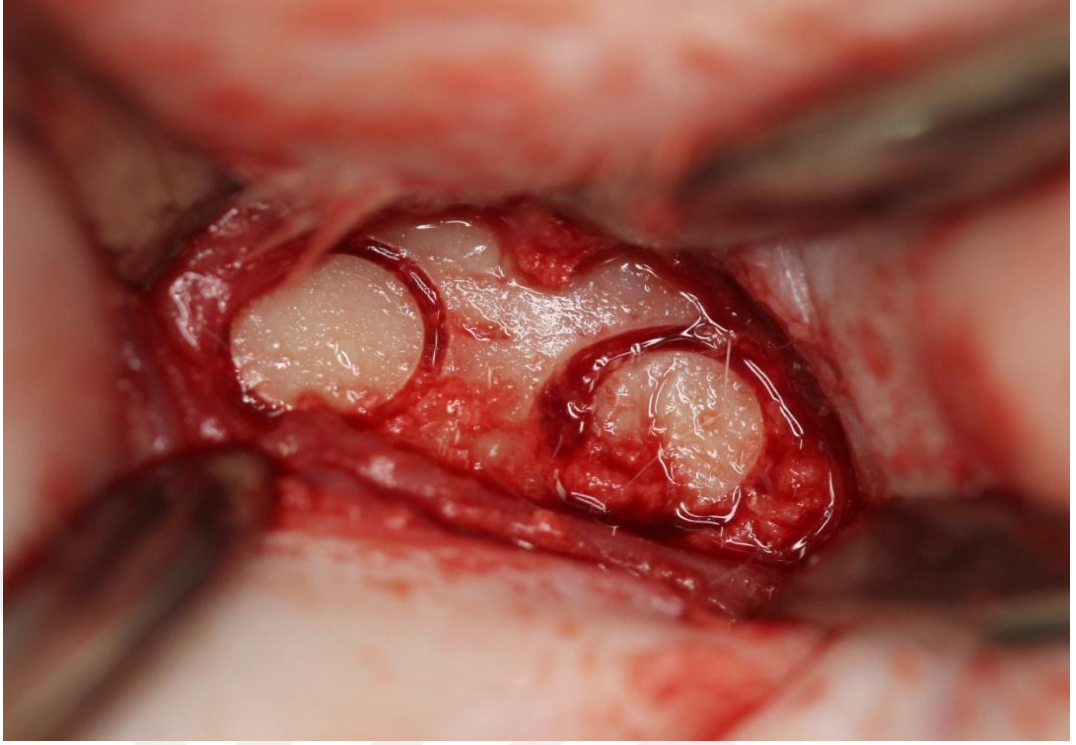
Şekil 3. 5. İnsizyon sonrası açığa çıkarılmış kemik yüzeyi



Şekil 3. 6. Tavşan kafa anatomisi ve açılacak defektlerin anatomik lokasyonu



Şekil 3. 7. Defekt oluşturmak için kullanılan trefan frez ($\varnothing$ -5mm)



Şekil 3. 8. Trefan frez ile 3mm arayla oluşturulmuş 5mm çapındaki kemik defektleri



Şekil 3. 9. Defekt bölgesinden çıkarılan disk şeklindeki otojen kemikler

1. ve 2. grupları hazırlarken elde edilen iki adet disk şeklindeki kortikal kemik, 1. grup için otojen kemik kaynağını oluştururken; 3. ve 4. gruplar hazırlanırken elde edilen disk şekilli kemikler ise 3. grup için otojen kemik kaynağını oluşturdu.

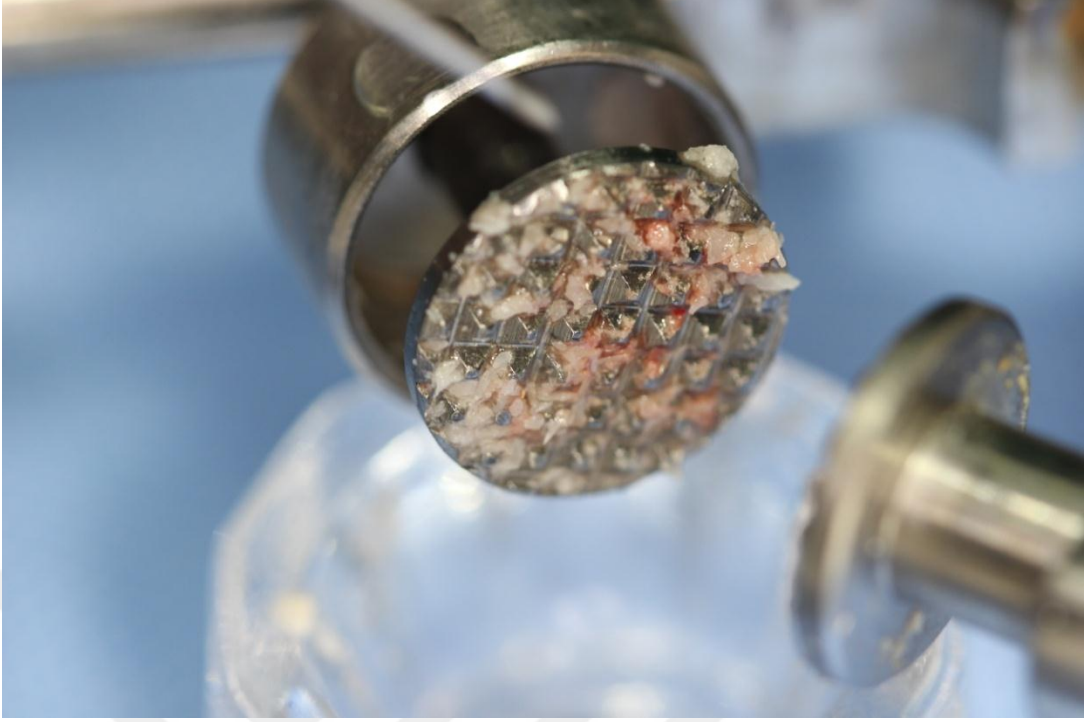
1. grupta, defekt oluşturmak için çıkarılmış disk şeklindeki kortikal kemikler bir kemik öğütücü yardımıyla küçük partiküller haline getirildi (Şekil 3.10) ve salin ile irrigate edilmiş defekt kavitesini doldurmak üzere kullanıldı (Şekil 3.11). Ardından greftlenen bölgenin üzeri, salin ile sature edilmiş kollajen membran ile örtüldü (Şekil 3.12).

2. grupta, defekt kavitesi salin ile irrigate edildikten sonra defekt bölgesinin üzeri salin ile sature edilmiş kollajen membran ile örtüldü.

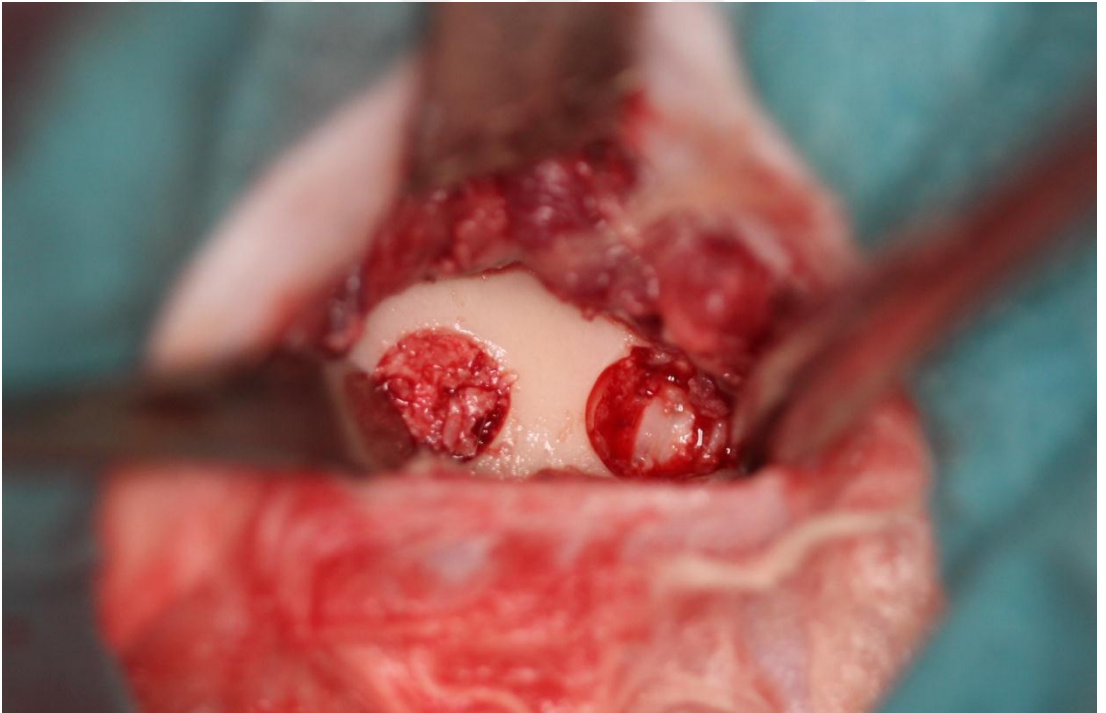
3. grupta, defekt oluşturmak için çıkarılmış disk şeklindeki kortikal kemikler bir kemik öğütücü yardımıyla küçük partiküller haline getirildi ve bu partiküller hazırlanan lokal alendronat solüsyonunda 5 dk. bekletildi. Defekt bölgesi ise bu lokal alendronat solüsyonu ile irrigate edilerek 5 dk. beklendi. Ardından greftlenen bölgenin üzeri, lokal alendronat solüsyonuyla sature edilmiş kollajen membran ile örtüldü.

4. grupta ise, defekt kavitesi lokal alendronat solüsyonu ile 5 dk. irrigate edilerek beklendi ve üzeri bu lokal alendronat solüsyonuyla sature edilmiş kollajen membran ile örtüldü.

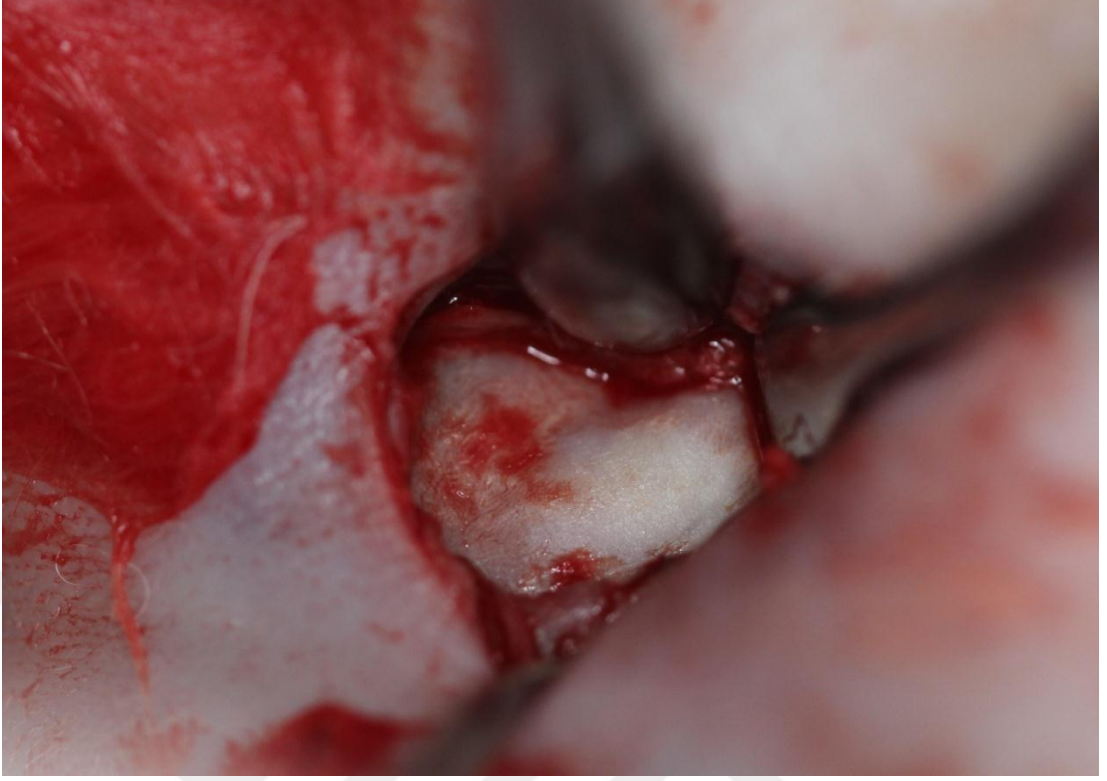
Son olarak kas dokusu revize edildikten sonra cilt ve cilt altı dokular rezorbe olabilen 16mm 3/8 keskin 4.0 poliglaktin suturela (Coated Vicryl, Ethicon, Johnson&Johnson, Belçika) primer olarak suture edildi (Şekil 3.13). Suture edilen bölgelere, postoperatif enfeksiyonu önlemek için yara örtücü sprej (Opsite, Smith&Nephew, Canada) uygulaması yapıldı.



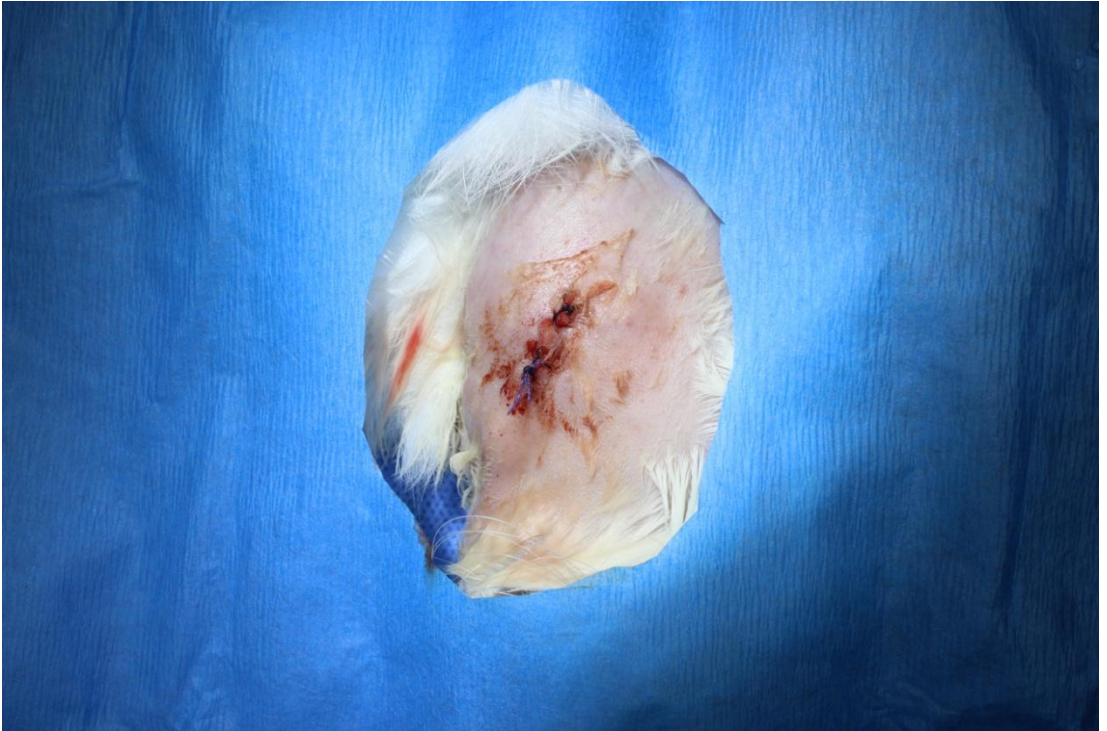
Şekil 3. 10. Disk şeklindeki kortikal kemik greftinin kemik öğütücü yardımıyla küçük partiküller haline getirilmesi



Şekil 3. 11. Otojen greft partikülleri ile doldurulmuş ve hemen yanında boş bırakılmış defekt kaviteleri



Şekil 3. 12. Kollajen membran ile örtülmüş defekt kaviteleri



Şekil 3. 13. Primer olarak sutüre edilmiş operasyon bölgesi

3.3. Deney Hayvanlarının Bakımı

Hayvanlara postoperatif dönemde analjezik olarak 1mg/kg Meloksikam (Maxicam X4, Sanovel, Türkiye), antibiyotik olarak 2,5mg/kg enrofloksasin (Baytril-K %5, Bayer, ABD.) intramuskuler yolla 5 gün boyunca günde tek doz verildi. 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık periyoduyla her biri ayrı ayrı kafeslerinde deney süresince yaşatıldı. Ortam sıcaklığı ortalama 22-24°C ve nemlilik %55-70 olarak sağlandı. Deney hayvanlarının operasyon sonrası dönemde günlük bakımları yapılarak kafes temizlikleri kontrol edildi. Yine yara bölgelerinin sağlığı düzenli olarak kontrol edilerek yeterli miktarda yem ve su sağlandı. 8 haftalık takibi yapılacak gruptan bir deney hayvanı postoperatif 6. haftada öldüğü için çalışmadan çıkartıldı.

3.4. Doku Takibi ve Değerlendirilmesi

Deney hayvanları yarısı erken dönem kemikleşmeyi değerlendirmek amacıyla 4. haftanın sonunda, diğer yarısı geç dönem kemikleşmeyi değerlendirmek amacıyla 8. haftanın sonunda letal dozda intramuskuler ksilazin HCl (30mg/kg - Alfazyne, Alfasan, Hollanda) ve ketamin HCl (70mg/kg - Alfamine, Alfasan, Hollanda) uygulaması ile sakrifiye edildi. Her bir tavşan numaralandırılarak mandibulanın alt tarafında yapılan insizyonla mandibula çıkartıldı ve periost elevasyonunun ardından defekt oluşturulmuş bölgeler belirlenerek etrafındaki bir miktar sağlam kemik dokusu da bırakılıp ön ve arka bölgelerin karışmaması için işaretlenerek küçültüldü. Daha sonra örnekler her bir tavşan için ayrı ayrı alt gruplarına ayrılarak %10 tamponlanmış formaldehitte 48 saat tespit edildi.

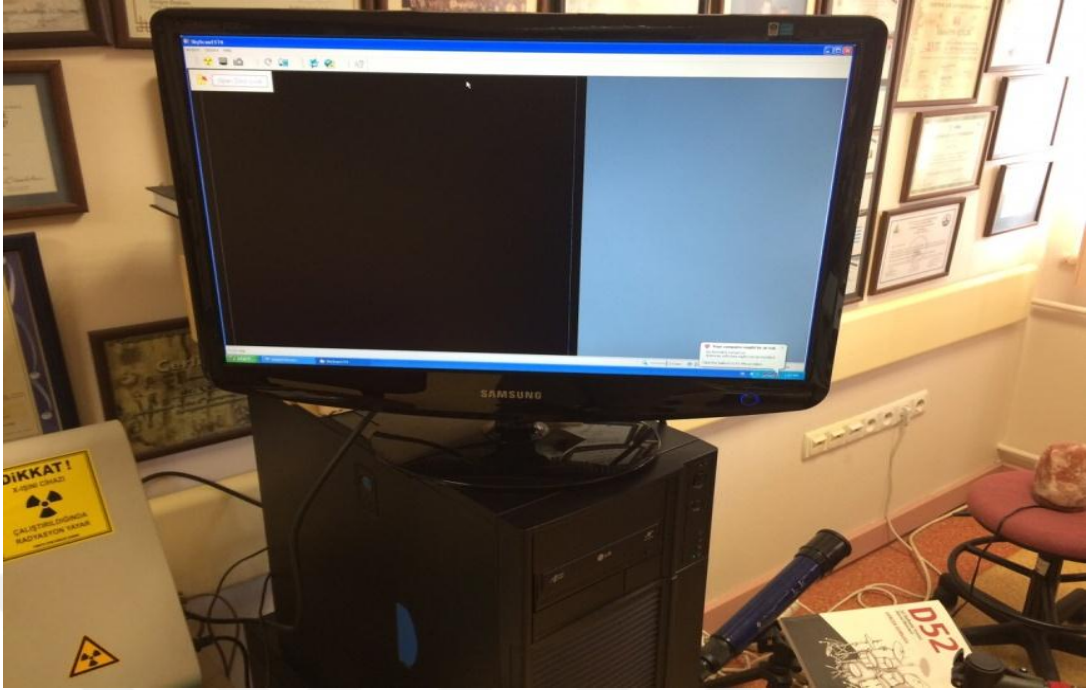
3.5. Radyolojik Analiz

Alınan örnekler, mikro-BT cihazının (Skyscan 1174, Skyscan, Kontich Belgium) tarayıcı bölmesine patafix aracılığı ile sabitlendi (Şekil 3.14). 800 mikroamper (uA), 50 kilovolt (kV) ve 40.89 mikrometre piksel boyutlarında alan düzeltmesi ayarlanıp kaydedildikten sonra, her bir örnek aynı alan düzeltme ayarları ile tarandı. Mikro-BT'nin rotasyon basamağı 0,7° ayarlanıp, her biri 2300 milisaniye (ms) olacak şekilde 3 frame ve her bir örnek 180° rotasyonlu tarama yapılacak şekilde belirlendi. Bu

tarama aşamasında elde edilen ham verilerin daha sonraki rekonstrüksiyonları üreticinin sağladığı NRecon (NRecon versiyon 1.6.9.4, Skyscan, Kontich, Belgium) yazılımı ile yapıldı (Şekil 3.15). Rekonstrüksiyon sırasında ışık sertleşme oranı %40, halka artifact redüksiyon, smooting, frame avering her bir örnek için bireysel olarak optimum değere ayarlandı. Ham verilerin rekonstrüksiyonu sonucu 8 bit gri değer imajları elde edildi. NRecon kullanılarak rekonstrükte edilen 8 bit gri görüntüler CTan (versiyon 1,13,5,1, Skyscan, Kontich Belgium) yazılımına aktarıldı. CTan yazılımında, defekt sınırları tespit edilerek, analizin yapılabilmesi için üst ve alt sınırlar belirlenmiş ve arada kalan görüntülerden defekt alanları belirlenerek *Region of Interest* (ROI) seçilmiştir. Seçilen ROI bölgelerinden CTan yazılımı aracılığı ile kemik hacmi, kemik yüzey alanı, yumuşak doku hacmi, yumuşak doku yüzey alanı, kemik/yumuşak doku oranı, kemik yoğunluğu vb. temel değerler elde edildi. Elde edilen bu sayısal veriler Microsoft Office Excel yazılımına aktararak istatistik analizlerine hazır hale getirildi.



Şekil 3. 14. Radyolojik analizde kullanılan mikro-BT cihazı



Şekil 3. 15. Ham verilerin rekonstrüksiyonların yapıldığı NRecon yazılımı

3.6. Histopatolojik ve Histomorfometrik Analiz

Alınan örneklerin mikro-BT tarama işlemleri tamamlandıktan sonra, 3 günde bir değiştirilen %10'luk asetik asit solüsyonu içerisinde 21 gün süre ile kontrol edilerek dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon sonrası distile su ile yıkanan dokular alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi. Ardından ksilen serileri ile şeffaflaştırma işlemi yapılarak parafine gömülmek suretiyle bloklandı (Tablo 3.2).

Tablo 3. 2. Parafin takip protokolü.

İşlem	Kullanılan Madde	Süre
TESPİT	%10 Formalin	2 gün
DEKALSİFİKASYON	%10 Asetik asit	21 gün
DEHİDRATASYON	%60 Alkol	½ saat
	%70 Alkol	½ saat
	%80 Alkol	½ saat
	%90 Alkol	½ saat
	%96 Alkol	1 saat
	%100 Alkol	1 saat
ŞEFFAFLAŞTIRMA	Alkol-Ksilen	½ saat
	Ksilen	1 saat
	Ksilen	1 saat
İNFİLTASYON	Ksilen-Parafin	½ saat
	Parafin	1 saat
	Parafin	1 saat
GÖMME	Parafin	

Tüm bloklar 1/20 örnekleme ile 4-6 µm kalınlığında transvers seri kesitler alınarak histolojik yapıyı değerlendirmek için cam lamalar üzerine alındı. Elde edilen kesitler bir gece 60°C etüvde ve ksilende deparafinize edildikten sonra dehidratasyon işlemi uygulanarak hematoksilin&eozen boyası (Tablo 3.3) ve Movat'ın modifiye pentakrom boyası (Tablo 3.4) ile ayrı ayrı boyandı. Boyanan tüm kesitler kanada balsamı ile kapatıldı.

Tablo 3. 3. Hematoksilen&Eozin boyama protokolü.

İşlem	Kullanılan Madde	Süre
DEPARAFİNİZASYON	60°C ETÜV	1 gece
DEPARAFİNİZASYON	Ksilen	5 dakika
	Ksilen	5 dakika
	Ksilen	5 dakika
REHİDRATASYON	%100 Alkol	5 dakika
	%96 Alkol	5 dakika
	%80 Alkol	5 dakika
	%70 Alkol	5 dakika
YIKAMA	Akarsu	5 dakika
BOYAMA	Hematoksilen	10 dakika
YIKAMA	Akarsu	5 dakika
DİFERANSİYASYON	Asit-Alkol	1 saniye
YIKAMA	Akarsu	5 dakika
BOYAMA	Eozin	2 dakika
YIKAMA	Akarsu	5 dakika
	%80 Alkol	1 saniye
	%96 Alkol	1 saniye
	%96 Alkol	1 saniye
	Ksilen	1saat
KAPAMA	Entellan	

Tablo 3. 4. Movat'ın modifiye pentakrom boyaması protokolü.

DEPARAFİNİZASYON VE HİDRATASYON	Distile Su	
BOYAMA	Alsiyan Mavisi	20 dakika
YIKAMA	Akarsu	10 dakika
BEKLETME	Alkali Alkol	1-2 saat
YIKAMA	Akarsu	10 dakika
BOYAMA	Verheoff'un Elastik Statın Solüsyonu	15 dakika
YIKAMA	Distile Su	
DİFERANSİYASYON	%2 Aköz Ferrik Klorit	
BEKLETME	%5 Sodyum Tiyosülfat	1 dakika
YIKAMA	Akarsu	5 dakika
BOYAMA	Crocein Scarlet – Asit Fuksin (8:2)	1,5 dakika
YIKAMA	Distile Su, %0,5 Asetik Asit	
DİFERANSİYASYON	%5 Aköz Fosfotungstik Asit	5-10 dakika
YIKAMA	%0,5 Asetik Asit	
	%100 Alkol	3 kez
BOYAMA	Orange-G	15-20 dakika
YIKAMA	%100 Alkol	3 kez
	Ksilen	2 kez
KAPAMA	Entellan	

Histopatolojik değerlendirme ışık mikroskopunda (Olympus BX-51, Olympus Corp, Tokyo-JAPAN), histomorfometrik analiz ise Leica DM-4000 motorize ışık mikroskobu ve mikroskoba bağlı görüntü analizi programı (Leica Q-Win V3 image analyse programme, Leica Corp, Wetzlar-Germany) kullanılarak gerçekleştirildi.

Örneklere ait kesitlerin her birinden x100 büyütme ile 5 farklı fotoğraf çekildi. Her fotoğraftaki defekt alanını dolduran yeni kemik trabekülleri, yumuşak doku ve greft alanları μm^2 (mikrometrekare) cinsinden ölçülerek hesaplandı.

3.7. İstatistiksel Analiz

Araştırmanın verileri SPSS 18.0 istatistik paket programı kullanılarak analiz edildi. Analizlerde tanımlayıcı istatistikler (ortalama, ortanca, standart sapma), normal dağılıma uymayan bağımsız iki gruplu sürekli değişkenlerin karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi, ikiden fazla grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis Testi kullanıldı.

Normal dağılıma uymayan bağımlı iki gruplu sürekli değişkenlerin karşılaştırmalarında Wilcoxon testi kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorow Smirnow ve Shapiro Wilk testleri ile kontrol edildi. İstatistiksel anlamlılık için tip 1 hata düzeyi (alfa) 0,05'ten küçük olan değerler istatistik olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

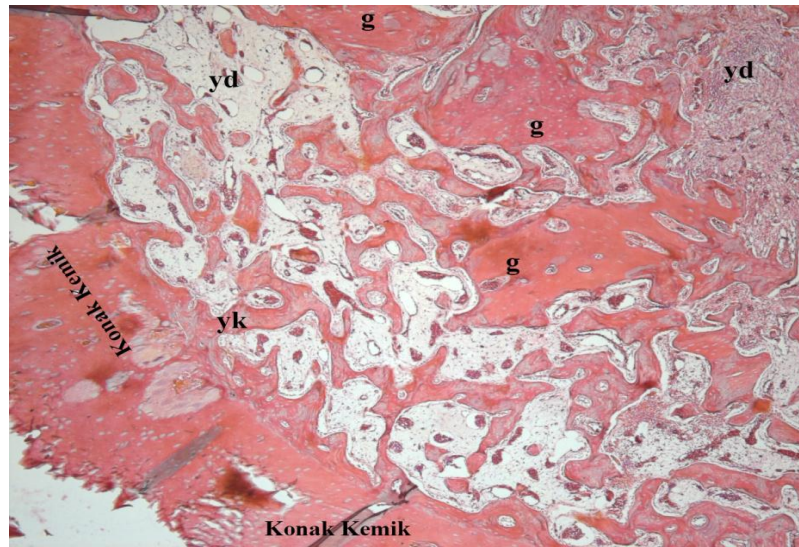
4.1. Histopatolojik Bulgular

Sakrifikasyon zamanından bağımsız olarak, E (erkek) ve K (dişi) olarak kodlanan tüm örneklerde benzer histolojik görünüm mevcuttu. Bu nedenle dördüncü hafta E ve K grupları ile sekizinci hafta E ve K grupları birlikte değerlendirilerek histopatolojik ve histomorfometrik analiz yapıldı.

Hiçbir örnekte histopatolojik olarak enfeksiyon bulgusu saptanmadı.

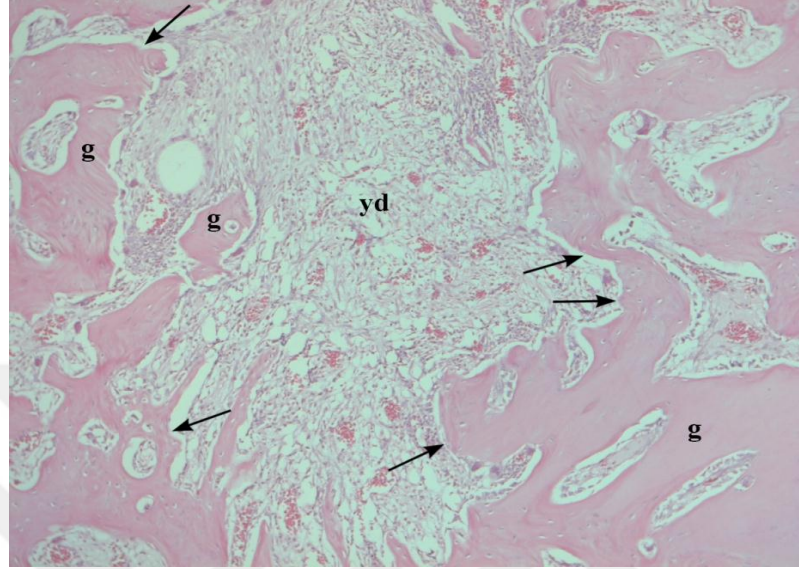
4.1.1. Dördüncü Hafta 1. Grup

Defekt alanı toplam 10 örneğin tümünde izlendi. Defekt alanının greft materyali, bağ dokusu ve yeni kemik trabekülleri ile tamamen dolu olduğu görüldü. Aynı zamanda yeni kemik trabeküllerinin defektin merkezine doğru ilerlediği dikkati çekti. Defekt bölgesinin periferde yakın alanlarında gevşek kollajenize bağ dokusu, merkeze yakın bölümlerinde ise sellüler kollajenize yapıda bağ dokusu izlendi (Şekil 4.1 , 4.2). Gerek defekt kenarlarında zedelenen periostun reaktivasyonu, gerekse greft partiküllerini çevreler biçimde yeni kemik oluşumu görüldü (Şekil 4.3). Graft partiküllerinin tümüyle rezorbe olmadığı da gözlemlendi.



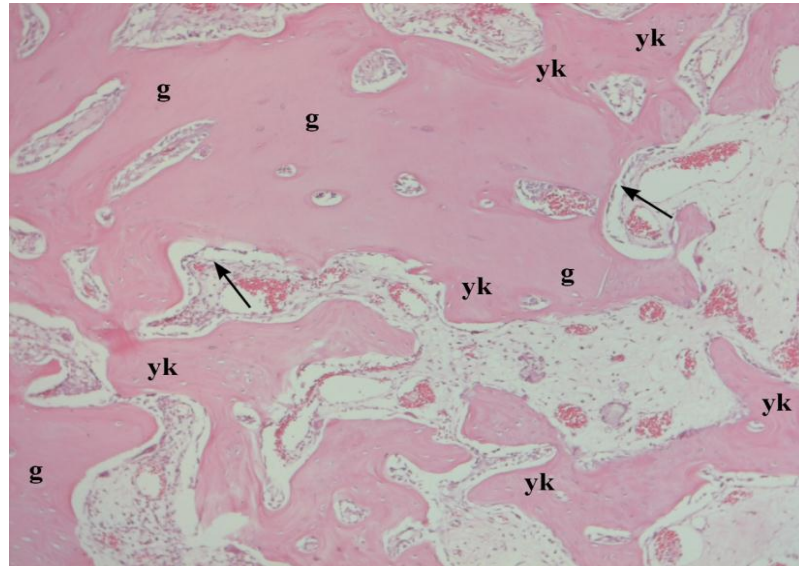
Şekil 4. 1. 1.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X40), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Konak kemik trabeküllerinin devamında defekt merkezine doğru yeni kemik trabekülleri izlendi. Defektin periferinde yer alan gevşek kollajenize bağ dokunun merkezde selüler kollajenize yapıda olduğu dikkati çekti.



Şekil 4. 2. 1.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X100), (g: greft partikülü, yd: yumuşak doku)

Yeni kemik trabeküllerinin (ok), rezorbe olmamış greft materyallerinin etrafında şekillendiği görüldü.

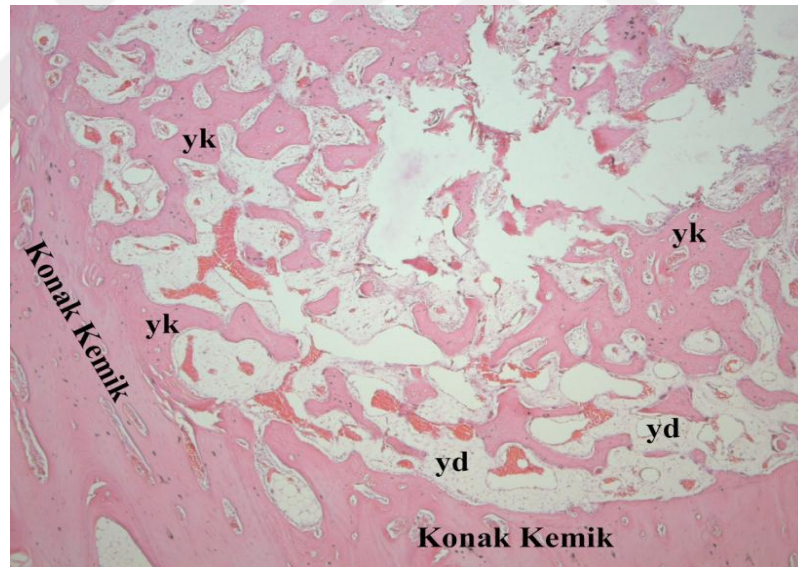


Şekil 4. 3. 1.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X200), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü)

Yeni kemik trabeküllerinin rezorbe olmamış greft materyallerinin etrafında şekillendiği izlendi. Yeni kemik trabeküllerinin etrafında osteoblastik çevrelenme (ok) dikkati çekti.

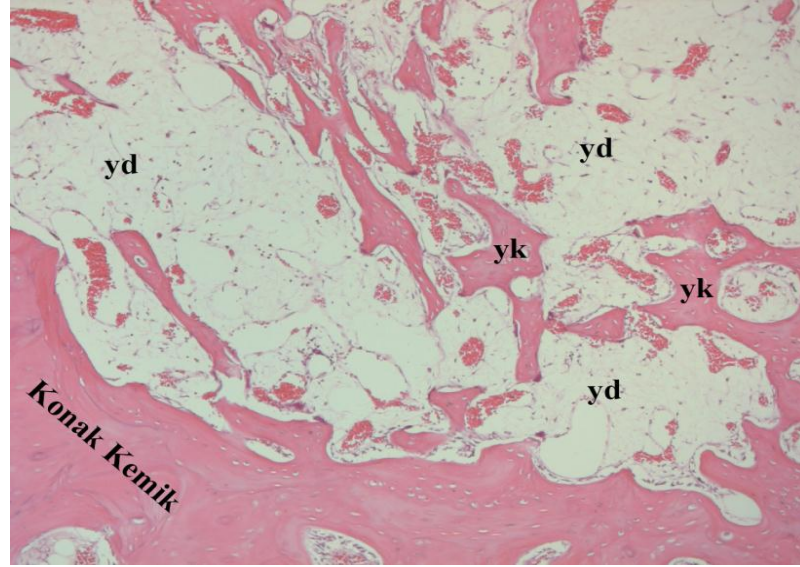
4.1.2. Dördüncü Hafta 2. Grup

Defekt alanı toplam 10 örneğin tümünde izlendi. Örneklerin hiçbirinde defekt boşluğunun tam olarak yeni kemik trabekülleri ile dolu olmadığı görüldü(Şekil 4.4). Defekt alanını dolduran doku ağırlıklı vasküler yapılardan zengin gevşek kollajenize bağ dokusu idi. Gevşek kollajenize bağ doku zemininde bir kısmı birbirleriyle anastomozlar yapan, osteoblastik çevrelenmeye sahip yeni kemik trabekülleri görüldü (Şekil 4.5). Yeni kemik üretiminin esasen centripedal; zedelenmiş periostun aktivasyonu ile defekt kenarlarından merkeze doğru gerçekleştiği dikkati çekti(Şekil 4.6).



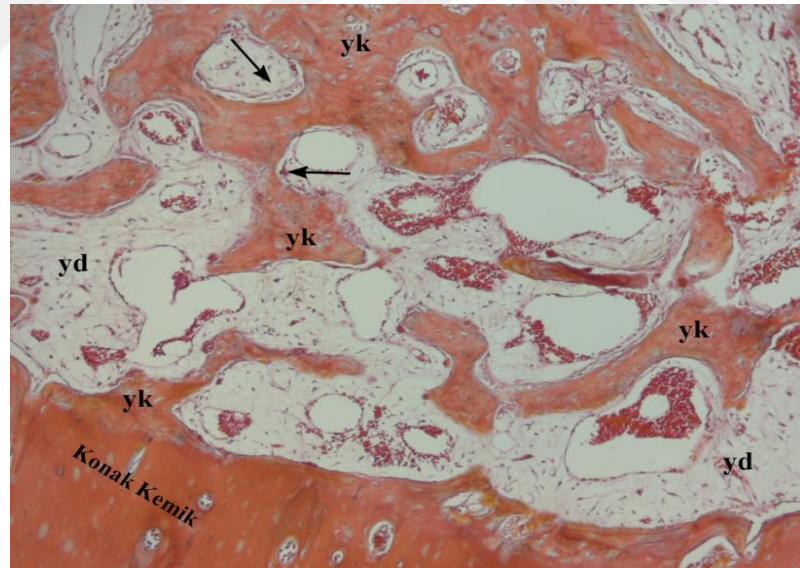
Şekil 4. 4. 2.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X40), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt alanının birbirleriyle birleşen yeni kemik trabekülleri ve gevşek kollajenize bağ dokudan oluştuğu görüldü.



Şekil 4. 5. 2.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X100), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt alanının ağırlıklı vasküler yapılardan zengin gevşek kollajenize bağ dokusu ile dolu olduğu görüldü.

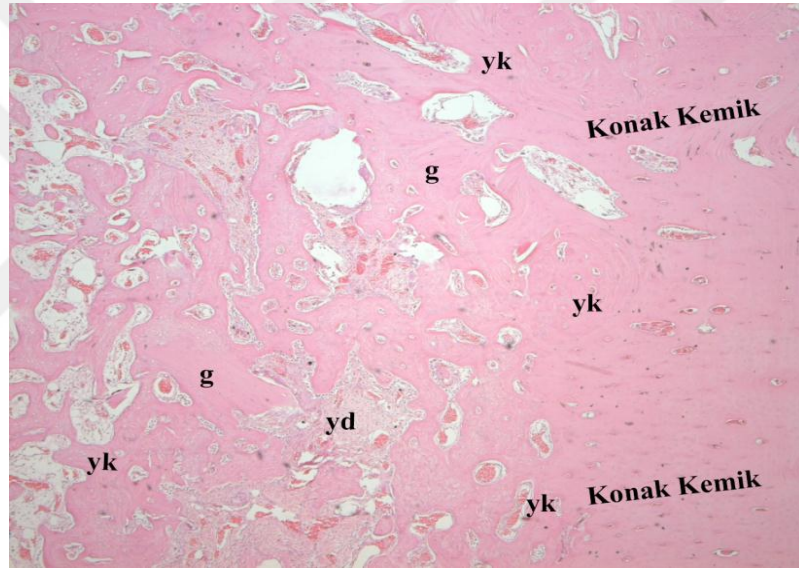


Şekil 4. 6. 2.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X100), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Bir kısmı birbiriyle birleşen osteoblastik çevrelenmeye sahip yeni kemik trabekülleri izlendi.

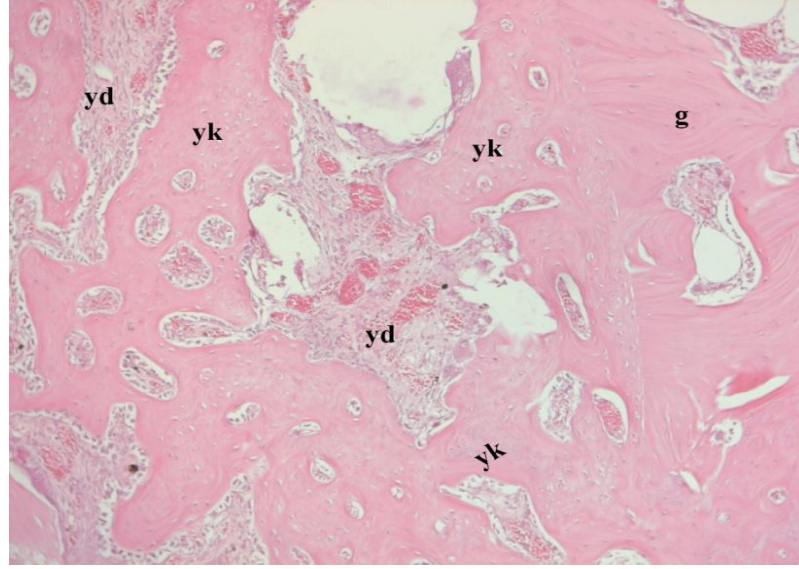
4.1.3. Dördüncü Hafta 3. Grup

Defekt alanı toplam 10 örneğin tümünde izlendi. Defekt alanının greft materyali, bağ dokusu ve yeni kemik trabekülleri ile tamamen dolu olduğu görüldü (Şekil 4.7). Defekt alanını dolduran bağ dokusunun gerek periferde gerekse merkezde sellüler kollajenize yapıda olduğu dikkat çekti (Şekil 4.8). Yeni kemik trabekülleri greft partiküllerinin etrafında oluşmakla birlikte, büyük bölümünün defekt periferinde lokalize olduğu, zedelenen periostun reaktivasyonu sonucu oluşan trabeküller biçiminde şekillendiği dikkati çekti. (Şekil 4.7). Graft partiküllerinin bir bölümünde ise rezorbsiyon izlendi (Şekil 4.9).



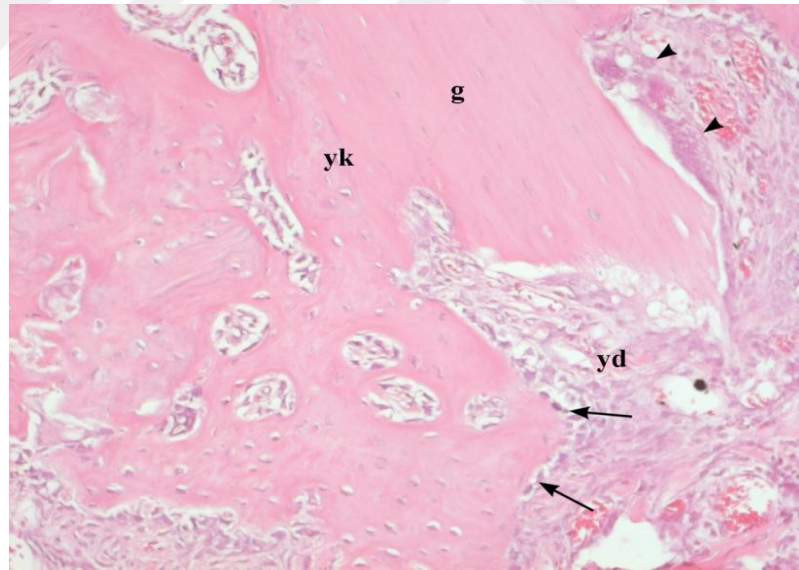
Şekil 4. 7. 3.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X40), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt alanının birbirleriyle birleşen yeni kemik trabekülleri, greft partikülleri ve sellüler kollajenize bağ dokudan oluştuğu görüldü.



Şekil 4. 8. 3.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X100), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt alanını dolduran bağ dokusunun gerek periferde gerekse merkezde sellüler kollajenize yapıda olduğu izlendi.

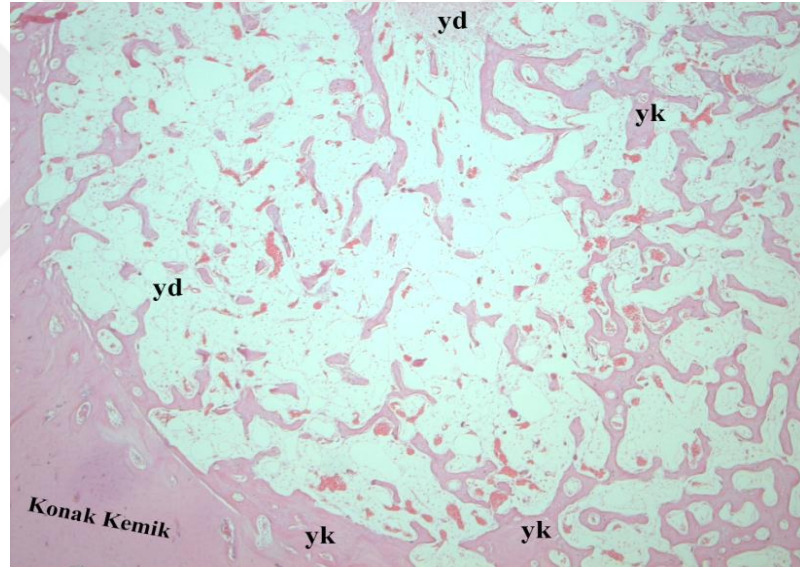


Şekil 4. 9. 3.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X400), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Greft partikülleri etrafında osteoblastik çevrelenmeye sahip (ok) yeni kemik trabekülleri görüldü. Greft partiküllerinin bir kısmında osteoklastlar (ok başı) ve rezorbsiyon izlendi.

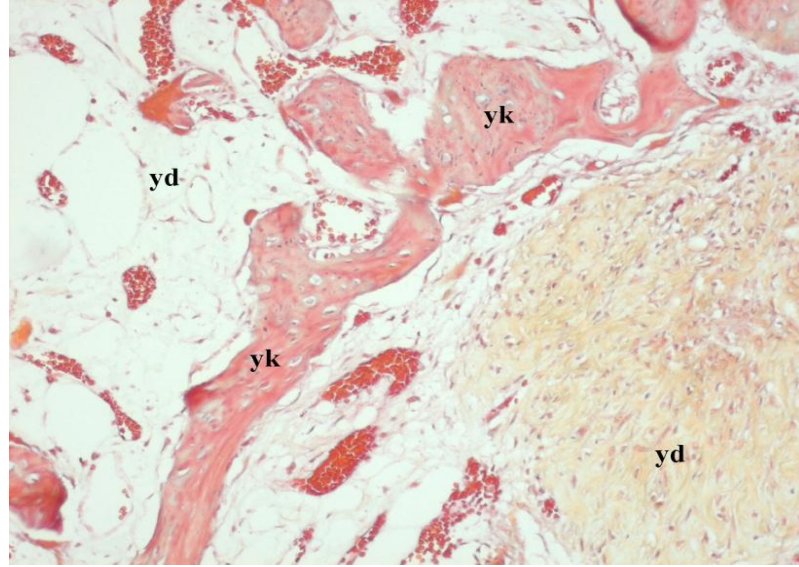
4.1.4. Dördüncü Hafta 4. Grup

Defekt alanı toplam 10 örneğin tümünde izlendi. Örneklerin hiçbirinde defekt boşluğunun tam olarak yeni kemik trabekülleri ile dolu olmadığı izlendi. Yeni kemik üretiminin yine *centripedal* olduğu, ancak 2. gruba göre merkeze daha yakında ve daha fazla sayıda yeni kemik trabekülü olduğu görüldü. Defekt alanını dolduran doku vasküler yapılardan zengin gevşek kollajenize bağ dokusu idi (Şekil 4.10). Bağ dokusunun defekt merkezine yaklaştıkça sellüler kollajenize karakter kazandığı dikkat çekti (Şekil 4.11). Bağ dokusu zemininde birbiriyle anastomozlar yapmış yeni kemik trabekülleri görüldü (Şekil 4.12). Bazı trabeküllerin etrafında gözlenen osteoklastlar da dikkat çekti.



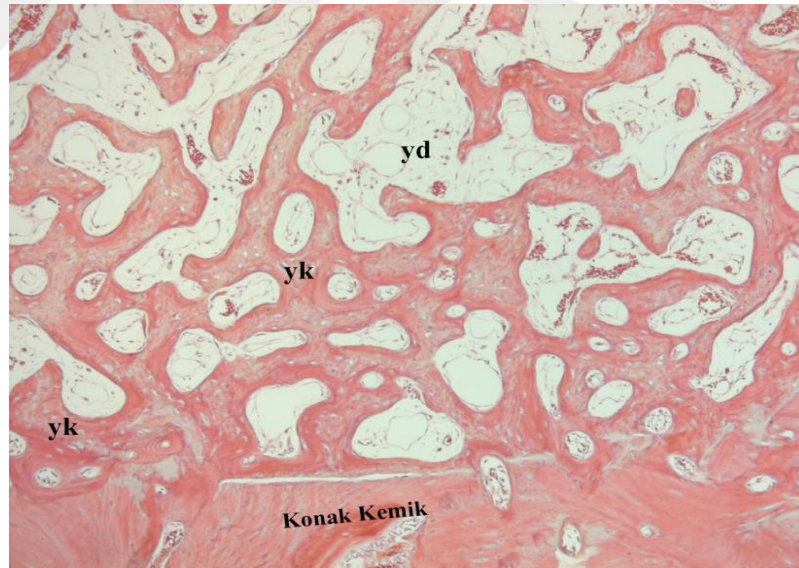
Şekil 4. 10. 4.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (HE X40), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt alanının birbirleriyle birleşen yeni kemik trabekülleri ve gevşek kollajenize bağ dokudan oluştuğu görüldü.



Şekil 4. 11. 4.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X100), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Bağ dokusunun defekt merkezine yaklaştıkça sellüler kollajenize karakter kazandığı dikkat çekti.



Şekil 4. 12. 4.Grup dördüncü hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X100), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Zedelenen periosttan başlayarak birbiriyle anastomozlar yapmış yeni kemik trabekülleri görüldü.

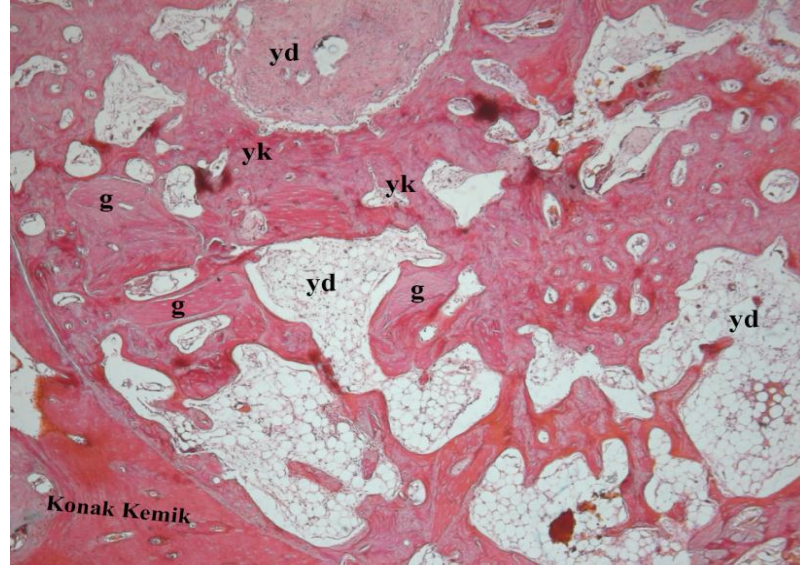
4.1.5. Sekizinci Hafta 1. Grup

Defekt alanı toplam 9 örneğin tümünde izlendi. Defektin merkezine kadar uzanmış ve birbirleriyle birleşmiş kemik trabekülleri görüldü. Genel histolojik görünüm, aynı grubun 4 haftalık örneklerindeki benzer olmakla beraber farklı olarak daha fazla sayıda kemik trabekülüne rastlandı. Bu trabeküller arasında kalmış greft partikülleri görülmekle beraber yine 4 haftalık örneklerle göre daha az oranda greft partikülünün varlığı görüldü (Şekil 4.13). Kemik trabeküllerinin arasında genellikle gevşek kollajenize, defekt merkezine yaklaştıkça sellüler kollajenize karakter kazanmış bağ dokusu izlendi (Şekil 4.14 , 4.15).



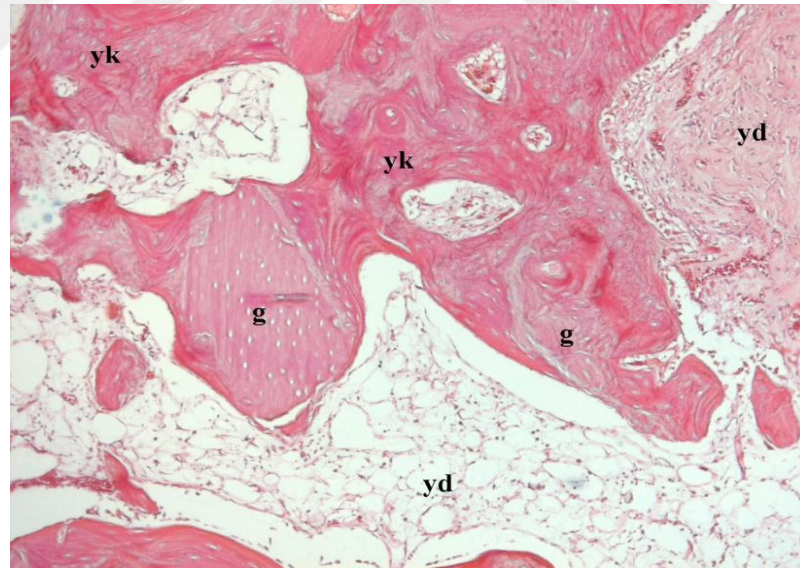
Şekil 4. 13. 1.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X40), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt alanının birbirleriyle birleşen yeni kemik trabekülleri, greft partikülleri ve sellüler kollajenize bağ dokudan oluştuğu görüldü.



Şekil 4. 14. 1.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X100),
(g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Trabeküller arasında kalmış greft partikülleri görülmekle beraber yine 4 haftalık örneklere göre daha az oranda greft partikülünün varlığı izlendi.

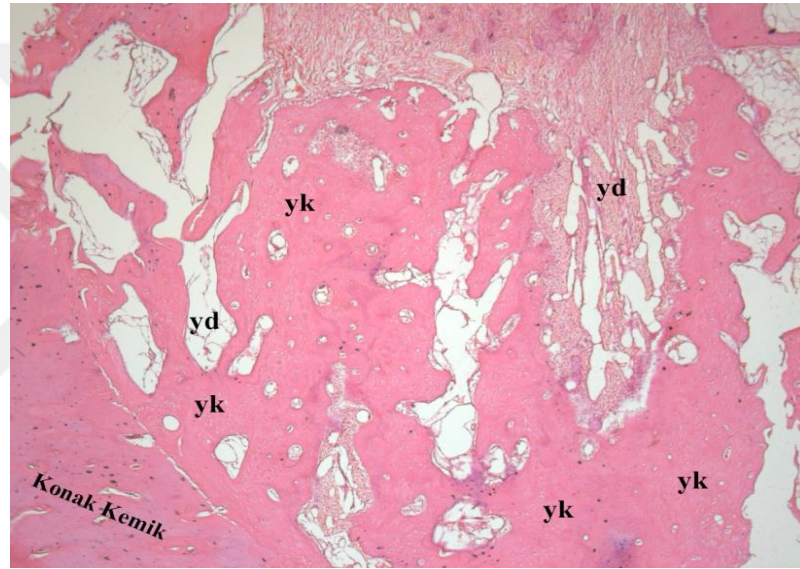


Şekil 4. 15. 1.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X100),
(g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Yeni kemik tarbekülleri arasında dar alanlar halinde greft partikülleri izlendi.

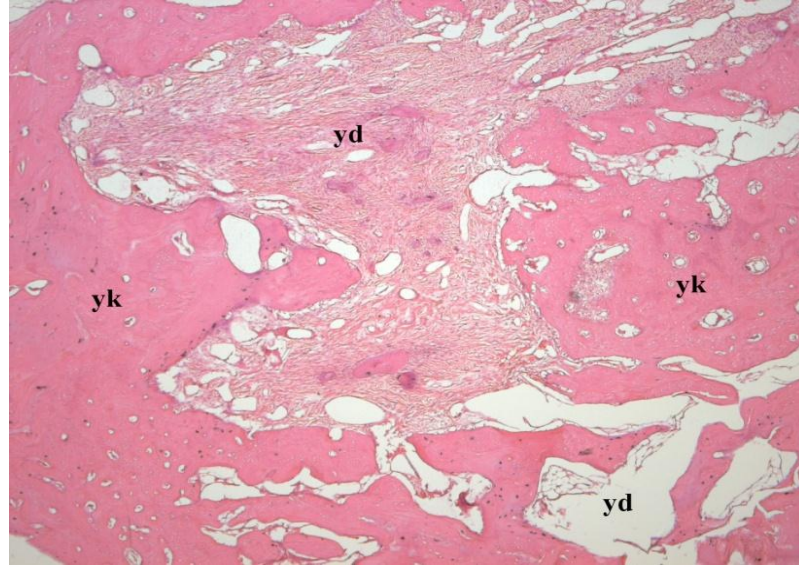
4.1.6. Sekizinci Hafta 2. Grup

Defekt alanı toplam 9 örneğin tümünde izlendi. Aynı grubun 4 haftalık örneklerine göre periferde daha yoğun olan kemik trabekülleri izlendi (Şekil 4.16). Merkeze doğru kemik yapımı biraz daha fazla olsa da defekt alanının tümünü doldurmuş bir kemik üretimi görülemedi (Şekil 4.17). Defekt alanını dolduran bağ dokusunun yine 4 haftalık örneklerle benzer şekilde damarsal yapılardan zengin gevşek kollajenize karakterde olduğu gözlemlendi. Bağ dokusunun defekt merkezine yaklaştıkça sellüler kollajenize karakter kazandığı dikkat çekti (Şekil 4.18).



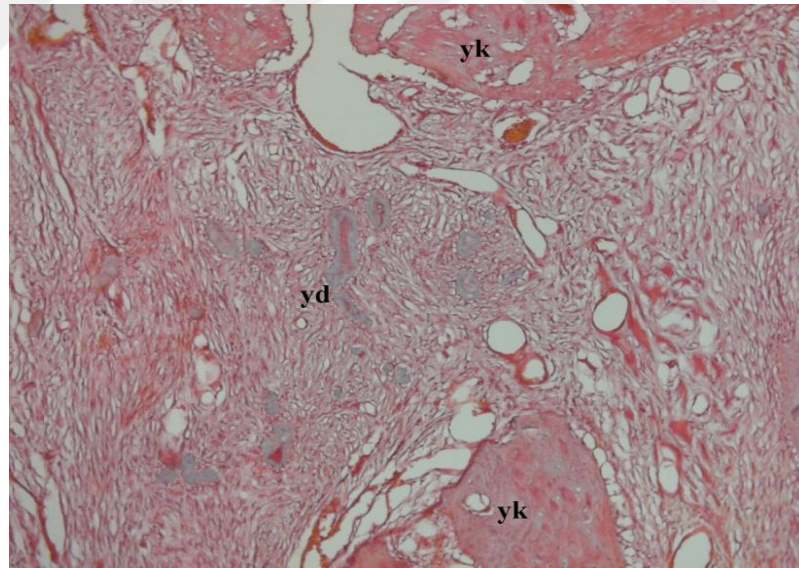
Şekil 4. 16. 2.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X40), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt alanında birbirleriyle birleşen yeni kemik trabekülleri izlenirken, defekt bölgesinin periferde gevşek, merkezde ise sellüler kollajenize bağ dokusundan oluştuğu görüldü.



Şekil 4. 17. 2.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X100), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt merkezine doğru uzanan kemik trabekülleri izlenmekle birlikte, defekt merkezinin sellüler bağ doku ile dolu olduğu görüldü.

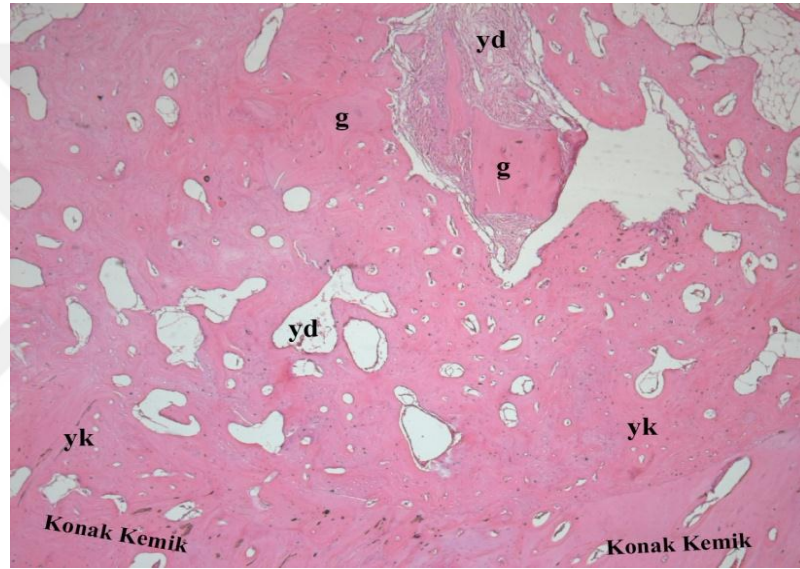


Şekil 4. 18. 2.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X200), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt merkezinin sellüler kollajenize bağ dokusu ile dolu olduğu izlendi.

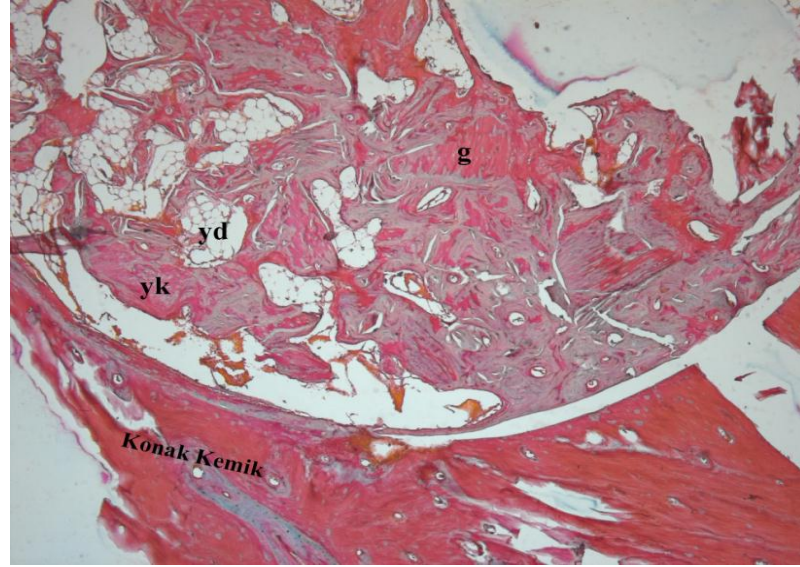
4.1.7. Sekizinci Hafta 3. Grup

Defekt alanı toplam 9 örneğin tümünde izlendi. Tüm örneklerde defektin merkezine kadar uzanan ve birbirleriyle birleşen kemik trabekülleri izlendi (Şekil 4.19,20). Kemik trabekülleri arasında kalmış greft partikülleri görülmekle birlikte; miktarının aynı grubun 4 haftalık örneklerine göre azaldığı, ancak 1. grubun 8 haftalık örneklerine göre daha fazla olduğu dikkat çekti. Kemik trabeküllerinin arasında genellikle gevşek kollajenize, defekt merkezine yaklaştıkça sellüler kollajenize karakter kazanan bağ dokusu görüldü (Şekil 4.21).



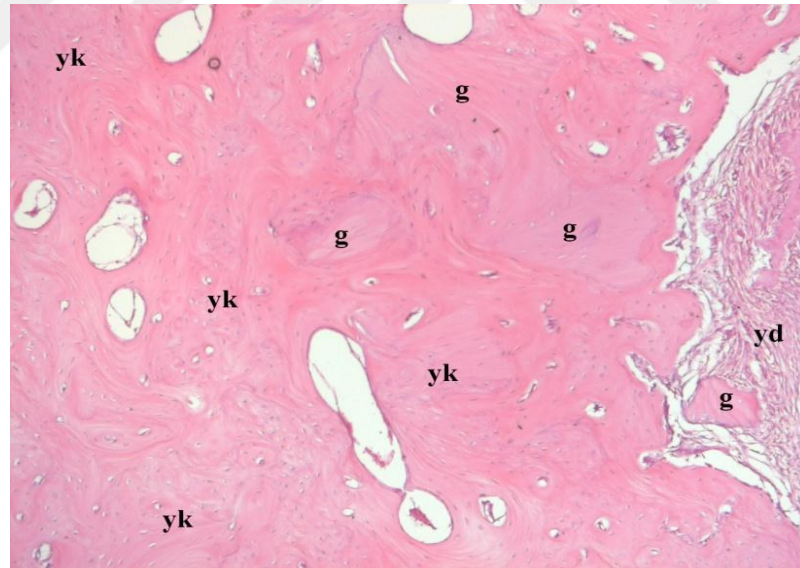
Şekil 4. 19. 3.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X40), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt alanının birbirleriyle birleşen yeni kemik trabekülleri, greft partikülleri ve sellüler kollajenize bağ dokusundan oluştuğu görüldü.



Şekil 4. 20. 3.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X40), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defektin merkezine kadar uzanan ve birbirleriyle birleşen kemik trabekülleri görüldü.

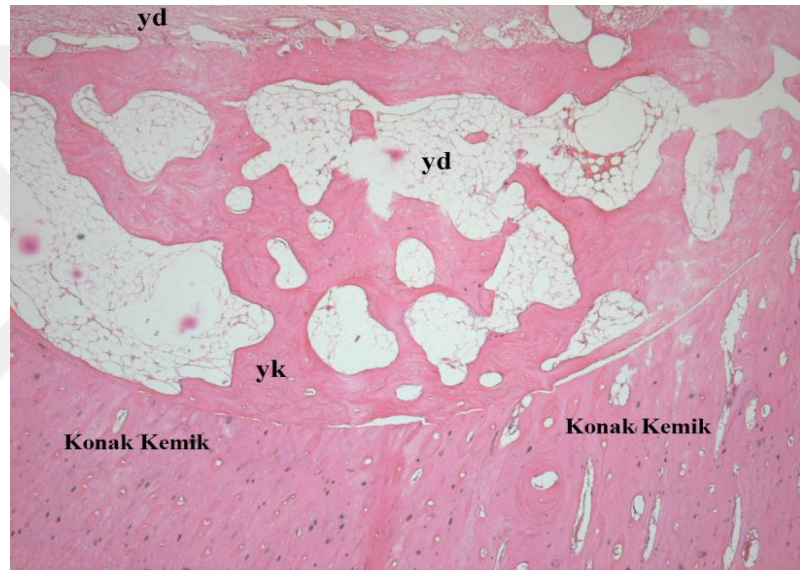


Şekil 4. 21. 3.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X200), (g: greft partikülü, yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Kemik trabekülleri arasında kalmış greft partikülleri dikkat çekti.

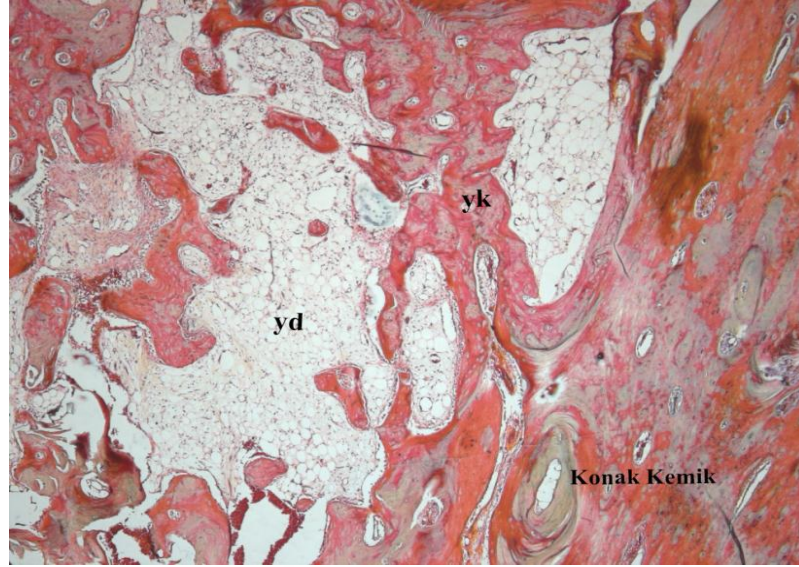
4.1.8. Sekizinci Hafta 4. Grup

Defekt alanı toplam 9 örneğin tümünde izlendi. Defektin merkezi dahil tam bir kemik dolumu görülmedi. Diğer gruplarda olduğu gibi defekt periferinde daha fazla sayıda kemik trabekülüne rastlandı (Şekil 4.22,23). Bu trabeküller etrafında, aynı grubun 4 haftalık örneklerine göre daha az sayıda olmakla birlikte osteoklastların varlığı dikkat çekti (Şekil 4.24). Bağ dokusunun yapısı genellikle vasküler yapılardan zengin gevşek kollajenize iken, defekt merkezine yaklaştıkça sellüler kollajenize karakter kazandığı görüldü.



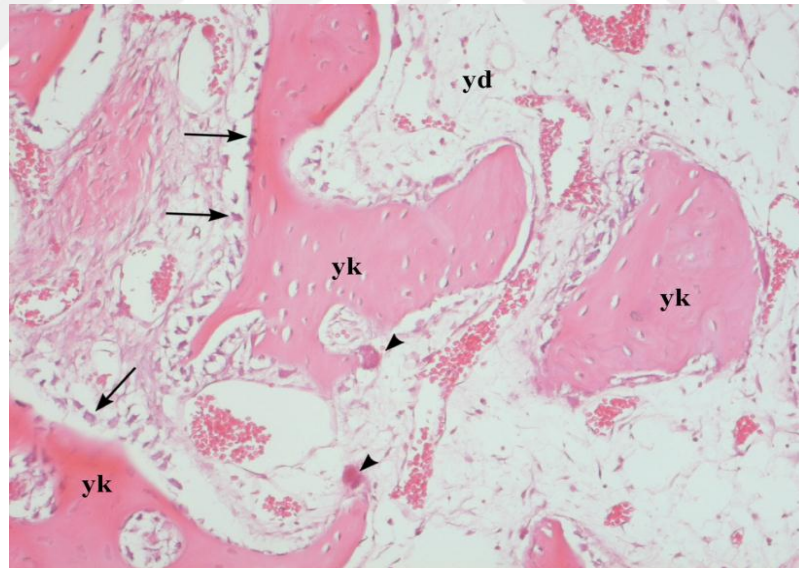
Şekil 4. 22. Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X40), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt alanının periferinden başlayan birbirleriyle birleşen yeni kemik trabekülleri ve sellüler kollajenize bağ dokudan oluştuğu görüldü.



Şekil 4. 23. 4.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (Movat's Pentakrom X40), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Defekt alanının periferden başlayarak birbirleriyle birleşen yeni kemik trabekülleri ve sellüler kollajenize bağ dokusundan oluştuğu görüldü.



Şekil 4. 24. 4.Grup sekizinci hafta histolojik görünümü (HE X400), (yk: yeni kemik trabekülü, yd: yumuşak doku)

Etraflarında az sayıda osteoklast bulunan (ok başı) genellikle osteoblastik çevrelenmeye sahip (ok) yeni kemik trabekülleri dikkat çekti.

4.2. Histomorfometrik Bulgular

Operasyondan 4 hafta ve 8 hafta sonra oluşan yeni kemik alanı, defekt bölgesindeki baē dokusu alanı ve rezorbe olmadan kalan greft materyali alanı histomorfometrik olarak deēerlendirildi ve μm^2 cinsinden hesaplandı (Tablo 4.1, Tablo 4.2).



Tablo 4. 1. Histomorfometrik analiz sonucu elde edilen veriler (4. Hafta).

	Örnek No	Yeni Kemik Alanı μm^2	Yumuşak Doku Alanı μm^2	Rezidüel Greft Alanı μm^2	Toplam Alan μm^2	Yeni Kemik Yüzdesi	Yeni Kemik+Rezidüel Greft Yüzdesi
GRUP 1 SF+OTOJEN	1	210689	222685	348632	782006	26,94	71,52
	2	202243	205350	375592	783185	25,82	73,78
	3	191523	212568	345666	749757	25,54	71,65
	4	189996	296541	294265	780802	24,33	62,02
	5	199158	255489	293568	748215	26,62	65,85
	6	195638	349546	245325	790509	24,75	55,78
	7	200635	356587	252874	810096	24,77	55,98
	8	210256	333690	268741	812687	25,87	58,94
	9	191235	304870	298741	794846	24,06	61,64
	10	199052	245897	265841	710790	28,00	65,41
GRUP 2 SF	1	218236	591254	0	809490	26,96	26,96
	2	249658	567325	0	816983	30,56	30,56
	3	267165	624017	0	891182	29,98	29,98
	4	208356	612933	0	821289	25,37	25,37
	5	190254	638996	0	829250	22,94	22,94
	6	267065	625017	0	892082	29,94	29,94
	7	203456	587985	0	791441	25,71	25,71
	8	192365	619742	0	812107	23,69	23,69
	9	183537	593264	0	776801	23,63	23,63
	10	192465	619642	0	812107	23,70	23,70

GRUP 3 AL+OTOJEN	1	120365	456328	215784	792477	15,19	42,42
	2	132019	428742	265871	826632	15,97	48,13
	3	146358	430665	255770	832793	17,57	48,29
	4	144365	474621	238220	857206	16,84	44,63
	5	136698	444203	267841	848742	16,11	47,66
	6	129019	425642	269971	824632	15,65	48,38
	7	121230	478265	220026	819521	14,79	41,64
	8	111120	465528	235681	812329	13,68	42,69
	9	118347	469521	247632	835500	14,16	43,80
	10	123365	475621	235220	834206	14,79	42,99
GRUP4 AL	1	271256	601109	0	872365	31,09	31,09
	2	285741	585513	0	871254	32,80	32,80
	3	205674	601384	0	871255	23,61	23,61
	4	249112	650300	0	899412	27,70	27,70
	5	256854	632471	0	889325	28,88	28,88
	6	198745	601513	0	800258	24,84	24,84
	7	209974	602484	0	812458	25,84	25,84
	8	266521	533414	0	799935	33,32	33,32
	9	187745	649145	0	799936	23,47	23,47
	10	205774	599178	0	799937	25,72	25,72

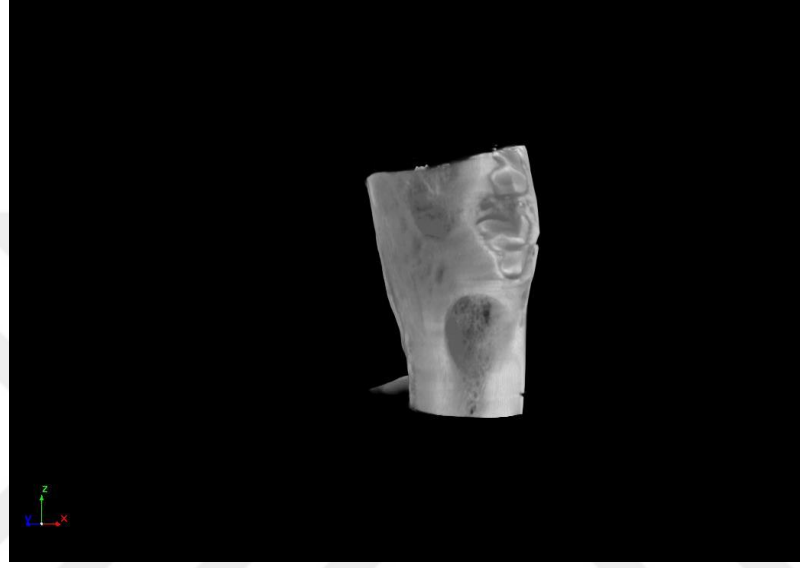
Tablo 4. 2. Histomorfometrik analiz sonucu elde edilen veriler (8. Hafta).

	Örnek No	Yeni Kemik Alanı μm^2	Yumuşak Doku Alanı μm^2	Rezidüel Greft Alanı μm^2	Toplam Alan μm^2	Yeni Kemik Yüzdesi	Yeni Kemik+Rezidüel Greft Yüzdesi
GRUP 1 SF+OTOJEN	1	412368	281044	169852	863264	47,77	67,44
	2	399620	355335	133680	888635	44,97	60,01
	3	400031	329279	122697	852007	46,95	61,35
	4	411698	348807	99520	860025	47,87	59,44
	5	418863	325257	100036	844156	49,62	61,47
	6	422365	266811	166354	855530	49,37	68,81
	7	391741	350013	126987	868741	45,09	59,71
	8	388632	325285	98740	812657	47,82	59,97
	9	374256	372810	75203	822269	45,52	54,66
	10						
GRUP 2 SF	1	391203	414123	0	805326	48,58	48,58
	2	391587	463002	0	854589	45,82	45,82
	3	344685	487863	0	832548	41,40	41,40
	4	400126	448325	0	848451	47,16	47,16
	5	385236	425924	0	811160	47,49	47,49
	6	381125	482422	0	863547	44,13	44,13
	7	356941	507811	0	864752	41,28	41,28
	8	311125	544337	0	855462	36,37	36,37
	9	395368	476997	0	872365	45,32	45,32
	10						

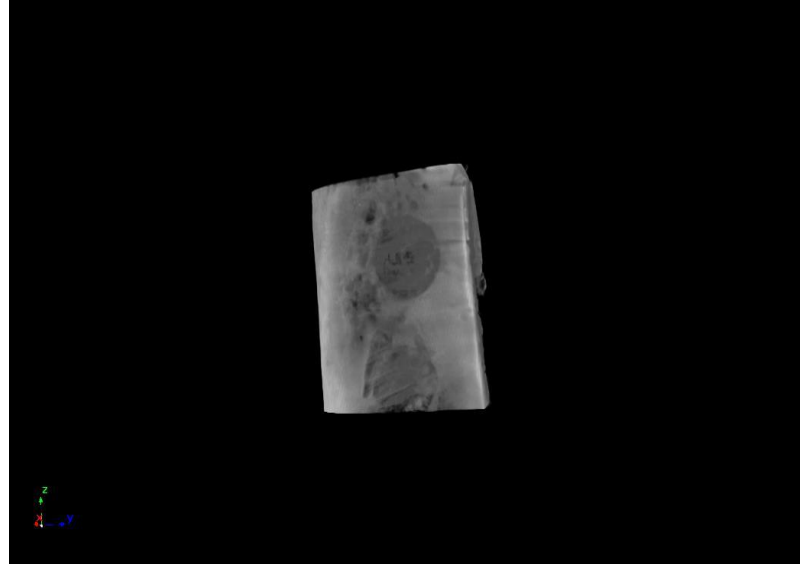
GRUP 3 AL+OTOJEN	1	389510	290603	153247	833360	46,74	65,13
	2	396321	282736	146952	826009	47,98	65,77
	3	408635	268580	176952	854167	47,84	68,56
	4	437862	272809	133752	844423	51,85	67,69
	5	416332	219461	185307	821100	50,70	73,27
	6	477125	255058	101154	833337	57,25	69,39
	7	469993	178678	191365	840036	55,95	78,73
	8	473306	195651	186573	855530	55,32	77,13
	9	465870	210499	200154	876523	53,15	75,98
	10						
GRUP4 AL	1	399352	412013	0	811365	49,22	49,22
	2	411236	433396	0	844632	48,69	48,69
	3	403269	389989	0	793258	50,84	50,84
	4	409687	456183	0	865870	47,32	47,32
	5	379452	386748	0	766200	49,52	49,52
	6	403659	407594	0	811253	49,76	49,76
	7	386980	476035	0	863015	44,84	44,84
	8	395147	474377	0	869524	45,44	45,44
	9	412008	471646	0	883654	46,63	46,63
	10						

4.3. Radyolojik Bulgular

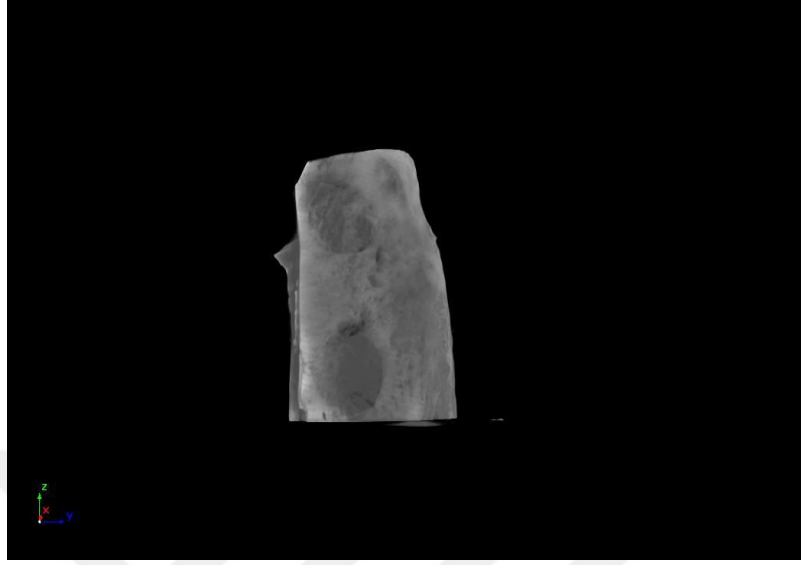
Operasyon sonrası her bir örnek analiz edilerek defekt içerisindeki kemik hacmi mm^3 cinsinden ölçüldü. Ayrıca alınan üç boyutlu görüntülerle kemik yüzdesi ve yoğunluğu da hesaplanarak değerlendirildi (Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27, Tablo 4.3).



Şekil 4. 25. Dördüncü haftada 2.Gruptan alınan örneğin üç boyutlu görüntüsü



Şekil 4. 26. Sekizinci haftada 4.Gruptan alınan örneğin üç boyutlu görüntüsü



Şekil 4. 27. Sekizinci haftada 4.Gruptan alınan örneğin üç boyutlu görüntüsü

Tablo 4. 3. Radyolojik analiz sonucu elde edilen veriler.

			4.HAFTA			8.HAFTA	
	Örnek No	Kemik Hacmi mm3	Kemik Hacmi %	Dansite 1/mm	Kemik Hacmi mm3	Kemik Hacmi %	Dansite 1/mm
GRUP 1 SF+OTOJEN	1	36,64	60,92	7,27	36,63	63,16	3,62
	2	38,71	66,97	5,77	40,13	68,25	4,65
	3	34,29	61,57	7,18	36,75	63,14	8,08
	4	35,33	62,42	3,52	30,47	54,12	5
	5	35,50	61,96	4,54	34,95	60,58	5,34
	6	30,21	52,36	5,62	34,64	59,82	4,89
	7	33,23	61,08	8,24	36,88	62,72	4,12
	8	32,66	57,70	5,71	31,71	57,23	2,19
	9	31,49	55,44	3,91	36,36	63,68	4,68
	10	35,99	60,49	4,68			
GRUP 2 SF	1	12,67	21,01	5,53	28,72	47,09	4,59
	2	17,74	30,74	6,13	27,87	48,14	3,95
	3	16,80	28,05	6,57	28,87	51,19	3,41
	4	16,07	28,54	6,38	29,89	50,74	4,48
	5	14,23	25,68	7,14	32,28	54,16	6,93
	6	20,62	35,06	5,83	25,81	45,21	4,21
	7	16,28	28,51	8,49	21,79	39,69	4,15
	8	11,48	20,21	5,36	17,39	30,03	4,72
	9	10,12	17,78	6,58	27,61	47,35	5,07
	10	13,98	23,69	5,94			

GRUP 3 AL+OTOJEN	1	23,56	42,07	6,12	32,01	55,19	3,25
	2	31,15	51,07	5,63	38,36	63,94	5,44
	3	26,15	43,16	4,36	35,57	60,08	5,39
	4	25,97	43,07	5,65	37,66	64,05	3,24
	5	25,46	42,44	5,84	39,12	68,15	5,58
	6	30,35	50,83	4,69	37,31	66,03	5,94
	7	25,02	43,89	6,97	40,56	69,57	5,89
	8	25,39	42,45	5,7	47,34	75,87	6,74
	9	28,16	48,56	5,08	42,72	69,91	4,97
	10	23,84	41,60	4,8			
GRUP4 AL	1	18,14	30,59	4,71	31,63	53,43	3,79
	2	20,42	33,98	5,57	34,48	58,64	4,21
	3	16,82	28,04	3,81	36,60	63,88	3,46
	4	16,24	28,34	5,47	30,54	50,82	3,59
	5	17,87	32,44	6,4	26,89	44,96	9,26
	6	14,93	25,14	6,79	28,68	49,54	5,32
	7	17,27	29,12	7,33	35,71	58,25	4,55
	8	19,03	32,92	4,84	32,21	57,01	5,61
	9	12,79	21,75	6,87	22,87	40,06	6,11
	10	20,15	35,42	4,73			

4.4. İstatistiksel Bulgular

Araştırmada SF+Otojen grubunun 4. hafta yeni kemik alanı ortanca değeri 199105, SF grubunun 205906, AL+Otojen grubunun 126192 ve AL grubunun 229543 olarak tespit edilmiştir. Dört grup arasında 4. hafta yeni kemik alanı değerlerinde anlamlı olarak fark var iken ($p<0,001$), 8. hafta yeni kemik alanı değerleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,126$). Yapılan iki grup karşılaştırmalarında, birinci ve üçüncü grup, ikinci ile üçüncü grup, ve üçüncü ve dördüncü grup ortancaları arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca her grupta, 8. hafta yeni kemik alanı değeri 4. haftadaki yeni kemik alanı değerinden anlamlı olarak fazla bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4. 4. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta yeni kemik alanı değerlerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması.

	Yeni Kemik Alanı μm^2 (Histomorfometrik)						
Grup	4. Hafta (n:10)			8. Hafta (n:9)			
	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	p*
SF+Otojen	199043	7341,7	199105	402175	15666,8	400031	0,009
SF	217256	32305,1	205906	373044	29616,0	385236	0,007
AL+Otojen	128289	11549,7	126192	437217	35341,7	437846	0,004
AL	233740	35639,4	229543	400088	11202,7	403269	0,006
p**	<0,001			0,126			
*Wilcoxon Testi ** Kruskal Wallis Testi							

Araştırmada SF+Otojen grubunun 4. hafta yumuşak doku alanı ortanca değeri 276015, SF grubunun 616288, AL+Otojen grubunun 460928 ve AL grubunun 601449 olarak tespit edilmiştir. Dört grup arasında 4. ve 8. hafta yumuşak doku alanı değerlerinde anlamlı olarak fark bulunmuştur ($p<0,001$). Yapılan iki grup karşılaştırmalarında, bütün gruplar arasında 4. ve 8. hafta yumuşak doku alanı değeri ortancaları arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca SF+Otojen grubu hariç diğer üç grupta, 8. hafta yumuşak doku alanı değeri 4. haftadaki yumuşak doku alanı değerinden anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.5).

Tablo 4. 5. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta yumuşak doku alanı değerlerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması.

	Yumuşak Doku Alanı μm^2 (Histomorfometrik)						
Grup	4. Hafta (n:10)			8. Hafta (n:9)			
	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	P
SF+Otojen	278322	57365,6	276015	328293	34708,4	329279	0,139
SF	608018	22003,2	616288	472312	40332,4	476997	0,005
AL+Otojen	454914	20909,9	460928	241563	41085,8	255058	0,002
AL	605651	33889,0	601449	434220	36498,1	433396	0,008
P	<0,001			<0,001			

Çalışmada SF+Otojen grubunun 4. hafta rezidüel greft alanı ortanca değeri 293917 iken AL+Otojen grubunun 242926 olarak tespit edilmiştir. İki grup arasında 4. ve 8. hafta rezidüel greft alanı değerlerinde anlamlı olarak fark bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca her iki grupta, 8. hafta rezidüel greft alanı değeri 4. haftadaki rezidüel greft alanı değerinden anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4. 6. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta rezidüel greft alanı değerlerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması.

	Rezidüel Greft Alanı μm^2 (Histomorfometrik)						
Grup	4. Hafta (n:10)			8. Hafta (n:9)			
	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	P
SF+Otojen	298925	44200,4	293917	121452	31888,3	122697	0,009
SF	0	0,0	0	0	0,0	0	-
AL+Otojen	245202	19462,5	242926	163940	32515,4	176952	0,008
AL	0	0,0	0	0	0,0	0	-
P	0,004			0,008			

Araştırmada SF+Otojen grubunun 4. hafta yeni kemik yüzdesi ortanca değeri 25,68, SF grubunun 25,54, AL+Otojen grubunun 15,42 ve AL grubunun 26,77 olarak tespit edilmiştir. AL+Otojen grubunun 4. hafta yeni kemik yüzdesi değeri diğer üç gruptan anlamlı olarak düşük iken ($p<0,001$), gruplar arasında 8. hafta yeni kemik alanı yüzde değerleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,173$). Ayrıca her grupta, 8. hafta yeni kemik yüzdesi ortanca değeri 4. haftadaki yeni kemik yüzdesi ortanca değerinden anlamlı olarak fazla bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.7).

Tablo 4. 7. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta yeni kemik yüzdesi değerlerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması.

	Yeni Kemik Yüzdesi % (Histomorfometrik)						
Grup	4. Hafta (n:10)			8. Hafta (n:9)			
	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	P
SF+Otojen	25,67	1,3	25,68	47,22	1,7	47,77	0,003
SF	26,248	3,0	25,54	44,17	3,9	45,32	0,008
AL+Otojen	15,475	1,2	15,42	51,86	3,8	51,85	0,002
AL	27,727	3,7	26,77	48,03	2,1	48,69	0,008
P	<0,001			0,173			

Çalışmada SF+Otojen grubunun 4. hafta yeni kemik ve rezidüel greft ortalama değeri 63,75, SF grubunun 25,54, AL+Otojen grubunun 44,22 ve AL grubunun 26,77 olarak tespit edilmiştir. Dört grup arasında 4. ve 8. hafta yeni kemik ve rezidüel greft ortalama değerlerinde anlamlı olarak fark bulunmuştur ($p<0,001$). Yapılan iki grup karşılaştırmalarında, SF ve AL gruplarının 4. hafta, SF+Otojen ve AL+Otojen gruplarının 8. hafta değerleri arasında fark bulunamamış olup ($p>0,05$), diğer bütün iki grup karşılaştırmalarında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca SF+Otojen grubu hariç diğer üç grupta, 8. hafta yeni kemik ve rezidüel greft ortalama değeri 4. haftadaki yeni kemik ve rezidüel greft değerinden anlamlı olarak fazla bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.8).

Tablo 4. 8. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta yeni kemik ve rezidüel greft yüzde değerlerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması.

	Yeni Kemik ve Rezidüel Greft Yüzdesi % (Histomorfometrik)						
Grup	4. Hafta (n:10)			8. Hafta (n:9)			
	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	P
SF+Otojen	64,26	6,5	63,72	61,43	4,3	60,01	0,214
SF	26,25	3,0	25,54	44,17	3,9	45,32	0,006
AL+Otojen	45,06	2,7	44,22	71,29	5,1	69,36	0,002
AL	27,73	3,7	26,77	48,03	2,1	48,69	0,002
P	<0,001			<0,001			

Araştırmada gruplar arasında, 4. ve 8. hafta radyolojik olarak kemik hacmi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$). SF, AL+Otojen ve AL gruplarının kemik hacmi değerlerinin 4. haftaya göre 8. haftada anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir ($p=0,008$). SF+Otojen grupta ise herhangi bir anlamlı artış gözlenmemiştir ($p=0,314$) (Tablo 4.9).

Tablo 4. 9. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta kemik hacmi değerlerinin radyolojik olarak karşılaştırılması.

	Kemik Hacmi mm ³ (Radyolojik)						
Grup	4. Hafta (n:10)			8. Hafta (n:9)			
	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	P
SF+Otojen	34,4	2,6	13,21	35,4	2,9	36,4	0,314
SF	15,0	3,1	13,81	26,7	4,5	27,8	0,008
AL+Otojen	26,5	2,6	15,64	39,0	4,4	38,4	0,008
AL	17,4	2,3	12,79	31,1	4,4	31,6	0,008
P	<0,001			<0,001			

Çalışmada gruplar arasında 4. ve 8. hafta radyolojik kemik hacmi yüzde değerleri arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$). SF, AL+Otojen ve AL gruplarının kemik hacmi değerlerinin 4. haftaya göre 8. haftada anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir ($p=0,008$). SF+Otojen grubunda ise herhangi bir anlamlı artış gözlenmemiştir ($p=0,260$) (Tablo 4.10).

Tablo 4. 10. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta kemik hacmi yüzde değerlerinin radyolojik olarak karşılaştırılması.

	Kemik Yüzdesi % (Radyolojik)						
Grup	4. Hafta (n:10)			8. Hafta (n:9)			
	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	P
SF+Otojen	60,1	4,0	61,0	61,4	4,1	62,7	0,260
SF	25,9	5,3	26,9	46,0	7,2	47,4	0,008
AL+Otojen	44,9	3,7	43,1	65,9	6,0	66,0	0,008
AL	29,8	4,2	29,9	53,0	7,4	53,4	0,008
P	<0,001			<0,001			

Araştırmada gruplar arasında, dansite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). SF grubunun 8. hafta dansite değeri 4. hafta dansite değerinden anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0,008$). Diğer üç grubun 4. ve 8. hafta dansite değerleri arasında herhangi bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.11).

Tablo 4. 11. Grupların dördüncü ve sekizinci hafta dansite değerlerinin radyolojik olarak karşılaştırılması.

	Dansite 1/mm (Radyolojik)						
Grup	4. Hafta (n:10)			8. Hafta (n:9)			p
	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	
SF+Otojen	5,64	1,5	5,67	4,73	1,6	4,68	0,374
SF	6,40	0,9	6,26	4,61	1,0	4,48	0,008
AL+Otojen	5,48	0,8	5,64	5,16	1,2	5,44	0,441
AL	5,65	1,2	5,52	5,10	1,8	4,55	0,214
P	0,290			0,809			

5. TARTIŞMA

Diş hekimliğinde kemik greftleri, kemik hacminin yetersiz olduğu durumlarda, kemik defektlerinin tedavisinde ve çene kemiklerinin rekonstrüksiyonunda kullanılmaktadır [56]. Bu amaçla kullanılan çok sayıda materyal olmasına rağmen, osteojenik potansiyelleri ve biyomekanik özelliklerinden dolayı otojen kemik greftleri günümüzde hala altın standart olarak değerlendirilmektedir [153].

Bu çalışmanın amacı, kemik augmentasyonlarında otojen greftlerle beraber lokal olarak kullanılan alendronatın kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerini hız ve kemik kalitesi yönünden histomorfometrik ve radyolojik olarak incelemek; ayrıca klinik uygulamalarda sıklıkla başvuru alan sert doku greftlemesi sonrası kemikleşmenin hızlandırılmasına katkıda bulunmaktır.

Kemik iyileşmesi pek çok basamağa sahip olan fizyolojik bir süreç olup yeni kemik yapımını kontrol eden mekanizma tarafından yönlendirilir. Osteoblastlar ve osteoklastlar bu mekanizmadan sorumlu iki ana hücre olarak işlev görürler. Kemik greftleme işleminin başarılı olabilmesi için bu hücreler arasındaki ilişkinin de dengede olması gereklidir. Bu denge bir şekilde bozulursa iyileşme sürecinde bozulma veya gecikme meydana gelir [154]. Kemik hastalıkları (ostomalazi, paget, vs.) , kullanılan ilaçlar (bisfosfonatlar, D vitamini, vs.) , sistemik hastalıklar (hiperparatiroidizm, hiperkalsemi vs.) gibi sebeplerden dolayı bozulabilen bu denge iki yönlüdür. Osteoklastlar lehine bozulduğunda osteoporöz gibi durumlar oluşurken, osteoblastlar lehine bozulduğunda da osteopetrozis görülebilir. Bu hassas dengenin bozulmaması gerekmektedir. Ancak, günümüzde ciddi sistemik hastalıklar süresince kullanılması yönünde görüş bildirilen ve kemik metabolizması üzerinde ciddi yan etkilerinin bulunduğu medikamanlara sıklıkla başvurulmaktadır. Onkoloji hastalarında ve osteoporöz tedavisinde başarılı şekilde kullanılan bisfosfonatlar da bunlardan biridir. Oral yoldan uygulanan bisfosfonatların en önemli yan etkileri; gastrointestinal sistem enflamasyon ve ülserleridir. İntravenöz uygulamalarda ise nefrolojik hasarlar ve göz enfeksiyonları gelişebilmektedir. Ayrıca

ilacın oral kavitede fazla kaldığında oluşan ülserasyonlar, kronik bisfosfonat tedavisi sonucunda çene kemiğinde gelişen osteonekrozlar da diş hekimliği açısından en ciddi yan etkileridir [100, 113, 137].

Sistemik kullanımının birçok yan etkisi olan ancak tedavide gösterdiği başarı nedeniyle geniş kullanım alanına sahip bu ilacın lokal uygulanması, yan etkilerinin azaltılması açısından önemli bir aşama olacaktır. Bu uygulama sonrası, osteoklastik aktivitenin inhibisyonu ile osteoblastlar lehine lokal bir değişiklik meydana gelecektir. Böylece daha hızlı ve kaliteli yeni kemik oluşumu sağlanacaktır ve en önemlisi, istenmeyen yan etkiler görülmeyecektir.

Tavşanlar, insanlara benzer sert ve yumuşak doku cevabı verdiği için kraniyofasiyal bölgedeki kemik rejenerasyonu ile ilgili çalışmalarda uygun memeli hayvan modellerinden birisi olarak kabul edilmektedir [155]. Ayrıca insan kemik metabolizmasını örnekleyecek gerekli yeterlilikte olması, operasyon sonrası bakımının kolaylığı ve düşük maliyetleri gibi nedenlerle bu çalışmada genç erişkin tavşanların deney hayvanı olarak kullanılması tercih edildi. Tavşan kemik gelişimi incelendiğinde, iskeletsel gelişimlerini 5 ayda tamamladıkları görülmüştür [156]. Bu yüzden çalışmada kullanılan tavşanlar 5-12 aylık, 3500-4000gr ağırlığında seçildi.

Tavşanlarda araştırma amacıyla deneysel defekt oluşturulacak alanlar mandibula, calvaria, femur, tibia, fibula ve radius olarak belirtilmiştir [156]. Hwang ve ark. 2016 yılında yaptıkları çalışmada tibial defektlerle çalışmışlarken, Lei ve ark. radius defektlerinde çalışmışlardır [157, 158]. Bu çalışmada opere edilecek bölge olarak, embriyolojik olarak insan maksillofasiyal bölge kemikleri ile benzer gelişim özellikleri gösterdiğinden mandibula kemiği seçildi. Mandibulanın çok büyük bir bölümü intramembranöz, küçük bir bölümü ise endokral kemikleşir. Meckel kıkırdağı adlı yapı, bir baston gibi mandibula oluşumuna destek oluşturarak rehberlik yapar. Fakat Meckel kıkırdağı kemikleşerek mandibula oluşumunu sağlamaz. Mandibula meckel kıkırdağının dış yüzünde kemikleşir. Kemikleşme önce foramen mentale bölgesinde intramembranöz olarak başlar. Mandibulanın büyük kısmı inramembranöz kemikleştikten sonra sekonder kıkırdaklar ortaya çıkarak,

intramembranöz kemikleşme devam ederken, bu sekonder kırkırdaklardan enkondral kemikleşme meydana gelir. Alt çenenin simfisis bölgesinde ayrı bir çene ucu kemikleşme merkezi oluşur. Yeni doğanda alt çene sağ ve sol tarafta iki ayrı kemik parçasıdır. Doğumdan sonra 1 yaşında tek kemik halini alır. Ramus bölgesinde sağ ve solda üçer adet sekonder kırkırdak kütlesi oluşur. İlk oluşanı ve en iri olanı 3. ayda oluşan kondil kırkırdığıdır. Bu kondil kırkırdığının 3/4' ü doğumdan önce enkondral olarak kemikleşir. Yalnız eklem tarafındaki kısmı şerit şeklinde kemikleşmeden kalır. Bu kondil kırkırdığı doğumdan sonra da uzun süre çocuğun büyümesi bitinceye kadar alt çenenin enkondral kemikleşme ile büyüme ve gelişimini sağlar. Diğer sekonder kırkırdaklar ise prenatal 4. ayda ortaya çıkan koronoid ve gonial kırkırdaklardır. Bu bölgelerdeki enkondral kemik yapımı doğumdan önce sona erer ve kemikleşerek ortadan kalkarlar.

Tibia gibi mezoderm kökenli kemikler ile mandibula gibi nöral krestten köken alan kemiklerin histolojik iyileşme özellikleri benzer olmasına karşın Leucht ve ark.'nın 2008 yılında yaptıkları çalışmada farklı embriyonik kökene sahip kemiklerin farklı iyileşme paternine sahip olduğunu göstermişlerdir. Hasar görmüş mandibulanın kallusunu incelediklerinde tamamen nöral krest kökenli hücreleri görmüşlerken, yine hasar görmüş tibia kemiğinin kallusunda ise mezoderm kökenli hücrelere rastlamışlardır. Ayrıca mezoderm kökenli progenitör hücreleri mandibulada hasarlı alana koyduklarında, bu hücrelerin osteoblastlara dönüşmediklerini görmüşlerdir [159]. Bu bilgiler ışığında; otojen greft elde edilecek donör saha, defekt oluşturulan kemik ile aynı embriyonik kökene sahip olduğundan tavşan mandibulası olarak seçildi.

Belirlenen grupların, bireysel farklılıklardan etkilenmemesi için aynı deney hayvanı üzerinde bulunması gerekliliği göz önünde bulundurularak; bir deney hayvanı mandibulasında dört defekt alanı oluşturuldu. Tavşan kemik ve diş anatomisi düşünülerek bu bölge için kritik defekt büyüklüğünü de aşmayacak şekilde 5mm genişliğinde ve 3mm derinliğinde ikisi sağ ikisi sol mandibulada olmak üzere dört adet defekt bölgesi oluşturulmasına karar verildi. Böylelikle komşu anatomik

yapılar ve diş kökleri defekt bölgesi içinde kalmadan, yeteri kadar birbirinde uzak, yeterli genişlik ve derinlikte çalışma alanları elde edilmeye çalışıldı. Çalışmanın amacı kemik iyileşmesindeki hızı göstermek olduğu için, tavşan mandibulası için belirlenen kritik defekt büyüklüğünü aşmadan daha küçük boyutlarda defektler oluşturularak çalışıldı.

Tavşan kemik metabolizma hızı, insana göre 3 kat daha hızlıdır [160]. Yapılan çalışmalar tavşanlarda kemik iyileşmesinin ortalama dört haftada tamamlandığını göstermiştir. Ancak erken ve geç dönem iyileşme bulgularını gözlemleyebilmek için iki, dört, sekiz ve oniki haftalık periyotlarda gözlemler yapılmıştır [161]. Miloro ve ark. , yaptıkları çalışmada tavşan mandibulasında oluşturdukları kritik defekt boyutu için operasyon sonrası dört, sekiz ve oniki haftalık çalışma grupları oluşturmuşlardır [161]. Zhang ve ark.'nın çalışmasında yine kritik defekt boyutlarında oluşturdukları tavşan mandibula defektleri için dört ve sekiz haftalık iyileşme sürecini takip etmişlerdir. Smajilagic ve ark. da tavşan mandibulasında yaptıkları defekt çalışmasında, kullandıkları otolog greftler için iyileşme sürecini otuzuncu ve altmışıncı günlerde değerlendirmişlerdir [162]. Bu çalışmada tavşan kemik iyileşme hızı da göz önünde bulundurularak dört ve sekiz haftalık bekleme süreleri uygun görüldü. Böylece sonuçların hem erken dönemde hem de geç dönemde karşılaştırmalı olarak incelenmesine olanak sağlandı.

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunun tanımı ilk kez 1959 yılında yapılmış olup, günümüze kadar oldukça geniş bir kullanım alanı bulmuş ve çok sayıda merkezde uygulanmıştır. Defekt üzerine bariyer bir membran uygulanmasıyla kemik rejenerasyonunun artırılmasını hedefleyen bu yöntem sayesinde defekt çevresindeki bağ dokusu elemanlarının osteojenik hücrelerden önce defekt içine invaze olup defekt alanını doldurması önlenir [163]. Aloise ve ark. tavşan kafatasında yaptıkları çalışmada, oluşturdukları defektleri greft ile doldurduktan sonra randomize olarak bir tarafta membran ile kapatırken diğer tarafı membran kullanmadan iyileşmeye bırakmışlardır. Sekiz hafta sonunda yaptıkları histolojik analiz sonucunda membran kullanılan bölgedeki kemikleşmenin çok daha iyi

olduğunu göstermişlerdir [164]. Bu amaçla kullanılan çok sayıda bariyer malzemelerden en yaygın olanları; PTFE, ePTFE, kollajen, dondurulmuş kurutulmuş dura mater, poliglaktin 910, polilaktik asit, poliglikolik asit, poliortoester, poliüretan, polihidroksibütirat, kalsiyum sülfat, mikro titanyum meş ve titanyum foillerdir [165].

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu için kullanılacak bariyer membranların bazı kritik özelliklere sahip olması gereklidir. Bunlar; biyoyumluluk, hücre gerçirgenliği olmaması ve alan koruyucu özelliklerinin olmasıdır [166]. Rezorbe olabilen membranların bu özelliklere ek olarak, rezorbe olurken minimum doku reaksiyonu ile kemik rejenerasyonunu engellememesi gereklidir [167]. Bu amaçla kullanılan çok sayıda bariyer membranların hemen hepsi benzer özelliklere sahiplerdir ve biyoyumlu materyallerden yapılmışlardır. Membran ve çevre doku arasında neredeyse hiç etkileşim olmaz [168].

Membranların çoğu, kemiğe komşu fibröz dokunun istenmeyen bölgelere prolifer olmasını engellemek ve membranın ağız ortamına açıldığı durumlarda bakteri invazyonunu önlemek için okluziv özelliklere sahiptir [169, 170]. Ayrıca çevre dokuyla birleşerek fibröz dokuların kemik iyileşmesi istenen bölgeye invazyonunu önler, iyileşmekte olan yaranın stabilizasyonunu sağlar ve çevre epitelin tekrar şekillenmesini yavaşlatır [171].

Membranlarla ilgili diğer önemli bir konu da klinik uygulanabilirliktir. Çoğu zaman membranlar şekillendirmek ve adaptasyon için kesme veya uzun dönem hareketsiz kalmalarını sağlamak için pin kullanma gibi işlemlere maruz kalırlar ve bu işlemlere dirençli olmalıdırlar. Üç boyutlu bir defekt için kullanılacak iki boyutlu membranlar çoğu zaman üç boyutlu bir yapıya konturlanmak zorunda kalırlar. Bu yüzden defekt içine girmeden mevcut şekillerini bozulmadan korumalıdırlar [172]. Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmada günümüzde de en sık kullanılan membran olan kollajen membran, yüksek biyoyumluluğu ve üzerindeki miniporlar sayesinde yumuşak dokuyla birleşerek sabitlenmesi nedeniyle tercih edildi.

Aynı zamanda alendronat solüsyonu için taşıyıcı olma özelliğinden de faydalanıldı. Kollagen, taşıyıcı olarak da kullanılabilen bir materyaldir. Oftalmolojide membran formu ile ilaç taşıyıcı olarak, yara ve yanıklarda sünger formu ile, lipozomla kombine edilmiş jel formu sürekli ilaç iletiminde, nanopartikül formu ile gen iletiminde, basit matriks formu ile de hücre kültür sistemlerinde kullanılmaktadır [173]. Friess ve ark. , kollajenin kullanıldığı kontrollü ilaç salınımlarını araştırmış; en başarılı olarak oftalmolojide bariyer olarak ve sünger formu ile antibiyotik özellikli ilaç taşımak amacıyla kullanıldığını göstermişlerdir. Kollajenin lokal olarak uygulanacak ilaçları taşımadaki bu başarısını ise yüksek biyouyumluluklarına, düşük antijenitelerine, hücresel penetrasyonları iyileştirmelerine, sıvı üzerinde işlenebilir olmalarına ve tolere edilebilir fizyolojik komponentlere ayrışmalarına bağlamışlardır [174]. Takayama ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ise kollajen membran, bir osteojenik büyüme faktörü olan laktoferrin ile yüklenip kullanılmış ve bunun osteoblastlar üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak laktoferrin yüklenmiş kollajen membranın MG63 hücrelerinde osteojenik farklılaşmaları, osteokalsin üretimini ve alkalın fosfataz aktivitesini artırarak hızlandırdığı tespit edilmiştir [175].

Günümüzde özellikle dental implant cerrahisinde ve kemik defektlerinin onarımında kullanılacak greft materyalinin seçiminde, kullanıldığı bölgede iyileşmeye katkısı özellikle göz önünde bulundurulur. Literatürde, kullanılan kemik greftinin daha hızlı kemikleşmesi amacıyla; statinlerden kök hücrelere, BMP'lerden bisfosfonatlara kadar çok sayıda kimyasal ve biyolojik molekülün lokal ya da sistemik yolla uygulanarak kemik dokusu ile etkileşimlerini araştıran çalışmalar karşımıza çıkmaktadır. Ibrahim ve ark. rat femurunda rosuvastatin ile çalışmışlar ve kemik iyileşmesini olumlu etkilediğini göstermişlerdir [176]. Santana ve ark. , farklı bir statin türevi olan simvastatin ile ratların kafataslarında kritik boyuttaki defektlerde çalışmış ve olumlu sonuçlar bildirmişlerdir [177]. Wei ve ark. , osteoporotik ratlarda plateletten zengin plazma ile kombine ettikleri kök hücreleri, oluşturdukları tibia defektlerine koymuşlar ve kök hücrelerin kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkilerine yer vermişlerdir [178].

Bisfosfonatlar; özellikle osteoporöz ve bazı kemik hastalıklarında kullanılan inorganik pirofosfat türevleridir. Kalsiyuma karşı yüksek afiniteleri olup kemik yenilenmesinin yüksek olduğu bölgelerde tutunurlar. Bisfosfonatlar; osteoporözis, kemik hastalıkları, kanser nedenli kemik rahatsızlıklarında kullanılan ilaçlardır [111]. Osteoklastik aktiviteyi inhibe ederek kemik rezorpsiyonunu engellerler [179]. Rezorpsiyona karşı etkisini, ilacın hücre içine alınarak osteoklastik hücre fonksiyonunu engellemesi ile gösterirler [180]. Düşük dozlarda oral yolla kullanılan bisfosfonatlar osteoporöz tedavisinde kullanılırken, uzun süreli yüksek dozlarda parenteral yolla uygulanan bisfosfonatlar ise multiple miyelomanın tedavisinde ve çeşitli kanser türlerinin kemik metastazının engellenmesi amacıyla kullanılmaktadır [99, 118, 151]. Kanser tedavisinde kullanılmasının olumlu sonuçları görülmüş olsa da, uzun süreli kullanımda osteoklastik aktivitenin yüksek oranda baskılanması ve buna bağlı olarak osteoblastik aktivitenin azalması ile kemik döngüsünü olumsuz etkilediği düşünülmektedir [149]. Buna bağlı olarak da BRONJ adı verilen, 8 haftadan daha uzun süre açık nekrotik kemik ile karakterize çene kemiklerinin nekrozu meydana gelmektedir. İlk defa 2003 yılında Marx ve ark. tarafından bisfosfonatların osteonekroz ile ilişkili olduğu anlaşılmış ve BRONJ'un ilk klinik tanımlaması yapılmıştır. BRONJ, 2007'de "American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons" ve "American Society for Bone and Mineral Research" tarafından bisfosfonat kullanan veya geçmişte kullanmış olan hastalarda, radyoterapi öyküsü olmaksızın sekiz haftadan fazla süredir mevcut olan maksillofasyal bölgede ekspozе kemik alanı olarak tanımlanmıştır [181].

BRONJ ilk olarak intravenöz bisfosfonat alan hastalarda tanımlanmıştır [181]. Genellikle, nitrojen içeren intravenöz bisfosfonatlarla BRONJ oluşumu daha sık görülmektedir [182]. İntravenöz bisfosfonatlarla görülen BRONJ, bisfosfonatların spesifik tipi, tek veya çok sayıdaki bisfosfonatların eş zamanlı veya peşpeşe uygulanması aynı zamanda tedavinin süresine bağlı olarak %0,0 ile %28 arasında değişen farklı oranlarda belirtilmiştir [183-185]. Oral bisfosfonat kullanan hastalarda BRONJ'un daha nadir olarak görüldüğü, yapılan çalışmalarda prevalansının %0,01 ile %0,1 arasında olduğu belirtilmiştir [186, 187]. Bununla beraber oral bisfosfonat

kullananlarda BRONJ insidansı yapılan çalışmalarda farklılık göstermektedir. Oral BRONJ olgularının intravenöz BRONJ olgularına göre daha sınırlı ve daha az ciddi olduğu bununla beraber nadir olgularda cerrahi rezeksiyon gerektiren geniş ve/veya dirençli olguların da bildirildiği görülmektedir [188]. Yapılan çok merkezli bir çalışmada BRONJ oluşumunun en sık görüldüğü oral bisfosfonatların sırasıyla alendronat, risedronat, ibandronat ve klodronat olduğu bildirilmiştir [189]. Diniz-Freitas ve ark.'nın çalışmasında ise 20 hastanın 16'sının alendronat, 4'ünün ise ibandronat kullandığı bildirilmiştir [190]. Etki gücünün diğer nitrojen içeren oral formlara göre düşük olmasına rağmen alendronat ile ilişkili BRONJ oranının yüksek olmasının alendronatın sık reçete edilmesi, uzun süre kullanımı, yarılanma zamanı ve absorpsiyonu gibi faktörlerle ilişkisi olabileceği düşünülmektedir [99].

Bisfosfonatların potens derecesini kimyasal yapılarında bulunan azot yan grupları belirlemektedir. Azot yan gruplarından olan siklik azot grubu, osteoklastik aktivitenin azaltılmasında önemli rol oynamaktadır [104]. Azot grubu bisfosfonatlar hücre içine girdiklerinde, öncelikle farnesil pirofosfat sentezini ve sonrasında osteoklast aktive edici faktörlerin salınımını engellerler. Azot içeren bisfosfonat grubu ilaçlarla etkileşmiş osteoklastlar, yüzeylerindeki pürüzlü dokularını kaybederek inaktif hale gelirler ve programlı hücre ölümüne neden olurlar [99, 151].

Bisfosfonatlar; osteoklastik inhibisyonu belirleyen potens derecelerine göre etidronat(x1), tiludronat(x10), pamidronat(x100), alendronat(x1000), risedronat(x1000-10000), ibandronat(x1000-10000) ve zoledronat(x10000) olarak sıralanmaktadır[179]. Bu sıralama göz önünde bulundurulduğunda, hem yüksek etki gücü hem de nispeten düşük potensi ile alendronat son yıllarda popüler hale gelmiş bir bisfosfonat türevi olarak karşımıza çıkmaktadır ve bu yüzden bu çalışmada kullanılması tercih edilmiştir.

Bisfosfonatların yüksek potensi sonucu sistemik uygulamalarında ortaya çıkan komplikasyonları elimine etmek amacıyla son zamanlarda lokal uygulamalar üzerine çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Böylece sistemik uygulamalarda ilgili bölgeye etki eden konsantrasyon düzeyinden daha fazlası lokal uygulamalarla

sağlanabildiği gösterilmiştir [191, 192]. Benzer şekilde Toker ve ark. rat kalvarium defekt modelinde alendronat sodyumun sistemik ve lokal uygulamaları arasında anlamlı bir fark bulamamışken, Küçük ve ark. da tavşan distraksiyon modeli üzerinde çalışmış ve benzer şekilde sistemik ve lokal uygulama arasında anlamlı fark bulamamışlardır [193, 194]. Bisfosfonat grubu ilaçların lokal kullanımı, osteoklastik etkiyi bölgesel olarak baskılaması nedeniyle kemik iyileşmesinin önemli olduğu vakalarda olumlu etkisi olacaktır. Bu durumun sistemik yan etkilerinin yok ya da minimal düzeyde kalıyor olması, bisfosfonatların lokal kullanımı konusunu daha popüler hale getirmektedir. Bu amaçla çalışmamızda lokal kemik iyileşme mekanizmasına olumlu etkisi olacağını düşündüğümüz alendronat, otojen kemik partikülleri ve/veya kollajen membran ile beraber kullanılmıştır.

Jakobsen ve ark.'nın yaptıkları tibia implantları çalışmasında, kullandıkları lokal alendronat solüsyonu konsantrasyonu 2mg/ml olarak belirlenmiştir [195, 196]. Toker ve ark. ise; ratlarda oluşturdukları kafatası defektlerinin tamiri için 1mg/ml oranında lokal alendronat solüsyonu hazırlamışlar ve kullanmışlardır. Mathijssen ve ark. , keçiler üzerinde yaptıkları çalışmada lokal olarak uygulanan alendronat solüsyonun konsantrasyonunu araştırmışlar ve optimal dozu 1mg/ml olarak tespit etmişlerdir. Daha yüksek konsantrasyonlarda daha az başarı elde etmelerinin sonucunu ise bisfosfonatların yüksek dozlardaki toksisitesine ve osteokondüksiyon sürecini aşırı uzatarak oluşacak yeni kemik dokusuna yer bırakmamalarına bağlamışlardır [197]. Bu çalışmada da bu bilgiler ışığında 1ml salinde 1mg alendronat sodyum olacak şekilde solüsyon hazırlanmıştır.

Zhao ve ark. alendronatı lokal olarak kalsiyum fosfat sementle kombine ederken, Tanaka ve ark. β -TCP ile kombine etmiş ve antirezoptif etkilerinden faydalanmıştır [198, 199]. Hur ve ark. rezorbe olabilen kemik plaklarına alendronat sodyum yükleyerek kemik rejenerasyonuna olan etkisini araştırmışlardır [200]. Boanini ve ark. ise alendronatı oktakalsiyum fosfat ile yükleyerek yaptıkları in vitro çalışmada kemik hücrelerinin aktivitesini incelemişlerdir [201]. Bobyn ve ark., köpekler üzerinde yaptıkları çalışmada femur kemiğine yerleştirdikleri titanyum

pöröz intramedullar implantlar ile alendronat sodyumu lokal olarak uygulayarak periimplant kemik miktarını radyolojik olarak analiz etmişler ve anlamlı artış tespit etmişlerdir [202].

Alendronatın pek çok çeşitli greft materyalleriyle kombine edilmesine rağmen altın standart olan otojen greftlerle uygulanması, greft rezorbsiyonunu yavaşlatması ve osteokondüktif etkiyi uzatması sebebiyle daha değerlidir. Sentetik greftlerde osteoklastik inhibisyon sonucu görülen artmış osteoblastik aktivite özelliği sayesinde gerekli olmasına rağmen otojen greftler için çabuk rezorbe olmaları nedeniyle daha gereklidir. Johansson ve ark. da yaptıkları çalışmada, otojen greftlerle maksiler sinüs augmentasyonu yapılan hastalarda 6 ay sonra %49.5 rezorbsiyon gözlemlemişlerdir [203]. Bu çalışmada da, otojen kemiğin daha uzun süre rezorbe olmadan bölgede kalması hedeflendiğinden dolayı alendronat sodyum, otojen greftlerle kombine edilmiştir. Histomorfometrik analiz sonuçlarında da 8.hafta örneklerindeki otojen greft grubunda yeni oluşan kemik ve rezidüel greft alanı yüzdesi ortalama %61.43 iken, alendronat uygulanmış otojen greft grubunda bu değer %71.3 olarak bulunmuştur. Bu örneklerdeki rezidüel greft alanı yüzdesi ise otojen greft grubunda ortalama %14.21 iken, alendronat uygulanmış otojen greft grubunda %19.43'tür. Buna göre alendronatın hem yeni oluşmuş kemik miktarını, hem de kalan rezidüel greft miktarını yaklaşık %5'lik oranla artırdığı, yani mevcut greftin rezorbsiyonunu %5'lik oranla azalttığı görülmüştür.

Lokal olarak uygulanan alendronatın etkinliği yalnızca otojen greftlerle beraber uygulandığında değil, boş kemik kavitelerinde de gösterilmiştir. 4.hafta örneklerinde, boş bırakılan kavitedeki yeni kemik oranı ortalaması %26.25 iken, bu oran alendronat solüsyonu eklendiğinde ortalama %27.73 olmuştur. Bu oranlar 8.haftada sırasıyla %44.17 ve %48.03 olarak bulunmuştur. Bu verilere göre; defektlere uygulanan alendronatın yeni kemik oranına katkısı 4.haftada yaklaşık %1 iken, 8.haftada yaklaşık %4 olmuştur.

Tüm bu veriler ele alındığında, hem yeni kemik oluşumunu provake etmesi hem de beraberinde uygulanan greftin rezorbsiyonunu engellemesi gibi

özelliklerinden faydalanmak için, boş kaviteye uygulanmaktansa; osteoindüksiyon, osteokondüksiyon, osteogenez gibi özelliklere sahip olan otojen greftlerle beraber lokal olarak uygulanması, alendronattan en üst seviyede faydalanmak adına uygun görülmektedir.

Yeni oluşmuş kemik miktarı ve yumuşak doku miktarının ölçümünde kullanılan en güvenilir yöntemler iki boyutlu histomorfometrik analiz ve üç boyutlu mikro-BT analizidir. Ancak bu miktarların histomorfometrik incelenmesinde, micro-BT analize göre daha geniş kesitler ile inceleme yapılmaktadır. Bu yüzden mikro-BT analiz ile yapılan çalışmaların daha doğru ve ayrıntılı sonuç verdiği bildirilmiştir [204, 205]. Bu farklılık, histomorfometrik analizde iki boyutlu merkezi inceleme yapılırken mikro-BT analizde daha geniş üç boyutlu inceleme yapılabilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada da temel olarak yapılan histomorfometrik analiz sonuçları, daha ayrıntılı bir mikro-BT analiz ile desteklenmiştir ve histomorfometrik analiz sonuçları ile aynı doğrultuda sonuçlara ulaşılmıştır.

Bu çalışmada otojen greft ile onarılacak kemik defektlerinde kullanılacak alendronat sodyum ile greftin osteokondüktif özelliklerinin geliştirilerek daha uzun süre defekt bölgesinde kaldığı ve daha iyi kemikleşmeyi sağladığı gösterilmiştir. Böylelikle daha kısa sürede ve daha yüksek kalitede kemik elde etme imkanı sağlanmıştır. Ancak lokal alendronatın sentetik / ksenogreftlerle beraber kullanılması ve solüsyonun konsantrasyonu ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

1. Giannoudis, P., S. Psarakis, and G. Kontakis, *Can we accelerate fracture healing? A critical analysis of the literature*. Injury, 2007. **38 Suppl 1**: p. S81-9.
2. Gutierrez, G.E., et al., *Transdermal application of lovastatin to rats causes profound increases in bone formation and plasma concentrations*. Osteoporos Int, 2006. **17**(7): p. 1033-42.
3. Urist, M.R., *Bone: formation by autoinduction*. Science, 1965. **150**(3698): p. 893-9.
4. Hollinger, J.O., et al., *A comparison of four particulate bone derivatives*. Clin Orthop Relat Res, 1991(267): p. 255-63.
5. Giuliani, N., et al., *[Bisphosphonates stimulate the production of basic fibroblast growth factor and the formation of bone marrow precursors of osteoblasts. New findings about their mechanism of action]*. Minerva Med, 1998. **89**(7-8): p. 249-58.
6. Im, G.I., et al., *Osteoblast proliferation and maturation by bisphosphonates*. Biomaterials, 2004. **25**(18): p. 4105-15.
7. von Knoch, F., et al., *Effects of bisphosphonates on proliferation and osteoblast differentiation of human bone marrow stromal cells*. Biomaterials, 2005. **26**(34): p. 6941-9.
8. Kaynak, D., et al., *A histopathological investigation on the effects of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats*. J Periodontol, 2000. **71**(5): p. 790-6.
9. Garg, A., *Bone Biology, Harvesting and Grafting for Dental Implants*. 2004, Chigago: Quintessence Publishing Co.
10. Neovius, E. and T. Engstrand, *Craniofacial reconstruction with bone and biomaterials: review over the last 11 years*. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2010. **63**(10): p. 1615-23.
11. N. Ashammakhi, P.F., *Topics in Tissue Engineering*. 2003: electronic book. p. 1-46.
12. Roberts, W.E. and J.K. Hartsfield, *Bone development and function: genetic and environmental mechanism*. Semin Orthod., 2004. **10**: p. 100-122.
13. LP. Gartner, J.H., *Color textbook of Histology* 2001, Philadelphia:Saunders: Elsevier.
14. AB., Ç., *Deneyisel olarak oluşturulan kemik defektlerinde sıvı nitrojen ve karbondioksit gazı uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi*. İÜ. Dişhekimliği Fak., 2006.
15. Wang, X., *Fundamental Biomechanics in Bone Tissue Engineering Synthesis Lectures on Tissue Engineering #4*. 2010: Morgan & Claypool Publishers.
16. Nandi, S.K., et al., *Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review*. Indian J Med Res, 2010. **132**: p. 15-30.
17. Martin RB, B.D., *Mechanical adaptation in Structure, Function and Adaptation of Compact Bone*. 1989, New York: Raven Press.
18. SY, Ş., *Kemik Defektlerine yerleştirilen farklı tipteki yapay kaynaklı kemik greft materyallerinin kemikleşmesinde hiperbarik oksijen uygulamasının etkilerinin incelenmesi*. İÜ. Dişhekimliği Fak., 2005.
19. Junqueira LC, C.J., *Basic Histology Text & Atlas*. Vol. Chapter 8. 2007, New York: The McGraw-Hill Co.
20. Martin RB, B.D., Sharkey NA, *Skeletal Tissues Mechanics*. 1998, New York: Springer.
21. Cowin, S., *Bone Mechanics Handbook*. 2001, Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press.
22. Elaine N. Marieb, K.N.H., *Human Anatomy & Physiology*. 9th Edition ed. 2012, United Kingdom: Pearson.

23. Cibickova, L., et al., *Differential effects of statins and alendronate on cholinesterases in serum and brain of rats*. *Physiol Res*, 2007. **56**(6): p. 765-70.
24. C, E., *Kemik Defektlerinde Otojen Trombositten Zengin Plazma ve Trikalsiyum Fosfat Uygulaması: Deneyisel Çalışma*. 2003, Ege Üniversitesi: İzmir.
25. DH, C., *Essential Histology*. 1993, JB Lippincott Company: Philadelphia. p. 159-190.
26. Di Lullo, G.A., et al., *Mapping the ligand-binding sites and disease-associated mutations on the most abundant protein in the human, type I collagen*. *J Biol Chem*, 2002. **277**(6): p. 4223-31.
27. Soderhall, C., et al., *Variants in a novel epidermal collagen gene (COL29A1) are associated with atopic dermatitis*. *PLoS Biol*, 2007. **5**(9): p. e242.
28. Bilezikian J, L.R., Martin TJ., *Principles of Bone Biology*. 2008, Academic Press. Inc.: San Diego, CA.
29. Deng HW, L.Y., *Current Topics in Bone Biology*. 2005, Singapur: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
30. Massaro EJ, R.J., *The Skeleton Biochemical, Genetic and Molecular Interactions in Development and Homeostasis*. 2004, Totava,NJ: Humana Press Inc.
31. Dindar, B., *Deneyisel Kemik Defektlerinde Lokal Olarak Uygulanan Simvastatinin İyileşme Üzerine Etkilerinin Histopatolojik Yöntemler İle İncelenmesi*. 2012, İstanbul: İstanbul.
32. S., A., *Kalsiyum Sülfat Partikülleri ile Trikalsiyumfosfat/Hidroksiapatit Granüllerinin Kemik İçi Kavitelerinde Osteogenezis Üzerine Olan Etkilerinin Deneyisel Olarak Karşılaştırılması*. 2006, Dicle Üniversitesi: Diyarbakır.
33. Weiner, S. and W. Traub, *Bone structure: from angstroms to microns*. *FASEB J*, 1992. **6**(3): p. 879-85.
34. Uygun, S., *Selektif COX-2 İnhibitörlerinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi (Deneyisel Çalışma)*, in *Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı*. 2011, İstanbul Üniversitesi: İstanbul.
35. Lian JB, S.G., *Osteoblast Biology in Osteoporosis*. 1996, Academic Press: San Diego.
36. Puzas FJ, L.G., *Biology of Osteoclasts and Osteoblasts in Orthopaedics.*, in *Principles of Basic and Clinical Science*. 1999, CRC. Press: Boca Raton, FL.
37. Ericksen EF, A.D., Melsen F, *Bone Histomorphometry*. 1994, New York: Raven Press.
38. HM, F., *Introduction to a new skeletal physiology*. 1995, Pueblo: Pajaro Group.
39. AM, P., *Problems in the application of in vitro systems to the study of human bone remodelling*. 1995, *Calcif: Tissue Int*. 56.
40. Borovecki, F., N. Pecina-Slaus, and S. Vukicevic, *Biological mechanisms of bone and cartilage remodelling--genomic perspective*. *Int Orthop*, 2007. **31**(6): p. 799-805.
41. N., S., *Genel Histoloji*. 1992, İstanbul: İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi.
42. S., Ç., *Sıçan Tibialarında Oluşturulan Distraksiyon Osteogenezisinde Trombin Peptidi (TP508) Uygulamasının Kemik Oluşumundaki Histopatolojik Etkilerinin İncelenmesi*. 2008, İstanbul Üniversitesi: İstanbul.
43. Currey, J., *Bones: Structure and Mechanics*. 2002, Princeton, NJ.: Princeton University Press.
44. Gupta, M.C. and S. Maitra, *Bone grafts and bone morphogenetic proteins in spine fusion*. *Cell Tissue Bank*, 2002. **3**(4): p. 255-67.
45. Fawcett DW, B.W., *A Textbook of Histology*. 10th ed. ed. 1975, Philadelphia, London, Toronto: WB Saunders Comp.
46. Marsell, R. and T.A. Einhorn, *The biology of fracture healing*. *Injury*, 2011. **42**(6): p. 551-5.
47. Caplan Al, P.D., *The Cellular and Molecular Embryology of Bone Formation, in Bone and Mineral Research*. W.A. ed. Vol. 5. 1987, New York: Elsevier.

48. Marks SC, P.S., *Bone Cell Biology: The Regulation of Development, Structure and Function in the Skeleton*. The American J of Anatomy, 1998. **183**: p. 1-44.
49. B, A., *Periapikal Lezyonlarda Prostaglandinler ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi*, in *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. 1997, İstanbul Üniversitesi: İstanbul.
50. S, Ş., *Büyüme hormonu (somatotropin) içeren biyolojik olarak parçalanabilen mikrokürelerin hazırlanması*, in *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. 2007, Marmara Üniversitesi.
51. Langer, R. and J.P. Vacanti, *Tissue engineering*. Science, 1993. **260**(5110): p. 920-6.
52. Yang, N.N., et al., *Estrogen and raloxifene stimulate transforming growth factor-beta 3 gene expression in rat bone: a potential mechanism for estrogen- or raloxifene-mediated bone maintenance*. Endocrinology, 1996. **137**(5): p. 2075-84.
53. Price JS, O.B., Russel RGG, *The Cell Biology of Bone Growth*, in *Department of Human Metabolism and Clinical Biochemistry*. 2010, Sheffield University: UK.
54. AK, Ö., *Zolendronik Asidin Kemik Defektlerindeki Kemik İyileşmesine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi*. 2012, Cumhuriyet Üniversitesi: Sivas.
55. C, T., *Ksenogreft Kemik Esaslı Greft Materyalinin Deneysel Kemik Defektlerine Kemik İliği ve Mononükleer Hücre ile Birlikte Uygulanmasının İyileşme Üzerine Olan Etkilerinin Karşılaştırılması Olarak Değerlendirilmesi*. 2005, İstanbul Üniversitesi: İstanbul.
56. FH, A., *Bone Grafting in Oral Implantology. Techniques and Clinical Applications*. 2006, Spain: Quintessence Books.
57. Miloro M, G.G., Larsen PE, Waite PD, *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2nd ed. 2004, London: BC Decker Inc.
58. Kökden A, T.M., *Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateriyaller*. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 1999. **2**: p. 134-140.
59. Faverani, L.P., et al., *Surgical techniques for maxillary bone grafting - literature review*. Rev Col Bras Cir, 2014. **41**(1): p. 61-7.
60. Buck, B.E. and T.I. Malinin, *Human bone and tissue allografts. Preparation and safety*. Clin Orthop Relat Res, 1994(303): p. 8-17.
61. Boyan, B.D., et al., *Osteoinductive ability of human allograft formulations*. J Periodontol, 2006. **77**(9): p. 1555-63.
62. Kassolis, J.D., P.S. Rosen, and M.A. Reynolds, *Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series*. J Periodontol, 2000. **71**(10): p. 1654-61.
63. Kaya Y, Ş.Ş., *Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftlerinin periodontal kemik defektlerinde uygulanımı ve son gelişmeler*. Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 2010. **34**(1-2): p. 37-45.
64. Hall, E.E., et al., *Comparison of bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible*. J Periodontol, 1999. **70**(5): p. 526-35.
65. Fleming, J.E., Jr., C.N. Cornell, and G.F. Muschler, *Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering*. Orthop Clin North Am, 2000. **31**(3): p. 357-74.
66. Şimşek A, Ç.G., Cila E, *Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler*. TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi, 2004. **3**(3-4): p. 21-34.
67. Basle, M.F., et al., *Shape and orientation of osteoblast-like cells (Saos-2) are influenced by collagen fibers in xenogenic bone biomaterial*. J Biomed Mater Res, 1998. **40**(3): p. 350-7.

68. Jensen, S.S., et al., *Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes*. Int J Oral Maxillofac Implants, 1996. **11**(1): p. 55-66.
69. Hallman, M., S. Lundgren, and L. Sennerby, *Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue*. Clin Implant Dent Relat Res, 2001. **3**(2): p. 87-96.
70. Merckx, M.A., J.C. Maltha, and P.J. Stoelinga, *Assessment of the value of anorganic bone additives in sinus floor augmentation: a review of clinical reports*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2003. **32**(1): p. 1-6.
71. Proussaefs, P., et al., *Histologic evaluation of a hydroxyapatite onlay bone graft retrieved after 9 years: a clinical report*. J Prosthet Dent, 2002. **87**(5): p. 481-4.
72. Parikh, S.N., *Bone graft substitutes: past, present, future*. J Postgrad Med, 2002. **48**(2): p. 142-8.
73. Turunen, T., et al., *Bioactive glass and calcium carbonate granules as filler material around titanium and bioactive glass implants in the medullar space of the rabbit tibia*. Clin Oral Implants Res, 1997. **8**(2): p. 96-102.
74. Schepers, E.J., et al., *Bioactive glass particles of narrow size range: a new material for the repair of bone defects*. Implant Dent, 1993. **2**(3): p. 151-6.
75. Yilmaz, S., E. Efeoglu, and A.R. Kilic, *Alveolar ridge reconstruction and/or preservation using root form bioglass cones*. J Clin Periodontol, 1998. **25**(10): p. 832-9.
76. Moore, W.R., S.E. Graves, and G.I. Bain, *Synthetic bone graft substitutes*. ANZ J Surg, 2001. **71**(6): p. 354-61.
77. Haas, R., et al., *Bovine hydroxyapatite for maxillary sinus augmentation: analysis of interfacial bond strength of dental implants using pull-out tests*. Clin Oral Implants Res, 1998. **9**(2): p. 117-22.
78. Knaack, D., et al., *Resorbable calcium phosphate bone substitute*. J Biomed Mater Res, 1998. **43**(4): p. 399-409.
79. Probst, A. and H.U. Spiegel, *Cellular mechanisms of bone repair*. J Invest Surg, 1997. **10**(3): p. 77-86.
80. Barboza, E., A. Caula, and F. Machado, *Potential of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in bone regeneration*. Implant Dent, 1999. **8**(4): p. 360-7.
81. CE, M., *Contemporary Implant Dentistry*. 1993, St.Louis: Mosby.
82. Albrektsson, T. and C. Johansson, *Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration*. Eur Spine J, 2001. **10 Suppl 2**: p. S96-101.
83. Lieberman, L.A. and C.A. Hunter, *The role of cytokines and their signaling pathways in the regulation of immunity to Toxoplasma gondii*. Int Rev Immunol, 2002. **21**(4-5): p. 373-403.
84. Seare, W.J., Jr., *Alloplasts and biointegration*. J Endourol, 2000. **14**(1): p. 9-17.
85. Greenberg AM, P.J., *Craniomaxillofacial Reconstructive and Corrective Bone Surgery: Principles of Internal Fixation Using the AO/ASIF Technique*. 2002, New York: Springer.
86. GO, K., *Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery*. 6. Ed. ed. 1984, St. Louis: Mosby Co.
87. Bucknall TE, E.H., *Wound Healing for Surgeons*. 1984, Eastbourne: Bailliere, Saunders.
88. Boyne PJ, P.M., *Osseous Reconstruction of the Maxilla and the Mandible Surgical Techniques Using Titanium Mesh & Bone Mineral*. 1997, Michigan: Quintessence Pub.

89. Dahlin, C., et al., *Healing of bone defects by guided tissue regeneration*. Plast Reconstr Surg, 1988. **81**(5): p. 672-6.
90. Kent, J.N. and M.F. Zide, *Wound healing: bone and biomaterials*. Otolaryngol Clin North Am, 1984. **17**(2): p. 273-319.
91. Aukhil, I., E. Pettersson, and C. Suggs, *Guided tissue regeneration. An experimental procedure in beagle dogs*. J Periodontol, 1986. **57**(12): p. 727-34.
92. Miller, N., et al., *Resorption rates of 2 commercially available bioresorbable membranes. A histomorphometric study in a rabbit model*. J Clin Periodontol, 1996. **23**(12): p. 1051-9.
93. Becker, W., et al., *A comparison of ePTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants*. J Periodontol, 1992. **63**(11): p. 929-40.
94. Juodzbalsys, G., A.M. Raustia, and R. Kubilius, *A 5-year follow-up study on one-stage implants inserted concomitantly with localized alveolar ridge augmentation*. J Oral Rehabil, 2007. **34**(10): p. 781-9.
95. Hammerle, C.H. and N.P. Lang, *Single stage surgery combining transmucosal implant placement with guided bone regeneration and bioresorbable materials*. Clin Oral Implants Res, 2001. **12**(1): p. 9-18.
96. Wang, H.L. and L. Boyapati, *"PASS" principles for predictable bone regeneration*. Implant Dent, 2006. **15**(1): p. 8-17.
97. Duskova, M., et al., *Guided tissue regeneration, barrier membranes and reconstruction of the cleft maxillary alveolus*. J Craniofac Surg, 2006. **17**(6): p. 1153-60.
98. Stavropoulos, F., et al., *A comparative study of barrier membranes as graft protectors in the treatment of localized bone defects. An experimental study in a canine model*. Clin Oral Implants Res, 2004. **15**(4): p. 435-42.
99. Marx, R.E., J.E. Cillo, Jr., and J.J. Ulloa, *Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment*. J Oral Maxillofac Surg, 2007. **65**(12): p. 2397-410.
100. YG, K., *Osteoporozda Kemik Kalitesi*. 2004, Ankara: Güneş Kitabevi.
101. Sıdika Sinem Soydan, F.V.Ş., Kenan Araz, *Bifosfonata bağlı olarak çene kemiklerinde gelişen osteonekrozun patogenezi ve tedavisi*. Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 2009. **33**(3): p. 61-68.
102. Fleisch, H.A., *Bisphosphonates: preclinical aspects and use in osteoporosis*. Ann Med, 1997. **29**(1): p. 55-62.
103. Bilezikian, J.P., *Osteonecrosis of the jaw--do bisphosphonates pose a risk?* N Engl J Med, 2006. **355**(22): p. 2278-81.
104. Watts, N.B., *Treatment of osteoporosis with bisphosphonates*. Rheum Dis Clin North Am, 2001. **27**(1): p. 197-214.
105. H., F., *Bisphosphonates in bone disease-from the laboratory to the patient*. 2000, USA: Academic Press.
106. Cheng, A., et al., *The dental implications of bisphosphonates and bone disease*. Aust Dent J, 2005. **50**(4 Suppl 2): p. S4-13.
107. Migliorati, C.A., et al., *Managing the care of patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis: an American Academy of Oral Medicine position paper*. J Am Dent Assoc, 2005. **136**(12): p. 1658-68.
108. RE, M., *Oral & Intravenous Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaws, History, Etiology, Prevention and Treatment*. 2007, Illinois: Quintessence Pub. Co. Inc.

109. Fleisch, H., *Bisphosphonates: mechanisms of action*. Endocr Rev, 1998. **19**(1): p. 80-100.
110. Sahni, M., et al., *Bisphosphonates act on rat bone resorption through the mediation of osteoblasts*. J Clin Invest, 1993. **91**(5): p. 2004-11.
111. Rodan, G.A. and H.A. Fleisch, *Bisphosphonates: mechanisms of action*. J Clin Invest, 1996. **97**(12): p. 2692-6.
112. Van Beek, E.R., C.W. Lowik, and S.E. Papapoulos, *Bisphosphonates suppress bone resorption by a direct effect on early osteoclast precursors without affecting the osteoclastogenic capacity of osteogenic cells: the role of protein geranylgeranylation in the action of nitrogen-containing bisphosphonates on osteoclast precursors*. Bone, 2002. **30**(1): p. 64-70.
113. Russell, R.G. and M.J. Rogers, *Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again*. Bone, 1999. **25**(1): p. 97-106.
114. Rogers, M.J., et al., *Molecular mechanisms of action of bisphosphonates*. Bone, 1999. **24**(5 Suppl): p. 73S-79S.
115. Green, J.R., *Bisphosphonates: preclinical review*. Oncologist, 2004. **9 Suppl 4**: p. 3-13.
116. Küçük, D., *Lokal ve Sistemik Olarak Uygulanan Alendronat Sodyumun Tavşanlarda Mandibuler Distraksiyon Osteogenezi Üzerine Etkilerinin Deneyisel Olarak İncelenmesi*, in *Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı*. 2007, Cumhuriyet Üniversitesi: Sivas.
117. Fleisch, H., *Bisphosphonates in osteoporosis: an introduction*. Osteoporos Int, 1993. **3 Suppl 3**: p. S3-5.
118. Ruggiero, S.L., et al., *Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases*. J Oral Maxillofac Surg, 2004. **62**(5): p. 527-34.
119. Koch, F.P., et al., *The impact of bisphosphonates on the osteoblast proliferation and Collagen gene expression in vitro*. Head Face Med, 2010. **6**: p. 12.
120. Maruotti, N., et al., *Bisphosphonates: effects on osteoblast*. Eur J Clin Pharmacol, 2012. **68**(7): p. 1013-8.
121. McLeod, N.M., B.J. Davies, and P.A. Brennan, *Bisphosphonate osteonecrosis of the jaws; an increasing problem for the dental practitioner*. Br Dent J, 2007. **203**(11): p. 641-4.
122. Clezardin, P., I. Benzaid, and P.I. Croucher, *Bisphosphonates in preclinical bone oncology*. Bone, 2011. **49**(1): p. 66-70.
123. Russell, R.G., *Bisphosphonates: the first 40 years*. Bone, 2011. **49**(1): p. 2-19.
124. Bartl, L., E. Tresckow, and C. Bartl, *Bisphosphonat Manual*. 2006, Heidelberg: Springer Verlag.
125. Naniwa, T., et al., *Alendronate-induced esophagitis: possible pathogenic role of hypersensitivity to alendronate*. Intern Med, 2008. **47**(23): p. 2083-5.
126. Gasser, J.A., et al., *Long-term protective effects of zoledronic acid on cancellous and cortical bone in the ovariectomized rat*. J Bone Miner Res, 2008. **23**(4): p. 544-51.
127. Hino, S., et al., *Response of diffuse sclerosing osteomyelitis of the mandible to alendronate: follow-up study by 99mTc scintigraphy*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2005. **34**(5): p. 576-8.
128. Dimitrakopoulos, I., C. Magopoulos, and D. Karakasis, *Bisphosphonate-induced avascular osteonecrosis of the jaws: a clinical report of 11 cases*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2006. **35**(7): p. 588-93.

129. Sevcik, M.A., et al., *Bone cancer pain: the effects of the bisphosphonate alendronate on pain, skeletal remodeling, tumor growth and tumor necrosis*. Pain, 2004. **111**(1-2): p. 169-80.
130. Markiewicz, M.R., et al., *Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a review of current knowledge*. J Am Dent Assoc, 2005. **136**(12): p. 1669-74.
131. Mystakidou, K., et al., *Approaches to managing bone metastases from breast cancer: the role of bisphosphonates*. Cancer Treat Rev, 2005. **31**(4): p. 303-11.
132. Daroszewska, A. and S.H. Ralston, *Genetics of Paget's disease of bone*. Clin Sci (Lond), 2005. **109**(3): p. 257-63.
133. Ruggiero, S.L., J. Fantasia, and E. Carlson, *Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006. **102**(4): p. 433-41.
134. Miller, P.D., *Optimizing the management of postmenopausal osteoporosis with bisphosphonates: the emerging role of intermittent therapy*. Clin Ther, 2005. **27**(4): p. 361-76.
135. Li, C., et al., *Long-term effect of incadronate disodium (YM-175) on fracture healing of femoral shaft in growing rats*. J Bone Miner Res, 2001. **16**(3): p. 429-36.
136. Cryer, B. and D.C. Bauer, *Oral bisphosphonates and upper gastrointestinal tract problems: what is the evidence?* Mayo Clin Proc, 2002. **77**(10): p. 1031-43.
137. Tyrrell, C.J., et al., *Intravenous pamidronate: infusion rate and safety*. Ann Oncol, 1994. **5 Suppl 7**: p. S27-9.
138. Kimura, M., et al., *Drug eruption due to alendronate sodium hydrate*. Contact dermatitis, 2003. **48**(2): p. 116.
139. Yaffe, A., et al., *Local delivery of an amino bisphosphonate prevents the resorptive phase of alveolar bone following mucoperiosteal flap surgery in rats*. J Periodontol, 1997. **68**(9): p. 884-9.
140. Yaffe, A., et al., *Disposition of alendronate following local delivery in a rat jaw*. J Periodontol, 1999. **70**(8): p. 893-5.
141. Binderman, I., M. Adut, and A. Yaffe, *Effectiveness of local delivery of alendronate in reducing alveolar bone loss following periodontal surgery in rats*. J Periodontol, 2000. **71**(8): p. 1236-40.
142. Astrand, J. and P. Aspenberg, *Systemic alendronate prevents resorption of necrotic bone during revascularization. A bone chamber study in rats*. BMC Musculoskelet Disord, 2002. **3**: p. 19.
143. Graham, D.Y. and H.M. Malaty, *Alendronate gastric ulcers*. Aliment Pharmacol Ther, 1999. **13**(4): p. 515-9.
144. Sun, K., et al., *Bisphosphonate treatment and risk of esophageal cancer: a meta-analysis of observational studies*. Osteoporos Int, 2013. **24**(1): p. 279-86.
145. O, G., *Alendronatın neden olduğu mide hasarının mekanizmasının ve buna karşı koruyucu ilaçların araştırılmasına yönelik bir araştırma*, in Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2006, Marmara University: Istanbul.
146. Schneider, J.P., *Should bisphosphonates be continued indefinitely? An unusual fracture in a healthy woman on long-term alendronate*. Geriatrics, 2006. **61**(1): p. 31-3.
147. Mehrotra, B. and S. Ruggiero, *Bisphosphonate complications including osteonecrosis of the jaw*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2006: p. 356-60, 515.
148. American Dental Association Council on Scientific, A., *Dental management of patients receiving oral bisphosphonate therapy: expert panel recommendations*. J Am Dent Assoc, 2006. **137**(8): p. 1144-50.

149. Zahrowski, J.J., *Bisphosphonate treatment: an orthodontic concern calling for a proactive approach*. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2007. **131**(3): p. 311-20.
150. Woo, S.B., J.W. Hellstein, and J.R. Kalmar, *Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws*. Ann Intern Med, 2006. **144**(10): p. 753-61.
151. Marx, R.E., et al., *Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment*. J Oral Maxillofac Surg, 2005. **63**(11): p. 1567-75.
152. Reszka, A.A. and G.A. Rodan, *Mechanism of action of bisphosphonates*. Curr Osteoporos Rep, 2003. **1**(2): p. 45-52.
153. Jensen, O.T., *The Sinus Bone Graft*. 2nd ed. 2006, Colorado: Quintessence. 3-41.
154. Little, D.G., M. Ramachandran, and A. Schindeler, *The anabolic and catabolic responses in bone repair*. J Bone Joint Surg Br, 2007. **89**(4): p. 425-33.
155. Siegel, M.I. and M.P. Mooney, *Appropriate animal models for craniofacial biology*. Cleft Palate J, 1990. **27**(1): p. 18-25.
156. Suckow MA, D.F., *The Laboratory Rabbit*. 1997, Boca Raton, FL: CRC Press.
157. Lei, P., et al., *A New Method for Xenogeneic Bone Graft Deproteinization: Comparative Study of Radius Defects in a Rabbit Model*. PLoS One, 2015. **10**(12): p. e0146005.
158. Hwang, J.W., et al., *Effect of Extracellular Matrix Membrane on Bone Formation in a Rabbit Tibial Defect Model*. Biomed Res Int, 2016. **2016**: p. 6715295.
159. Leucht, P., et al., *Embryonic origin and Hox status determine progenitor cell fate during adult bone regeneration*. Development, 2008. **135**(17): p. 2845-54.
160. Roberts, W.E., et al., *Implants: Bone physiology and metabolism*. CDA J, 1987. **15**(10): p. 54-61.
161. Miloro, M., D.J. Haralson, and V. Desa, *Bone healing in a rabbit mandibular defect using platelet-rich plasma*. J Oral Maxillofac Surg, 2010. **68**(6): p. 1225-30.
162. Smajilagic, A., et al., *[Biological activities of bone morphological protein in bone regeneration]*. Med Arh, 2005. **59**(2): p. 70-4.
163. Nyman, S., et al., *Role of "diseased" root cementum in healing following treatment of periodontal disease. A clinical study*. J Clin Periodontol, 1988. **15**(7): p. 464-8.
164. Aloise, A.C., et al., *Repair of critical-size bone defects using bone marrow stem cells or autogenous bone with or without collagen membrane: a histomorphometric study in rabbit calvaria*. Int J Oral Maxillofac Implants, 2015. **30**(1): p. 208-15.
165. Hammerle, C.H. and R.E. Jung, *Bone augmentation by means of barrier membranes*. Periodontol 2000, 2003. **33**: p. 36-53.
166. Hardwick R, S.T., Sanchez R, Whitley N, Ambruster J, *Membrane design criteria for guided bone regeneration of the alveolar ridge*, in *Guided bone regeneration in implant dentistry*, D.C. Buser D., Schenk R.K., Editor. 1993, Quintessence: Chicago. p. 101-136.
167. Gottlow, J., *Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results*. J Periodontol, 1993. **64**(11 Suppl): p. 1157-65.
168. Milella, E., et al., *Physicochemical, mechanical, and biological properties of commercial membranes for GTR*. Journal of Biomedical Materials Research, 2001. **58**(4): p. 427-435.
169. Hung, S.L., et al., *Permeability of Streptococcus mutans and Actinobacillus actinomycetemcomitans Through guided tissue regeneration membranes and their effects on attachment of periodontal ligament cells*. J Periodontol, 2002. **73**(8): p. 843-51.

170. Hutmacher, D.W., et al., *A tissue engineered cell-occlusive device for hard tissue regeneration--a preliminary report*. Int J Periodontics Restorative Dent, 2001. **21**(1): p. 49-59.
171. Wikesjo, U.M., et al., *Periodontal repair in dogs: gingival tissue occlusion, a critical requirement for GTR?* J Clin Periodontol, 2003. **30**(7): p. 655-64.
172. Hutmacher, D., M.B. Hurzeler, and H. Schliephake, *A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications*. Int J Oral Maxillofac Implants, 1996. **11**(5): p. 667-78.
173. Lee, C.H., A. Singla, and Y. Lee, *Biomedical applications of collagen*. Int J Pharm, 2001. **221**(1-2): p. 1-22.
174. Friess, W., *Collagen--biomaterial for drug delivery*. Eur J Pharm Biopharm, 1998. **45**(2): p. 113-36.
175. Takayama, Y. and K. Mizumachi, *Effect of lactoferrin-embedded collagen membrane on osteogenic differentiation of human osteoblast-like cells*. J Biosci Bioeng, 2009. **107**(2): p. 191-5.
176. Ibrahim, H.K. and R.H. Fahmy, *Localized rosuvastatin via implantable bioerodible sponge and its potential role in augmenting bone healing and regeneration*. Drug Deliv, 2016. **23**(9): p. 3181-3192.
177. Santana, W.M., et al., *Simvastatin and biphasic calcium phosphate affects bone formation in critical-sized rat calvarial defects*. Acta Cir Bras, 2016. **31**(5): p. 300-7.
178. Wei, B., et al., *Effect of Mesenchymal Stem Cells and Platelet-Rich Plasma on the Bone Healing of Ovariectomized Rats*. Stem Cells Int, 2016. **2016**: p. 9458396.
179. Licata, A.A., *Discovery, clinical development, and therapeutic uses of bisphosphonates*. Ann Pharmacother, 2005. **39**(4): p. 668-77.
180. van Beek, E.R., et al., *Differentiating the mechanisms of antiresorptive action of nitrogen containing bisphosphonates*. Bone, 2003. **33**(5): p. 805-11.
181. Marx, R.E., *Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic*. J Oral Maxillofac Surg, 2003. **61**(9): p. 1115-7.
182. Sharma, D., et al., *Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw (BRONJ): diagnostic criteria and possible pathogenic mechanisms of an unexpected anti-angiogenic side effect*. Vasc Cell, 2013. **5**(1): p. 1.
183. Bianchi, M.L., et al., *Comment on: Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw*. Rheumatology (Oxford), 2008. **47**(3): p. 383; author reply 383-4.
184. Malmgren, B., E. Astrom, and S. Soderhall, *No osteonecrosis in jaws of young patients with osteogenesis imperfecta treated with bisphosphonates*. J Oral Pathol Med, 2008. **37**(4): p. 196-200.
185. Boonyapakorn, T., et al., *Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: prospective study of 80 patients with multiple myeloma and other malignancies*. Oral Oncol, 2008. **44**(9): p. 857-69.
186. Hong, J.W., et al., *Oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: the first report in Asia*. Osteoporos Int, 2010. **21**(5): p. 847-53.
187. Yamazaki, T., et al., *Risk of osteomyelitis of the jaw induced by oral bisphosphonates in patients taking medications for osteoporosis: a hospital-based cohort study in Japan*. Bone, 2012. **51**(5): p. 882-7.
188. O'Ryan, F.S. and J.C. Lo, *Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in patients with oral bisphosphonate exposure: clinical course and outcomes*. J Oral Maxillofac Surg, 2012. **70**(8): p. 1844-53.

189. Otto, S., et al., *Osteoporosis and bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw: not just a sporadic coincidence--a multi-centre study*. J Craniomaxillofac Surg, 2011. **39**(4): p. 272-7.
190. Diniz-Freitas, M., et al., *Oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: Clinical characteristics of a series of 20 cases in Spain*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2012. **17**(5): p. e751-8.
191. Srisubut, S., et al., *Effect of local delivery of alendronate on bone formation in bioactive glass grafting in rats*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2007. **104**(4): p. e11-6.
192. Agholme, F. and P. Aspenberg, *Experimental results of combining bisphosphonates with allograft in a rat model*. J Bone Joint Surg Br, 2009. **91**(5): p. 670-5.
193. Kucuk, D., et al., *Comparison of local and systemic alendronate on distraction osteogenesis*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2011. **40**(12): p. 1395-400.
194. Toker, H., et al., *A comparative evaluation of the systemic and local alendronate treatment in synthetic bone graft: a histologic and histomorphometric study in a rat calvarial defect model*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2012. **114**(5 Suppl): p. S146-52.
195. Jakobsen, T., et al., *Local bisphosphonate treatment increases fixation of hydroxyapatite-coated implants inserted with bone compaction*. J Orthop Res, 2009. **27**(2): p. 189-94.
196. Jakobsen, T., et al., *Local alendronate increases fixation of implants inserted with bone compaction: 12-week canine study*. J Orthop Res, 2007. **25**(4): p. 432-41.
197. Mathijssen, N.M., et al., *Impregnation of bone chips with alendronate and cefazolin, combined with demineralized bone matrix: a bone chamber study in goats*. BMC Musculoskelet Disord, 2012. **13**: p. 44.
198. Tanaka, T., et al., *Effects of alendronate on bone formation and osteoclastic resorption after implantation of beta-tricalcium phosphate*. J Biomed Mater Res A, 2010. **93**(2): p. 469-74.
199. Zhao, J., et al., *Local treatment of osteoporosis with alendronate-loaded calcium phosphate cement*. Chin Med J (Engl), 2014. **127**(22): p. 3906-14.
200. Hur, W., et al., *Bioabsorbable bone plates enabled with local, sustained delivery of alendronate for bone regeneration*. J Control Release, 2016. **222**: p. 97-106.
201. Boanini, E., et al., *The effect of alendronate doped calcium phosphates on bone cells activity*. Bone, 2012. **51**(5): p. 944-52.
202. Bobyn, J.D., et al., *Local alendronic acid elution increases net periimplant bone formation: a micro-CT analysis*. Clin Orthop Relat Res, 2014. **472**(2): p. 687-94.
203. Johansson, B., et al., *A clinical study of changes in the volume of bone grafts in the atrophic maxilla*. Dentomaxillofac Radiol, 2001. **30**(3): p. 157-61.
204. Villanueva-Alcojol, L., et al., *Characteristics of newly formed bone in sockets augmented with cancellous porous bovine bone and a resorbable membrane: microcomputed tomography, histologic, and resonance frequency analysis*. Implant Dent, 2013. **22**(4): p. 380-7.
205. Deluiz, D., et al., *Time-dependent changes in fresh-frozen bone block grafts: tomographic, histologic, and histomorphometric findings*. Clin Implant Dent Relat Res, 2015. **17**(2): p. 296-306.

7. ÖZGEÇMİŞ

I-KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Taha ÖZER
 Doğum Tarihi, Yeri : 29 Mart 1988, Merzifon
 Uyruğu : T.C.
 Yazışma Adresi : Hacettepe Üni. Diş Hekimliği Fak. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi
 AD. Sıhhiye Çankaya / ANKARA
 Tel : +90 507 2601988
 Mail : taha.ozer@gmail.com

II-EĞİTİM

Doktora : Hacettepe Üniversitesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD.
 2011 - 2017
 Lisans : Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 2005 - 2010
 Lise : Merzifon Anadolu Lisesi 2001 - 2005

III-MESLEKİ DENEYİM

Araştırma Görevlisi : 2011 – 2017

IV-BİLİMSEL FAALİYETLER

Yayınlar

1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

Tosun, E., Bilgiç, M., Yıldırım, B., Tüz, H.H., Özer, T. Effects of Piezoelectric Surgery on Bone Regeneration Following Distraction Osteogenesis of Mandible. J Craniofac Surg, 2017. 28(1): p. 74-78.

2. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Tosun, E., Özer, T., Öztürk, A. Piezocerrahi ile Sinir Repozisyonu – Olgu Sunumu. 21th International Taoms Congress. Abstract Book, pp:0217 18–22 May, Bodrum, Türkiye, 2014.

Tüz, H.H., Kiriş, S., Özer, T., Nesiri, M. Mandibulada Görülen Odontojenik Keratokist – Vaka Sunumu. 21th International Taoms Congress. Abstract Book, pp:0221 18–22 May, Bodrum, Turkey, 2014.

Akkocaoğlu, M., Özer, T. A Surgical Treatment of Oroantral Fistula with Autogenous Bone Graft – Case Report. Açbid-Baoms joint Congress, 4th Conference of Bamfs. Abstract Book, pp:068 5–8 Nov, İstanbul, Turkey, 2014.

Özer, T., Nesiri, M., Başlarlı, Ö., Akkocaoğlu, M., Ekmekcioğlu, A. Surgical Treatment of a Mandibular Condyle Fracture – Case Report. Açbid-Baoms joint Congress, 4th Conference of Bamfs. Abstract Book, pp:100 5–8 Nov, İstanbul, Turkey, 2014.

3. Diğer Yayınlar

Aktaş, A., Tosun, E., Sezgin, Ö., Kolbaş, A., Özer, T. Multiple Giant Eruption Cysts and Treatment Approaching: Case Report. ADO J of Clinical Sciences, 2011. 5(3): p. 924-8.

Katıldığı Kongreler

TAOMS 2015 22nd International Scientific Congress. 19–22 May, Bodrum, Turkey, 2015.

Açbid-Baoms joint Congress, 4th Conference of Bamfs. 5–8 Nov, Istanbul, Turkey, 2014.

17th International Congress on Oral Pathology and Medicine joint Meeting of the British Society for Oral&Maxillofacial Pathology. 25-30 May, Istanbul, Turkey, 2014.

21th International TAOMS Congress. 18–22 May, Bodrum, Turkey, 2014.

EKLER

EK-1: Tez Çalışması İle İlgili Etik Kurul İzinleri



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

06100 Sıhhiye-Ankara
 Telefon: 0 (312) 305 1090-1082 • Faks: 0 (312) 310 0580
 www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/index_hdk.php

Sayı: 52338575 -22

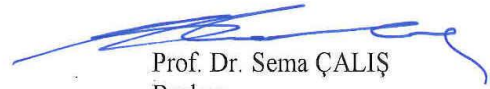
13 Haziran 2014

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

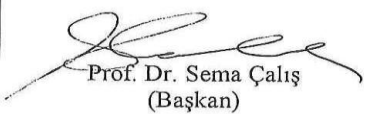
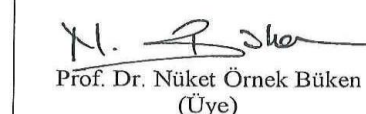
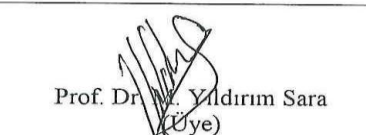
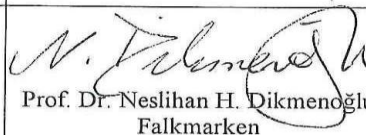
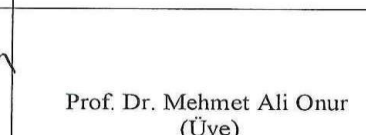
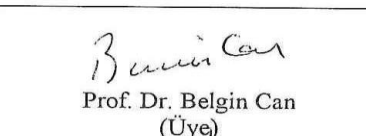
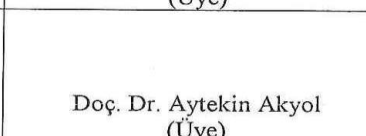
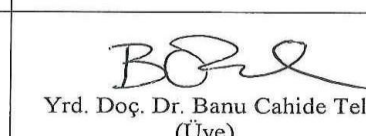
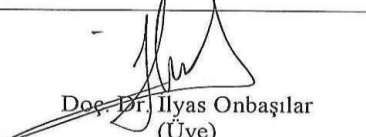
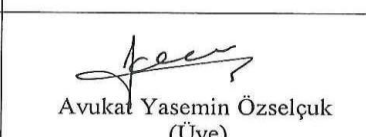
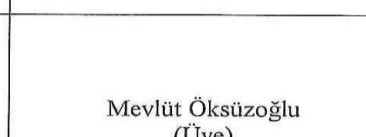
TOPLANTI TARİHİ	: 10.06.2014 (SALI)
TOPLANTI SAYISI	: 2014/05
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2014/29
KARAR NUMARASI	: 2014/29-1
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Doç.Dr.Alper AKTAŞ
HAYVAN DENEYLERİNDEN	
SORUMLU ARAŞTIRMACI	: Arş.Gör.Dt.Taha ÖZER
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	: Dr.Emre BARIŞ
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: 20 adet New Zealand Erkek Tavşan

Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr.Alper AKTAŞ'ın araştırma yürütücüsü olduğu 2014/29 kayıt numaralı "*Deneyisel Kemik Defektlerinde Lokal Olarak Uygulanan Alendronatın İyileşme Üzerine Etkilerinin Histomorfometrik ve Radyolojik Yöntemler ile İncelenmesi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Sorumlu araştırmacı deneylere başlangıç tarihini Etik Kurula bildirmekle yükümlüdür.


 Prof. Dr. Sema ÇALIŞ
 Başkan

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU GÜNDEMİ - İMZA SİRKÜLERİ
TOPLANTI TARİHİ : 10.06.2014 (SALI)
TOPLANTI SAYISI : 2014/5
TOPLANTI SAATİ : 14.30

 Prof. Dr. Sema Çalış (Başkan)	 Prof. Dr. Ömer Görduysus (Başkan Yardımcısı)	 Prof. Dr. Nüket Örnek Büken (Üye)
 Prof. Dr. Yıldırım Sara (Üye)	 Prof. Dr. Neslihan H. Dikmenoğlu Falkmarken (Üye)	 Prof. Dr. Mehmet Ali Onur (Üye)
 Prof. Dr. Belgin Can (Üye)	 Doç. Dr. Aytekin Akyol (Üye)	 Yrd. Doç. Dr. Banu Cahide Tel (Üye)
 Doç. Dr. İlyas Onbaşılar (Üye)	 Avukat Yasemin Özselçuk (Üye)	 Mevlüt Öksüzoğlu (Üye)