

**KEMİK DEFEKTLERİNİN ONARIMINDA SİSTEMİK
OLARAK UYGULANAN DENOSUMAB'IN
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

Ömer PİRİNÇ

**İnönü Üniversitesi ve Gazi Üniversitesi
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Ortak Doktora
Programı**

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Hilal ALAN

Ortak Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mustafa Sancar ATAÇ

Doktora Tezi - 2015

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

KEMİK DEFEKTLERİNİN ONARIMINDA SİSTEMİK OLARAK
UYGULANAN DENOSUMAB'IN ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ

Ömer PİRİNÇ

İnönü Üniversitesi ve Gazi Üniversitesi
Ağız Diş Ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı
Ortak Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Hilal ALAN

Ortak Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mustafa Sancar ATAÇ

Bu Arastırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Arastırma Projeleri Birimi
Tarafından 2013/184 Proje Numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA

2015

*Bu doktora tezimi, Őükran borcumu asla ödeyemeyeceğim, hayatıma yön
veren, Annem'e ve Babam'a*

KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüleri Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Ömer PİRİÇ'in "Kemik Defektlerinin Onarımında Sistemik Olarak Uygulanan Denosumab'ın Etkinliğinin İncelenmesi"** konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

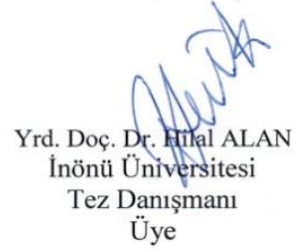
Tez Savunma Tarihi 15/09/2015


Prof. Dr. Doğan DOLANMAZ
Selçuk Üniversitesi
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Derviş YILMAZ
Gazi Üniversitesi
Üye


Prof. Dr. Belgin GÜLSÜN
Dicle Üniversitesi
Üye


Prof. Dr. Mehmet GÜL
İnönü Üniversitesi
Üye


Yrd. Doç. Dr. Hilal ALAN
İnönü Üniversitesi
Tez Danışmanı
Üye

ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/....../2015 tarih ve 2015/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Dokusu	3
2.2. Kemik Türleri	5
2.2.1. Primer Kemik Doku	5
2.2.2. Sekonder Kemik Doku	5
2.2.2.1. Sert Kemik	5
2.2.2.2. Süngerimsi Kemik	6
2.3. Kemik Hücreleri	7
2.3.1. Osteoprogenitör Hücreler	7
2.3.2. Osteoblastlar	7
2.3.3. Osteositler	8
2.3.4. Osteoklastlar	9
2.4. Periosteum ve Endosteum	9
2.5. Kemik Oluşumu	10
2.5.1. İntramembranöz Kemikleşme	10
2.5.2. Endokondral Kemikleşme	11
2.6. Kemiğin İyileşmesi	11
2.7. Kemik Defektleri	12
2.8. Oral Cerrahide Kemiğin Sınıflandırılması	13
2.9. Kemik Greftleri	13
2.9.1. Otogreft	14
2.9.2. Allogreft	15
2.9.3. Ksenogreft	15
2.9.4. Alloplastlar	16

2.10. Denosumab	17
2.10.1. Yapısı ve Özellikleri	17
2.10.2. Etki Mekanizması ve Endikasyonları	19
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Çalışma Grupları	21
3.2. Cerrahi İşlemler	23
3.3. İlaç Uygulaması	32
3.4. Histolojik ve Histomorfometrik İnceleme	33
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	36
4. BULGULAR	37
4.1. Histolojik Bulgular	37
4.1.1. Kontrol Grubuna Ait Histolojik Bulgular	37
4.1.2. Deney Grubuna Ait Histolojik Bulgular	45
4.2. Histomorfometrik Bulgular	53
5. TARTIŞMA	58
SONUÇ VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	68
EKLER	79
EK 1 Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı	79
EK 2 Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı	80
EK 3 Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı	81
EK.4 ÖZGEÇMİŞ	82

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimime başladığım günden itibaren engin bilgi ve deneyimleriyle sürekli yanımda olan danışmanım Sayın Yrd. Doç.Dr. Hilal ALAN'a

Çalışmamın histoloji ve histomorfometrik incelemelerinde destek veren Doç. Dr. Mehmet GÜL'e

Doktora eğitimi sürecinde bizlere desteklerini esirgemeyen dekanım ve anabilim dalı başkanım Prof. Dr. Serkan POLAT'a, Doç. Dr. Mustafa Sancar ATAÇ'a, Yrd. Doç. Dr. Ümit YOLCU'ya ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa KIRTAY 'a

Yurtdışı eğitimi için beni kabul ederek bana mesleki noktada yeni ufuklar açan U.S.A. Case Western Reserve Üniversitesinden Associate Professor Dale A. Baur'a

Doktora öğrenimim boyunca gösterdikleri anlayış ve destekle varlıklarını hep hissettiğim, asistan arkadaşlarıma ve klinik çalışanlarına

Tez çalışmalarım süresince bana maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen yakın dostum Orhan Sezgin SELÇUK'a

Desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli büyüğüm Halil NALBANT 'a

Desteğiyle beni her zaman motive eden sevgili eşim Fatma Tuba PİRİNÇ'e

Kazanabildiğim tüm güzelliklerin cevheri olan, varlıkları ile hayatımı aydınlatan annem Zehra PİRİNÇ 'e ve babam Mehmet Remzi PİRİNÇ 'e

Teşekkür ederim

Arş. Grv. Ömer PİRİNÇ

ÖZET

Kemik Defektlerinin Onarımında Sistemik Olarak Uygulanan Denosumab'ın Etkinliğinin İncelenmesi

Amaç: Oral ve makillofasiyal cerrahinin önemli araştırma alanlarından biri kaybolan veya azalan kemik dokusunun tamamlanıp estetik ve fonksiyonunun yeniden kazandırılmasıdır. Son yıllarda kemik defektlerin onarılması için osteoporoz tedavisinde kullanılan ilaç uygulamaları giderek popülerlik kazanmaktadır. Bu çalışmanın amacı; denosumab ilacının tek başına ve greftlerle (BCP, ksenogreft, otogreft) birlikte kullanıldığında yeni kemik oluşumundaki etkisinin araştırılmasıdır.

Yöntem: Çalışmada toplam 20 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Her tavşanın kalvaryumunda dört adet defekt hazırlanmıştır. Defektlerden birisi kontrol olarak boş bırakılmış, diğer üçüne ise eşit miktarda otogreft, ksenogreft ve bifazik kalsiyumfosfat grefti uygulanmıştır. Ameliyattan sonra hayvanların yarısına denosumab (10 mg/kg/ay) ilacı sistemik olarak 2 ay boyunca ayda 1 defa olmak üzere subkütan enjekte edilmiştir. Diğer yarısına ise aynı doz ve süre olacak şekilde subkütan olarak 10 mg/kg serum fizyolojik enjekte edilmiştir. 2 ayın sonunda tavşanlar sakrifiye edilmiştir. Tavşanlardan elde edilen numuneler kemik hacmi ve alanı değerlendirilmesi için histolojik ve histomorfometrik analize gönderilmiştir.

Bulgular: Histomorfometrik inceleme göre denosumab uygulamasıyla 8 hafta sonunda yeni kemik oluşumunu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırmıştır ($p<0.05$). Ayrıca denosumab ile otogreftin birlikte kullanıldığı grupta yeni kemik oluşumundaki artışın daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Sonuçlar: Alınan sonuçlara göre denosumab ilacı tek başına veya otogreft ile birlikte kullanıldığında kemik defektlerinin onarımında olumlu etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Öte yandan bu tedavinin klinik uygulamalar öncesinde daha geniş deney grupları içeren hayvan ve klinik çalışmalar ile doz ve süre açısından değerlendirilmesi gerekli görülmüştür.

Anahtar kelimeler: BCP, denosumab, kalvaryal defekt, ksenogreft, otogreft, tavşan

ABSTRACT

The Investigation Of The Effectiveness Of Systemically Administered Denosumab On Bone Defects Healing

Aim: One of the important research areas of oral and maxillofacial surgery injured or lost with there construction of bone tissue retrieval of aesthetics and function. In recent years, Used to treat osteoporosis drug applications are gaining popularity for the repair of bone defects. The present study aims to investigate the effectiveness of denosumab on bone regeneration when used alone or in combination with grafts (BCP, Xenograft, Autograft)

Method: 20 New Zealand white rabbits were used and four calvarial defects were prepared in each animal cranium. Autograft, xenograft, and biphasic calciumphosphate (BCP) were applied to the defects; one defect was left untreated as a control. After surgery experimental group were administered to the systemically subcutaneous injection of denosumab (10 mg/kg/month) 1 times per month for 2 months (n=8 group). Control group were administered 10mg/kg sterile saline, injected in the same manner and with the same frequency and duration. At the end of the 2 month rabbits were sacrificed, and the samples were sent for histological and histomorphometric analysis to evaluate and compare the volume and area of regenerated bone.

Results: Histomorphometric analysis showed that denosumab significant increase in bone regeneration at 8 week ($p<0.05$). When denosumab was used with autograft, a further significant increase in new bone formation was observed compared with that when other grafts was used alone ($p<0.05$).

Conclusions: According to the results denosumab has a positive effect on bone defect healing when used alone and in combination with autogreft. However, before using this treatment in clinical application, more long term studies are required with larger dose and durations in experimental groups.

Key words: Autograft, BCP, calvarial defect, denosumab, rabbit, xenograft

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

HA-TCP	: Hidroksiapatit-trikalsiyumfosfat
TCP	: Tri-kalsiyumfosfat
HA	: Hidroksi-apatit
BMD	: Bone mineral density
BCP	: Bifazik kalsiyum fosfat
H-E	: Hematoksilen Eozin
BMP	: Bone morphogenetic protein
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
Ort	: Ortalama
µg	: Mikrogram
Ca	: Kalsiyum
RANK	: Reseptör aktivatörnükleer kapp B
RANKL	: Reseptör aktivatörnükleer kapp B ligand
FDA	: Food and Drug Administration
KMY	: Kemik mineral yoğunluğu
β	: beta
HCV	: Hepatit C Virüsü
SS	: Standart Sapma
DBM	: Demineralize bone matrix
DFDBA	: Demineralize kuru dondurulmuş kemik allogrefti

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Kemiğin Yapısı	7
Şekil 2.2. Kemik greftlerin uygulanması	14
Şekil 2.3. Denosumabın kimyasal yapısı	18
Şekil 3.1. Denosumab uygulanan kontrol ve deney gruplarının şeması	23
Şekil 3.2. Tavşanların anestezide alınması	24
Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan aletler	25
Şekil 3.4. Tavşan kafa derisi traş edildikten sonraki görüntüsü	25
Şekil 3.5. Tavşan kafatasının açık kalacak şekilde örtülmesi	26
Şekil 3.6. Kafatası derisi insizyonu	26
Şekil 3.7. Tavşanın kafatası kemiğinin görüntüsü	27
Şekil 3.8. Trefin frez yardımıyla defektin açılması	27
Şekil 3.9. 6 mm çapında hazırlanan bikortikal dört adet defektin görüntüsü	28
Şekil 3.10. Ototogreftin hazırlanması	28
Şekil 3.11. Çalışmada kullanılan ksenogreft materyali	29
Şekil 3.12. Çalışmada kullanılan BCP greft materyali	29
Şekil 3.13. Greftlerin eşit miktarda uygulanması	30
Şekil 3.14. Kontrol ve deney gruplarının görüntüsü	30
Şekil 3.15. Cerrahi işlem tamamlandıktan sonra membran ile örtülüp flebin Kapatılması	31
Şekil 3.16. Çalışmada kullanılan membran materyali	31
Şekil 3.17. Sistemik olarak uygulanan denosumab ilacı	32
Şekil 3.18. Denosumab ilacının uygulanması	33
Şekil 3.19. Örneklerin dehidrate olmaları için bekletildikleri tam otomatik doku takip cihazı	34
Şekil 3.20. Histolojik incelemeye hazır hale getirmek için kullanılan parafin blok cihazı ve mikrotom cihazı	34
Şekil 3.21. Histolojik değerlendirme için kullanılan boyama cihazı	35
Şekil 4.1. Kontrol A grubu genel histolojik görünüm	37
Şekil 4.2. Kontrol A grubuna ait örnek fotoğraf	38

Şekil 4.3. Kontrol A grubuna ait trikrom boyama yapıldıktan sonra çekilmiş örnek fotoğraf	38
Şekil 4.4. Kontrol B grubu genel histolojik görünüm	39
Şekil 4.5. Kontrol B grubuna ait örnek fotoğraf	40
Şekil 4.6. Kontrol B grubuna ait trikrom boyama yapıldıktan sonra çekilmiş örnek fotoğraf	40
Şekil 4.7. Kontrol C grubu genel histolojik görünüm	41
Şekil 4.8. Kontrol C grubuna ait örnek fotoğraf	42
Şekil 4.9. Kontrol C grubuna ait trikrom boyama yapıldıktan sonra çekilmiş örnek fotoğraf	42
Şekil 4.10. Kontrol D grubu genel histolojik görünüm	43
Şekil 4.11. Kontrol D grubuna ait örnek fotoğraf	44
Şekil 4.12. Kontrol D grubuna ait trikrom boyama yapıldıktan sonra çekilmiş örnek fotoğraf	44
Şekil 4.13. Deney A grubu genel histolojik görünüm	45
Şekil 4.14. Deney A grubuna ait örnek fotoğraf	46
Şekil 4.15. Deney A grubuna ait trikrom boyama yapıldıktan sonra çekilmiş örnek fotoğraf	46
Şekil 4.16. Deney B grubu genel histolojik görünüm	47
Şekil 4.17. Deney B grubuna ait örnek fotoğraf	48
Şekil 4.18. Deney B grubuna ait trikrom boyama yapıldıktan sonra çekilmiş örnek fotoğraf	48
Şekil 4.19. Deney C grubu genel histolojik görünüm	49
Şekil 4.20. Deney C grubuna ait örnek fotoğraf	50
Şekil 4.21. Deney C grubuna ait trikrom boyama yapıldıktan sonra çekilmiş örnek fotoğraf	50
Şekil 4.22. Deney D grubu genel histolojik görünüm	51
Şekil 4.23. Deney D grubuna ait örnek fotoğraf	52
Şekil 4.24. Deney D grubuna ait trikrom boyama yapıldıktan sonra çekilmiş örnek fotoğraf	52
Şekil 4.25. Histomorfometrik inceleme sonuçlarına göre yeni oluşan kemik alanlarının dağılımları	55
Şekil 4.26. Histomorfometrik inceleme sonuçlarına göre yeni oluşan kemik alanlarının yüzde cinsinden dağılımları (%)	57

TABLULAR DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Denosumab-Bifosfonat karşılaştırması	20
Tablo 4.1. Yeni kemik alanı değerlendirilmesi	54
Tablo 4.2. Yeni kemik alanının Post hoc değerlendirmeler	54
Tablo 4.3. Yeni kemik alanının yüzdesi	56
Tablo 4.4. Yeni kemik yüzdesinin Post hoc değerlendirilmesi	56

1. GİRİŞ

Oral ve maksillofasiyal cerrahinin temel hedeflerinden birisi ağız ve çeneler bölgesinde çeşitli sebeplerle oluşan defektlerin eski anatomik formuna kavuşturulması ve yitirilen fonksiyonların yeniden kazandırılmasıdır. Bu kemik defektlerinin bir bölümü, kemiğin kendini tamir edebilme yeteneği ile onarılırken bir kısım büyük kemik defektlerinde, kemik dokusunun onarılmasını desteklemek veya tamamen iyileşmelerini sağlamak amacıyla çeşitli kemik greft materyallerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Günümüzde kemik defektlerinin tedavileri için kullanılan greft materyallerinin elde edilişleri, yapısal özellikleri ve yeni kemik oluşturmadaki etkinlikleri farklılık göstermektedir. Yaygın olarak kullanılan otojen kemik greftleri osteokondüktif ve osteoindüktif özellik gösterirler. Bu greftleri elde etmek için ek bir cerrahiye gerek duyulması, alıcı bölge enfeksiyonları ve yeterli miktarda greft materyali alınamaması gibi sebepler otojen greftlerin kullanımını sınırlamıştır(1). Allogreftler otojen greftlere iyi bir alternatif olarak kullanılmaktadırlar. Tartışmalı osteoindüktif kapasiteleri, alıcı dokuda immünolojik yanıt oluşturma potansiyelleri ve bulaşıcı hastalık riski allogreftlerin olumsuz özelliklerindedir (2) Ksenogreftler oral cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır. Sığır kaynaklı ksenogreftler insan kemik yapısına benzemeleri, biyouyumlu olmaları ve iyi osteokondüktif yapıları nedeniyle sık tercih edilmektedirler (3). Hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyum fosfat (TCP) sentetik greft materyallerindedir. Bu greft materyalleri osteoindüktif etkiye sahip olmayıp defekt bölgesinde yeni kemik oluşumu için sadece iskelet görevi görmektedirler (4)

Son yıllarda defektlerin onarılması için farklı ilaç uygulamaları giderek popülerlik kazanmaktadır. Bu ilaçlar hem kemik defektlerinde hem de osteoporozun tedavisinde kullanılması ile hayli dikkat çekmektedir. Denosumab insan ve hayvan çalışmalarında kullanılarak kemik kütlesini, mikromimarisini ve dayanıklılığını artırdığı kanıtlanmış, osteoporoz tedavisinde kullanılan yeni bir ajandır. FDA tarafından 2010 yılında onay almıştır.

Yaptığımız çalışmada, sistemik olarak uygulanan denasumab ilacının etkileri ve ortaya çıkan sonuçlar değerlendirilmektedir. Tavşanlarda oluşturacağımız defektlerde osteoindüktif veya osteokondüktif özellik gösteren 3 farklı greft materyali (BCP, Ksenogreft, Otogreft) kullanarak denasumabı sistemik olarak uygulayıp kemik

yenilenmesi üzerindeki etkisini araştırmayı ve denosumab ilacının farklı özellik gösteren greftler üzerindeki etkisini karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu

Kemik dokusu, iskelet sisteminin en önemli yapıtaşını oluşturur. Ayrıca kaslarla beraber vücut hareketini de sağlarlar. Destek fonksiyonu ile vücudun normal pozisyonunu sağlar ve hareket sistemine dayanıklılık kazandırır. Sertliğinden dolayı kafatası ve toraks boşluklarında yer alan yaşamsal organların korumasını da üstlenmiştir. Örneğin kafatasında beyin, omurgayla omuriliği, göğüs kafesiyle başta kalp olmak üzere diğer organları çevreleyerek korumaya almaktadır. Destekleme ve koruma görevine ek olarak hemostaz mekanizmasının kan kalsiyum seviyesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (3, 4).

Kemik, vücuttaki en sert dokulardan biri olarak kabul edilmektedir. Kemik dokusunun mekanik, koruyucu, metabolik fonksiyon gibi üç önemli fonksiyonu bulunmaktadır. Bunlar dışında kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğini içermesi ve metabolik önemi olan kalsiyum deposu olması gibi kemiğin destek dokusu olma dışında da önemli rolleri vardır. Kemiklerin kırılması durumunda kendilerini tamir edebilme kapasiteleri çok iyi gelişmiştir ve böylece bozulan bölgede yeni kemik dokusu oluşturularak bölgenin fonksiyonları eskisi gibi yerine getirilir. Kemik dokusu beslenme, metabolik, endokrin (hormonal) ve mekanik koşullara çok duyarlı bir dokudur. Bu nedenle aktif doku olma özelliğini taşır (4, 5).

Kemik dokunun oluşturduğu iskelet sistemi vücut kalsiyumunun %99'unu, fosforunun %88'ini, magnezyumunun %50'sini içererek kalsiyum, fosfor ve magnezyum için bir depo görevi üstlenir. Ayrıca hematopoetik dokuların kaynağı olarak görev görmektedir. Bütün bu özellikleri ile büyümeyi sağlayan en önemli dokudur (5).

Kemik dokusu diğer dokular gibi hücreler ve hücreler arası maddelerden oluşan bir dokudur. Hücreler arası maddesinin mineralize olması ile diğer dokulardan ayrılır. Sert bir doku olduğundan incelenmesi için özel histolojik teknikler kullanılmalıdır (5, 6).

Vücut kemikleri şekillerine göre uzun kemikler, kısa kemikler, yassı kemikler ve düzensiz kemikler olmak üzere isimlendirilirler. Uzun kemikler diafiz, epifiz, metafiz olarak üç kısma ayrılır. Diyafiz, kemiğin iki ucundaki genişlikler arasında kalan uzun kemik shaftıdır. Diyafizin iki ucundaki genişliklere epifiz denir. Epifizle diyafiz arasındaki küçük bölgeye ise metafiz denir. Epifiz bölgesi aynı zamanda kemiğin

oluşumunda rol oynar. Epifiz kısmı ince kompakt kemikle kaplı olup süngerimsi kemik dokusundan yapılmıştır. Diyafiz bölümü ise sert kemik dokusundan yapılmıştır. Diyafizin ortasında kemik iliği bulunur. Kafatası gibi yassı kemiklerin her iki tarafı sert, içi veya ortası ise süngerimsi kemiktir (6).

Kırmızı kemik iliğinden kan hücreleri oluşurken, diğer tip kemik ilikleri yağ hücrelerinden meydana gelmiştir ve sarı kemik iliği adını alır. Kemikler genellikle periosteum adı verilen ve osteojenik aktivitesi olan bir bağ dokusuyla çevrilidir. Periosteum eklem kıkırdağında bulunmaz. Diyafizdeki kemik iliği kavitesi ve spongiyöz kemikteki boşlukların etrafı ince bir bağ dokusuyla çevrilidir. Bu yapı endosteum adını alır ve osteojenik aktiviteye sahiptir. Kemik dokusu kıkırdağın aksine bol damarlıdır. Ancak matiksinin sert olması difüzyona elverişli değildir. Dolayısıyla dokunun beslenmesi kanaliküllerle olmaktadır. Bu kanaliküllerin içinde kemik hücreleri yerleşiktir. Hücreler sitoplazmik uzantılarıyla birbirleri ve komşu damarlarla ilişki kurarak metabolizma gerçekleştirilir (7).

Histolojik özelliklerine göre sert kemik ve süngerimsi kemik olmak üzere 2 tip kemik dokusu tanımlanmıştır. Her 2 kemik türünde de aynı histolojik elemanlar bulunmasına rağmen bu elemanların organizasyonu farklıdır.

Kemik dokusu, kalsiyum ve fosfat tuzlarıyla mineralize olmuş, aynı doğrultuda kollajen matriksten oluşan özelleşmiş bir bağ dokudur. Kemik dokusu ekstrasellüler matriksinin mineralize olması nedeniyle diğer bağ dokularından farklıdır. Kemik dokusu organik ve inorganik kısımlardan oluşur (6).

Organik kısımda temel olarak tip I kollajeni ve nonkollagen proteinleri içerir. Kemik matriksinin ana yapı bileşeni tip I kollajendir ve daha az miktarda tip V kollajen bulunur. Bunun yanında çok az miktarda tip III, tip XI, tip XIII kollajenleri bulunur. Kemik matriks proteinlerinin toplam ağırlığının yaklaşık %90'nı tüm kollajen molekülleri içerir. Nonkollagen proteinler ise 4 ana grupta incelenir: proteoglikan makromoleküller, multiadeziv glikoproteinler (osteopontin, osteokalsin, osteonektin, kemik sialoprotein), Vitamin K'ya bağlı proteinler, büyüme faktörü ve sitokinler (7).

İnorganik kısmı ise çoğu hidroksiapatit formunda olmak üzere kristal tuzları içerir. İnorganiklerin başında kalsiyum, fosfat, sitrat, magnezyum gibi maddeler gelir. Kalsiyum ve fosfat hidroksiapatit kristalleri şeklindedir ve kemik kollajenlerinin yanında amorf madde ile birlikte iç içe organize olmuşlardır. Gelişmiş bir kemik dokuda lifler paralel ve belirli aralıklarla aralarında porlar bırakacak şekilde yerleşmiş olup aralarında hidroksiapatit kristalleri yerleşiktir. Hidroksiapatit kristallerinin kemikteki önemi,

kollajenlerle beraber kemik sertliğini ve dayanıklılığını sağlamasıdır. İnorganik maddeler kemiğin kuru ağırlığının yaklaşık %50'sini oluşturmaktadırlar (7).

Kemiğin organizmadaki gerekli işlevlerini tam olarak yerine getirebilmesi ancak dokudaki organik, inorganik elemanların ve matriksin uyumlu birlikteliğine bağlıdır. Kemik dokusunun hücreleri osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır.

2.2. Kemik Türleri

İnsanda bulunan kemik yapısı incelendiğinde kemik dokusu kollojen liflerinin doku içindeki dağılımı ve organizasyonuna göre primer ve sekonder kemik olmak üzere ikiye ayrılır.

2.2.1. Primer Kemik Doku

Primer kemik embriyonel süreçte gözlenen, ilk oluşan kemik dokusudur. Zamanla sekonder lamelli kemiğe dönüşür. Esas olarak embriyonel dönemde görülmekle birlikte erişkinlerin kafatası yassı kemiklerinde de rastlanılmaktadır (8).

2.2.2. Sekonder Kemik Doku

Gelişim süresince primer kemiğin yerini, 3-7µ kalınlığındaki lamellerden oluşan sekonder kemik alır. Sekonder kemik ise sert kemik ve süngerimsi kemik olmak üzere iki tip düzenleme gösterir (8).

2.2.2.1. Sert Kemik

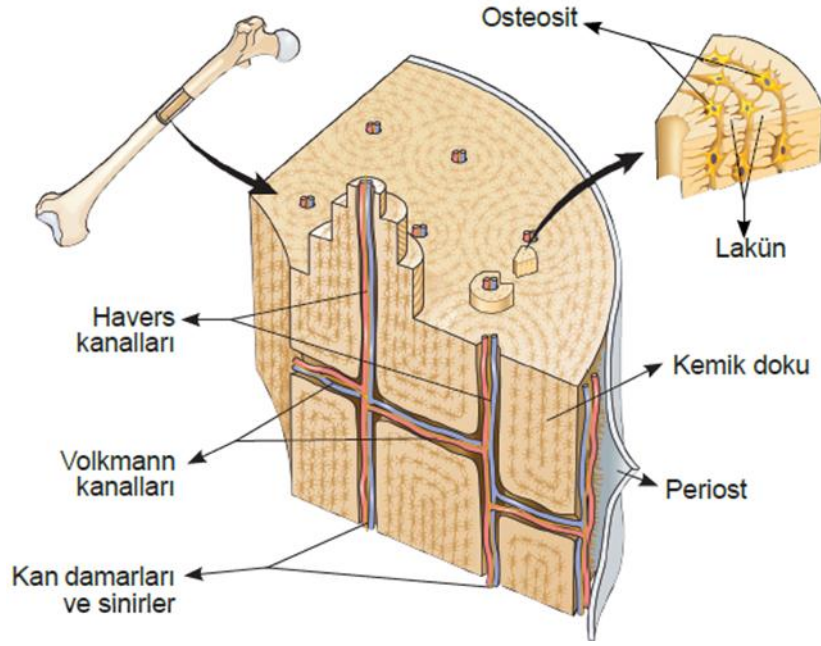
Kemiğin mimari yapısına bakıldığında kemiği saran en dış kısmıdır. Bu kısım mekanik destek sağlayan kısım ve lameller kemik formunda ince kollajen fibrillerden oluşmuştur. Kortikal kemik tüm kemik kütleinin %80'ini oluşturur.

Olgun sert kemik osteon veya havers sistemi olarak isimlendirilen kemik yapısında silindirik birimlerden oluşur. Osteonlar havers kanalı olarak adlandırılan, gevşek bağ dokusu içinde damarları ve sinirleri içeren bir santral kanal çevresinde konsantrik olarak yerleşmiş kemik lamellerini içerir. Kompakt bir kemiğin mikroskopik incelemesinde dokunun havers kanalları etrafında 3-7 µm kalınlıktaki lamellerden, hücrelerden ve sert bir matriksten oluştuğu görülür (Şekil 2.1). Düzgün ve boşluk içermeyen bir tertiplemede olan kompakt kemikteki osteoblastlar (laküna) dallıdır ve kanalikül adını da alır. İçine ise osteositler (kemik hücreleri) yerleşmiştir. Kompakt

kemiklerdeki bu kanaliküller her bir lamelde birçok sayıda olduğundan ait olduğu havers sisteminin en içinden en dış lameline kadar temas kurarlar. Böylece dokuda bir ağ oluşturarak metabolizmanın olaylanmasını sağlarlar. Uzun kemiklerin diyafizleri kemik iliği kavitesini çevreleyen sert kemikten oluşur. Epifizlerde ise ortada yer alan süngerimsi kemik bölümünü ince bir sert kemik tabakası kuşatır. Sert kemiklerin dış yüzleri, eklem yüzeyleri hariç periosteum adı verilen bir bağ dokusu tabakasıyla kuşatılmıştır (8, 9).

2.2.2.2. Süngerimsi Kemik

Gelişim döneminde ilk oluşam kemik süngerimsi kemiktir. Sert kemiğe benzer. Ancak doku kemik iliğini içeren birbiriyle bağlantılı bir labirent sistemiyle ayrılmış kemik trabeküllerinden oluşur. Dolayısıyla histolojik preparasyonlarda enine kesitte sirküler lamel tertiplenmesi görülmez. Buna karşılık bol boşluklu veya trabeküller oluşan adeta petek gibi bir dokusu vardır. Bu boşluklar kemik iliği ile doludur. Özellikle uzun kemiklerin epifizindeki spongiyöz doku basıncın veya kuvvetin geldiği yönde düzenlenmiştir. Böylece yapı çok daha sağlam bir hale gelmektedir. Kemiğin metabolik faaliyetlerinden sorumlu kısmıdır. Bu kısımda düzgün sıralanmış fibriller bulunmaz, matriksi gevşek yapıdadır ve üzerinde hematopoetik elemanları bulundurur. Kısa ve uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımları ile yassı kemiklerin iç yüzleri süngerimsi kemikten yapılmıştır (7, 9).



Şekil 2.1: Kemiğin yapısı (6)

2.3. Kemik Hücreleri

2.3.1. Osteoprogenitör Hücreler

Mitozla bölünüp farklılaşarak osteoblastlara dönüşebilen öncü hücrelerdir. Periosteumun iç yüzünde yer alan osteoprogenitör hücelere periosteal hüceler, endosteumda yer alan osteoprogenitör hücelere endosteal hüceler denir. Uzunca, oval şekilli nükleusları olan soluk asidofil veya hafif bazofil sitoplazmalı yassı mekik şekilli hücelerdir. Sitoplazmaları organelden zengindir. Kemiğin ana hüceleri olup mezenşimden kaynaklanırlar. Genellikle endosteumda, periosteumun iç katında ve havers kanalları gibi bölgelerde bulunurlar. Osteoprogenitor hüceleri mitozla olgun kemik hücelerine farklılaşmaktadır. Bu hüceler kemik büyümesinde, zedelenmesi veya kırık tamirinde aktif halegelerek bölünürler ve osteoblast hücelerine dönüşürler (8- 10).

2.3.2. Osteoblastlar

Kondroblast ve fibroblastlara benzeyen aktif sentez ve sekresyon yapan hücelerdir. Kemiğin liflerini ve esas maddesini sentezleyen bu hüceler büyümekte olan kemik dokusunun dış yüzlerinde yer alırlar. Aktif oldukları dönemde kübük veya prizmatik şekilli olan osteoblastlar büyümekte olan kemik dokusunun dış yüzlerinde

sıralanarak epitel görüntüsü veririler. Osteoblastlar kemiğin ekstrasellüler matriksinin organik bölümünü sentezleyen hücrelerdir. Bu hücreler tarafından sentezlenen henüz kalsifiye olmamış kemik dokusuna osteoid doku denir. Osteoblastlar küp şekilli hücrelerdir ve protein yapımın histolojik belirteci olan iyi gelişmiş, pürüzlü endoplazmik retikuluma sahiptirler. Bu hücreler hem Tip I kollajeni hem de kemiğin organik matriksinin kollajen olmayan proteinlerini salgırlar. Ayrıca bu matriksin mineralizasyonunu da regüle ederler. Kemik dokusunda matriksin yapımından sorumludurlar. Osteoblastların belirgin nükleusları hücrenin bazal bölümüne daha yakın yerleşmiştir. Sitoplazmaları kemik matriksinin organik bölümünün senteziyle bağlantılı olarak bazofil boyanır. Lipid damlacıkları ve lizozom benzeri yapılar da sitoplazmada yer alır. Hücreler birbirleriyle kısa çıkıntılarla ilişkidir. Enzim fosfatın hidroliziyle lokal inorganik fosfat konsantrasyonunu arttırmakta ve bunun kalsiyum iyonlarıyla birleşmesi sonucu kalsiyum tuzları halinde dokuya çökmesi sağlanmaktadır. Osteoblastlar sadece kemiğin organik matriksini sentezlemekle kalmaz aynı zamanda mineralizasyonunu da sağlarlar. Organizmada kemik yapım hızının ölçülmesi istendiğinde de kandaki alkale fosfataz enzimi seviyesine bakılmaktadır (8, 10).

2.3.3. Osteositler

Osteoblastlardan farklılaşan bölünme yetenekleri olmayan hücrelerdir. Sınırlı olarak kemik matriksini sentezleme ve reabsorbe etme yetenekleri vardır. Kemik yapan hücreler olan osteoblastlar osteosite dönüşerek kemik dokusu içinde kendilerine ait olan lakünalarda yer alırlar. Lakünalar lameller üzerinde bulunur. Komşu lakünalar arasında çok sayıda ince kanalikül uzanır. Kemik kanalikülleri adını alan bu ince kanallarda gövdeleri lakünalar içerisinde yerleşmiş olan osteositlerin sitoplazmik uzantıları bulunur. Osteositler kemik matriks içine hapsolmuş olgun osteoblastlardır. Öncelikli görevleri kemiğin idamesini sağlamak olsa da kemik sentezi ve rezorbsiyonunda da rol oynadıkları bilinmektedir. Kemiğin esas hücreleri olup, olgun kemik hücresi adını da alır. Gelişimlerini tamamlamış olduklarından sentez yapamazlar. En tipik özelliklerinden biri de uzantılarıdır. Bu sitoplazmik uzantılar kanaliküller içinde seyredir. Bu şekilde her hücre lakünası içine gömülü kalmayıp birbirleriyle temas kurmaktadır. Osteositlerin kalsiyumun kemiklerden kana verilmesinde ve hameostatik mekanizmayı düzenleme (kalsiyum konsantrasyonunu düzenleyerek) gibi önemli metabolik rolleri de vardır. Bu hücrelerin ölmesi halinde ise matrikste rezorbsiyon olayı görülür (10, 11).

2.3.4. Osteoklastlar

Bir tür makrofaj olarak kabul edilen bu hücreler kan monositlerinin birleşmesiyle oluşurlar. Rezorbe ettikleri kemiğe ait boşluklar olan howship lakünalarında yerleşen çok nükleuslu hücrelerdir. Osteoklastlar makrofaj monosit sistemine ait olan ve kemiğin rezorpsiyonunda görev alan hücrelerdir. Osteoklastlar bağ dokularında makrofajlar tarafından oluşturulan yabancı cisim dev hücrelerine benzerlik gösterirler. Osteoklastlar diğer kemik hücrelerinden farklı olarak hematopoetik dokulardaki tek çekirdekli prekürsör hücrelerin birleşmesi sonucu oluşur. Kemikte yıkımı veya kemik rezorpsiyonunu gerçekleştiren hücrelerdir. 20-100 µm çapında çok büyük hücrelerdir ve 2 den 50'ye kadar değişen sayılarda nükleusları bulunur. Fonksiyonlarından dolayı makrofaj türü hücre olarak da kabul edilirler. Ayrıca mononükleer fagositler sisteme dahil hücrelerdir ancak aktif fagositoz yapmazlar. Osteoklastlar içerdikleri kollagenaz ve diğer proteolitik enzimlerle kemiği rezorbe etmektedirler. Eritici enzimlerle eritilen kemik dokusu hücre içine alınmaktadır. Osteoklastların sitoplazmaları genellikle asidofil ve vakuollüdür. Hücrelerin çok sayıda lizozomları, mitokondriyonları ve iyi gelişmiş bir golgikompleksleri vardır. (8, 11).

2.4. Periosteum ve Endosteum

Kemiğin dış yüzeyi periosteum ve iç yüzeyi de endosteum olarak isimlendirilen ve kemik oluşturan hücreler ve bağ dokusundan oluşan zarlarla döşenmiş bulunmaktadır. Periosteum dış katmanında, kollajen lifleri ve fibroblast içerdiği görülmektedir. Periosteal kollajen lifler kemik matriksine doğru penetre olmakta ve periost ile kemiği birbirine bağlamaktadır. Bu bağlantılara sharpey lifleri denmektedir. Aynı zamanda periostun hücresel açıdan zengin olan iç tabakası ise osteoblastlara mitoz yolu ile bölünerek farklılaşma potansiyeli olan hücrelerden oluşmaktadır. Bu osteoprogenitör hücreler buldukları bölge, şekil ve içerdiği organellerle karakterizedir ve kemik büyümesi ve kırık iyileşmesinde önemli rol üstlenmektedirler. Endosteum ise kemiğin tüm iç yüzeyini kaplar. Periosteuma göre daha incedir ve tek kat osteoprogenitör hücreleri, osteoblastları ve osteoklastları içerir. Kemik iliği ve süngerimsi kemik kavitelerini kuşatır. Endosteum ve periosteumun ana görevi; Kemik dokusunun beslenmesi, tamiri ve büyümesi için gerekli olan yeni osteoblastlar için devamlı bir depo sağlamaktır (12).

2.5. Kemik Oluşumu

Kemikleşme hangi türde olursa olsun ilk oluşan kemik dokusu primer kemik yani olgunlaşmamış kemiktir. Oluşan bu primer kemik kalıcı olmayıp yerini esas yani olgun lamelli kemik dokuya bırakmaktadır. Kemik dokusu aktif bir yapıdır dolayısıyla devamlı olarak yenilenmektedir. Bu yenilenme özellikle mekanik, kimyasal ve hormonal koşullarla yakın ilgilidir (13).

2.5.1. İntramembranöz Kemikleşme

İntramembranöz kemik gelişimi yaklaşık olarak gebeliğin 8. Haftasında başlar. Mezenkim hücreleri belirli alanlarda bir araya gelerek gruplar yaparlar. Mezenkim dokusu içinde hücreleri yoğunlaşarak oluşturduğu alanlar membrana benzetildiği için bu tür kemikleşmeye intramembranöz kemikleşme denir. Hücre birikimi arttıkça alan damardan giderek zenginleşir. Bağ dokusu aracılığı ile oluşan süngerimsi kemik oluşumudur. Organizmada kafatası frontal, pariyetal, temporal gibi kemikleri ve çene kemiği bu tür kemikleşmeyle oluşmaktadır. Bu kemiklere membran kemikleri de denmektedir. Önce mezenşim hücreleri damarlar etrafında toplanırlar ve çoğalırlar. Aradaki boşluklar sertleşmemiş matriks ve içindeki kollajen liflerce doldurulmuştur. Mezenkim hücreleri osteoprogenitör hücrelere osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek osteoid dokuyu salgılamaya başlarlar. Bu hücreler hücrelerarası madde ve lif sentezini de yaparak osteositlere farklılaşırlar. Bu bölgeye kemikleşme merkezi adı verilir. Oluşan kemik spongiyöz yapıdadır. Araya henüz kalsiyum bileşikleri de çökmemiştir ve bu yapı osteoid doku adını alır. Damar çevresindeki osteoblastların osteositlere dönüşerek boşalttıkları yerlere yeni hücrelerin gelmesiyle olayda devamlılık sağlamaktadır. Trabeküller büyür, çoğalır ve anastomozlaşarak süngerimsi kemik dokusu şekillenmiş olur. Daha sonra süngerimsi kemiklerden bazıları yeniden yapılanarak sert kemiğe dönüşür. Trabeküller arasındaki mezenkim dokusundan kemik iliği oluşur. Bu tür kemikleşmede periosteum ve endosteum kemikleşmeye katılmayan bağ dokusu tarafından yapılmaktadır (8, 14).

2.5.2. Endokondral Kemikleşme

En iyi uzun kemiklerde izlenen kemikleşme daha önce var olan bir kıkırdak modelin yerine kemik dokusunun yapılması söz konusudur. Erken embriyonik dönemde iskeleti oluşturan kıkırdak yıkılarak yerine kemik dokusu oluşturulur. Bu tür kemik

gelişimi kırıkdağı çevreleyen perikondriumun kemiği çevreleyen periosteuma dönüşmesiyle başlar. Periosteumun osteojenik katmanındaki hücreler osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini salgırlar. Böylece kırıkdağ modelin çevresinde ince bir kemik tabakası oluşur. Daha sonra kırıkdağ modelin orta ve iç bölümlerinde kondrositler kırıkdağ modelin kalsifiye olmasına bağı olarak ölürler. Matriksin yıkılması sonucunda birbirleriyle birleşerek büyüyen boşluklar ortaya çıkar. Periostal hücreler bu boşluğa kan damarlarıyla birlikte göç ederler. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşür. Diyafizin ortalarında kemiğin sentezlenmesiyle primer kemikleşme merkezleri oluşmaya başlar. Bu doku trabeküller içeren süngerimsi kemiktir. Trabeküller arasındaki boşluklarda kemik iliğı oluşur. Kırıkdağ dokusu aracılığıyla oluşan sert kemik oluşumdur. Bu tür kemikleşme kondrositlerin yani hyalin kırıkdağ hücrelerin çoğalmasıyla meydana gelmektedir. Uzun kemiklerin şekillenmesinde görülür. Kırıkdağ yüzeyindeki mezenşim kaynaklı hücreler osteoblastlara dönüşerek bu bölgede tabakalaşma yaprlar ve ara maddeyi salgılayarak osteosit haline dönüşürler. Bu olayı kalsifikasyon izler. Sonuçta diyafizin ortasında ve daha sonra da uçlara doğru gelişen ve kırıkdağı çevreleyen bir perikondral kemik dokusu ortaya çıkar. Kemikleşme tamamlandıktan sonra perikondrium periosteum adını almaktadır. Bu kemik kompakt yapıdadır ve bu yolla kemiğin enine büyümesi sağlanır (9, 14).

2.6. Kemiğin İyileşmesi

Organizmada herhangi bir nedenle hasar gören dokular belirli bir oranda kendilerini yenileyebilmektedir. Kemik dokusu bu onarım işini en iyi yapanlardan birisidir. Kemik bir çatı içerisinde entegre olmuş metabolik olarak hücrelerden oluşmuş dinamik, biyolojik yönden aktif olan bir dokudur. Bu özelliğı dikkate alındığında, kırık kemik hattında ve defekt sahasında iyileşme biyokimyasal, biyomekanik, hücresel, hormonal ve patolojik süreçler tarafından etkilenir. Kemik yapısındaki depozisyon, rezorpsiyon, remodeling süreçleri devamlılık arz etmekte ve iyileşme sürecini kolaylaştırmaktadır (15).

Aynı zamanda, yaralanan kemik dokusu şekil ve fonksiyonunu yeniden kazanabilmektedir. Ancak, yaralanma boyutu büyük olduğu zaman iyileşme sınırlı kalmaktadır. Kemik iyileşmesinde iki önemli faktör bulunmaktadır. Bunlar ise; bölgenin damarlanması ve mekanik dayanıklılığıdır. Kemik iyileşmesi doku geriliminin sınırlı olduğu en uygun koşullarda gerçekleşmektedir.

Kırılan yada çatlayan kemik uçlarında kan pıhtılaşır. Bu pıhtı içine ince bağ doku ile sarılı damarlar filizlenir. Bu damarlardan önce nötrofiller, sonra monositler çıkarlar. Monositler makrofajlara farklılaşarak bu bölgede fagositik aktivite gösterirler. Fibroblastlarda çoğalarak bir granülasyon dokusu şekillenir. Kolagen iplik içeren bu dokuya prokallus denir. Prokallus daha sonra kıkırdak dokuya dönüşür. Kıkırdak matriksi kireçleşerek kırık kemik uçları sert bir doku ile birleştirilmiş olur. Bu dokuya geçici kallus denir. Ortaya çıkan dokuda periost ve endosttaki hücrelerden kemik doku yapılmaya başlar. Süngerimsi yapıda olan bu doku daha sonra kompakt kemik halini alır (16).

Kemik kırılmasından sonra, yaralı bölgede genel doku tepkimeleri başlanmaktadır. Aynı zamanda yapısında bol miktarda kollajen fibrilleri bulunduran fibrilli kıkırdak ve kıkırdak dokusu gelişmeye başlamaktadır. Böylece kırık parçalar arasındaki boşluk, bağ ve kıkırdak dokusundan oluşan ve kaynamayı sağlayan bir doku ile doldurulmaktadır. Kırık parçaların arasındaki yeni öncül kemik dokusu, periosteum ve endosteumun dipteki tabakalarında bulunan osteoprogenitör hücrelerin aktivasyonu ile oluşturulmaya başlanmaktadır. Kemik onarımı endokondral kemik oluşumunda olduğu gibi, fibrilli kıkırdak dokusunun kemikleşmesi, kemiğin derece derece bu dokuyla yer değiştirmesiyle tamamlanmaktadır (17).

2.7. Kemik Defektleri

Kemik defektleri kemiğin içerisinde ya da kenarında bulunan, yeni kemikle dolması gereken kısımlar olarak tanımlanmaktadır. Oral cerrahide travmatik diş çekimine, tümör ve enfeksiyonlara bağlı olarak kemik defektleri gelişebilmektedir. Çene-yüz bölgesinde oluşan kemik defektlerinin tamiri ve kaybolan fonksiyonun yeniden kazandırılması, ağız diş ve çene cerrahisinin temel hedeflerinden birisi olarak kabul edilmektedir (18, 19).

Kritik boyutlu defekt, bir hayvanda her hangi bir osteopromotif bir materyal kullanılmadan yaşam boyu spontan olarak kemik yapımı ile iyileşme gösteremeyen en küçük boyutlu kemik yarası olarak tanımlanmaktadır. Bu tip defektler kemik dolumundan çok, fibroz bağ dokusu dolumu ile iyileşme eğilimi göstermektedirler (20, 21).

2.8. Oral Cerrahide Kemiğin Sınıflandırılması

Oral cerrahide özellikle implant cerrahisinde implant osteoentegrasyonunun daha başarılı olması için kemik tiplerine göre hareket etmek gerekir. Kemik yoğunluklarıyla ilgili olarak en yaygın olarak kullanılan sınıflamalardan biri Misch isimli araştırmacının 1988 yılında öne sürdüğü sınıflamadır. Kemik dokusunu kortikal ve spongiöz özelliklerine göre 4 grubta sınıflandırabiliriz:

D1 kemik kortikal yapının yoğun olduğu kemik tipidir ve bu kemik türü mandibula anterior bölgesinde bulunur.

D2 kemik kortikal yapı D1 kemiğe göre daha azdır ve içerisinde spongiöz yapıda bulunur. Bu tür mandibula anterior, maksilla anterior ve mandibula posteriorda bulunur.

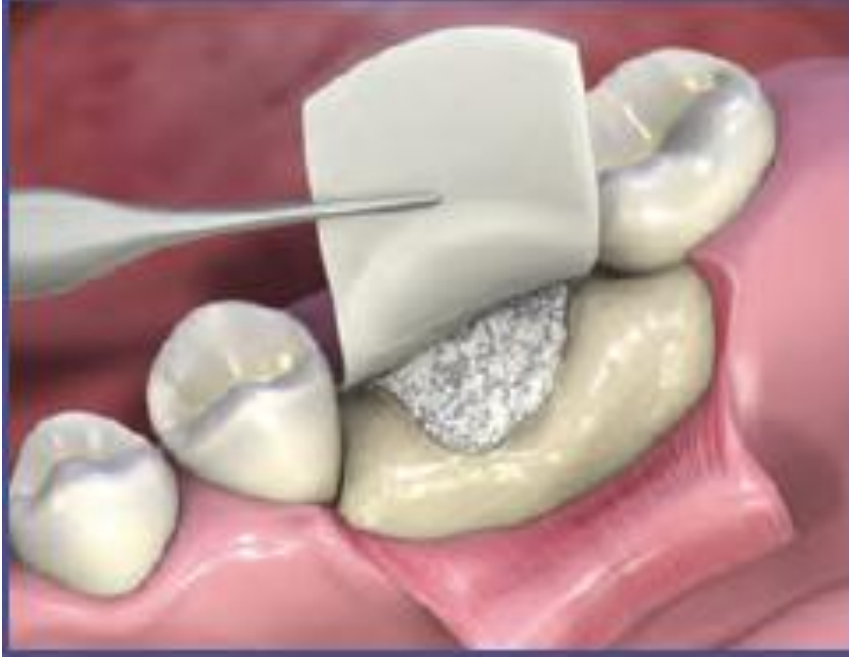
D3 kemik spongiöz, poröz ve kortikal yapıdan oluşur. Bu tür maksilla anterior ve maksilla posteriorda bulunur.

D4 kemik spongiöz yapıdan oluşur. Kortikal ve poröz yapıya pek rastlanmaz. Bu kemik türü posterior maksilla da bulunur (22, 23).

2.9. Kemik Greftleri

Travma (kemik kırıkları, kistik defektlerin doldurulması, travmatik kayıp) veya konjenital olarak oluşmuş deformite veya kemikteki patolojilerin alınması ile ortaya çıkan geniş deformite sahalarının iyileştirilmesinde, kemiğin iyileşmesine destek sağlamak amacı ile kullanılan materyallerdir.(Şekil 2.2) Kemik greftleri kemik dokusunun kendisini rejenere etme ve remodeling özelliği ile iyileşmektedir(24, 25). Kemik greftleri elde edildikleri kaynaklara göre şu şekilde sınıflandırılabilir:

1. Ototrefler: Aynı canlıdan alınan greftler
2. Allogreftler: Aynı tür içinde farklı genetik özellikler taşıyanlardan alınan greftler
3. Ksenogreftler: Farklı türdeki canlıdan elde edilen greftler
4. Alloplastlar: Biyolojik olarak canlı dokuya uyumlu sentetik greftler (26).



Şekil 2.2 Kemik greftlerin uygulanması (14)

2.9.1. Otogreft

Kişinin bir bölgesinden alınıp başka bir bölgeye aktarılan doku transferidir. Otojen greftler kemik kayıplarının doldurulması ve kırık tedavisinde kemik iyileşmesini sağlayan en etkili greft materyali olarak bilinir. Otogreft osteoprogenitör hücreleri içeren granülasyon dokusunun büyümesi için iskelet görevi görür. Lokal faktörlerin etkisiyle bu osteoprogenitör hücreler yeni kemik formasyonundan sorumlu osteoblastlara dönüşürler (27). Damarlı kemik otogreftleri ve kansellöz greftler yaşayan hücreler içerdikleri için osteojenik; matriks proteinlerini taşıdıkları için osteoindüktif içeriğindeki kemik matriksi nedeniyle osteokondüktif etki göstermektedirler (28, 29).

Otojen greftlerin bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Avantajları erken revaskülarizasyon, düşük maliyet, alıcı sahada antijenik etki yaratmamaları, osteoindüktif özellik, greftteki canlı hücrelerin etkisiyle gerçekleşen hızlı osteojenik potansiyel olarak sıralanmaktadır. Dezavantajları ise alınabilecek otojen kemik greft miktarının sınırlı olması, aşırı kan kaybı, genel anestezi zorunluluğu, verici alan bulma sorunu, uzun süre hastanede kalınması sonucunda maliyetin artması, hastanın yaş ve sistemik durumunun uygun olmaması ve bunun yanı sıra hastanın ikincil bir operasyon istememesi, verici sahada gelişebilen komplikasyonlar, operasyon süresinin uzaması sonucunda enfeksiyon riskinin artması şeklindedir (30, 31).

Altın standart olarak kabul edilen otojen greftler alındıkları bölgeye göre ekstraoral ve intraoral olarak ikiye ayrılmaktadırlar. Ekstraoral bölgeler: calvarium, tibia, crista iliaca, ilium, intraoral bölgeler ise; mandibuler simfizis, mandibuler ramus, maksiller tüber bölgesi, retromolar bölge, zigomatik ark, ekzositozlar olarak sıralanmaktadır (32).

2.9.2. Allogreft

Aynı türden fakat genetik olarak farklı iki birey arasında yapılan doku transferidir. Kadavradan veya canlı bireylerden elde edilirler. Tüm dünyada otojen greftlerden sonra cerrahlar tarafından sık tercih edilen greftlerin başında gelenallogreftler başka bireylerden elde edildiği için Hepatit C (HCV) ve HIV gibi hastalıkları bulaştırma riski taşırlar (33, 34).

Allogreftler poroz yapıları içinde progenitor hücrelerin ve endotelial hücrelerin bulunduğu birçok kimyasal alan içerirler. Aynı zamanda, osteoklastlar tarafından rezorbe edildiklerinde serbest kalan kemik matriks içinde büyüme faktörleri de içerirler. Allogreft kemikte, osteoindüktif özellik taşıyan az miktarda kemik morfojenik proteini de bulunur. Allogreftler doku reddini önlemek için bazı işlemlere tabi tutulmaktadır. Bu işlemler deproteinize etme, kuru ısıtma, kuru dondurma, kaynatma, radyasyon uygulamasıdır. Fakat bu işlemlerle birlikte biyolojik ve mekanik özellikleride olumsuz yönde etkilenir (35, 36).

2.9.3. Ksenogreft

Ksenogreft terimi değişik türlerden alınan dokular için kullanılır. Bir türden başka bir türe yapılan transplantasyon olarak ifade edilmektedir. Buna, sığırdan insana yapılan transplantasyon örnek verilebilmektedir (37, 38). İnsanlarda heterojen kemik greftleri uygulamaları 17. yy'dan beri var olmasının yanı sıra, maksillofasiyal bölgede kullanımı sık olmamakla beraber yenidir (39). Bazı organik çözücüler ile hazırlanan ve bu sırada immünojenitesinin çoğunu kaybeden sığır kemiği en genel heterojen greft kaynağıdır (40). Sığır kemiklerinin tam olarak deproteinize edilmesi ile elde edilirler. Doğal sığır kemiğinin organik bileşenleri tümüyle elimine edilir. Geri kalan inorganik bölüm, poröz hidroksiapatit partikülleridir ve yapısal olarak insan kansellöz kemiğine benzer. Alıcı doku tarafından iyi tolere edilirler. İyileşmeye osteokondüktif katkı gösterirler Ksenogreftlere immünyanıtı azaltmak için uygulanan işlemler de, yapısındaki osteoindüktif matriks proteinlerine zarar vermektedir (41, 42).

Ksenojenik kemik greftleri memeli kemiklerinden veya mercan dış iskeletinden elde edilebilmektedir. Domuz ve fare kaynaklı ksenogreftler de bulunmaktadır. Ancak, sığıır kaynaklı kemik en sık kullanılan heterojen greft kaynağıdır. Ksenogreftler 1960'lerde popöler hale gelmiştir. Bunun yanı sıra, sığıır kaynaklı kemik transplantasyonu sonrası rapor edilen bazı otoimmün hastalıklar greftin kullanımını azaltmıştır (43, 44). 1990'lerde kemik partiküllerinin deproteinize edilmesinin gerçekleştirilmesiyle birlikte antijenik özellikleri azaltılmış ve sonrasında ise tekrar kullanılmaya başlanmıştır (45). Yani, kemiğin organik komponentinin tamamen uzaklaştırılması amaç edinilmiştir. Bunun sonucu olarak da organik kısmın osteoindüktif kabiliyeti kaybedilmiş olmakta ve greft osteokondüktif özellik göstermektedir (46, 47).

2.9.4. Alloplastlar

Kemiğin inorganik yapısına benzeyen yapay yoldan elde edilen sentetik greft materyalleridir. Osteoindüktif özelliği bulunmayan bu tip materyaller büyük kemik defektleri olduğunda, yapısal desteğe ihtiyaç duyulduğunda önem kazanırlar. Sentetik olarak üretildiklerinden hastalık taşıma potansiyelleri yoktur. Alloplastlar; polimerler, bioaktif camlar ve bioseramikler olarak sınıflandırılabilir. Kemiğin inorganik fazına yakın olmalarından biyoseramikler, özellikle kalsiyum fosfatlar üzerinde en çok çalışılan materyallerden biri olmuştur (37).

Kalsiyum fosfat ailesi, sentetik kemik greftleri içinde hem osteointegrasyon hem de osteokondüksiyon özelliği olan sentetik bir materyal grubudur. Osteointegrasyon, kemik greftinin implantasyonundan hemen sonra oluşmaya başlayan hidroksilapatit (HA) tabakasının formasyonu ile oluşur. HA tabakasının oluşması için, implanttan ve defektin etrafındaki kemikten kaynaklanan Ca^{+2} ve PO_4^{-2} iyonlarına gereksinim vardır. Bu greft materyali biyouyumlulukta mükemmeldir. Rapor edilmiş hiçbir sistemik toksisite veya yabancı cisim reaksiyonu bulunmamaktadır. B-TCP, kemik grefti olarak bilinen en eski kalsiyum fosfat içeriğidir (48). 1970'lerde üretilen diğeri bir kalsiyum fosfat preparatı ise, Hidroksilapatittir (HA). Kemiğin temel elementi olan Hidroksilapatit, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ formülasyonundadır. HA seramik veya non-seramik formda, porlu veya solid tarzda, blok veya granül şeklinde bulunur. HA materyali çoğu klinik kullanımlarda başarılı sonuçlar vermiş olmasına karşın, rezorbsiyon hızı yeni kemik oluşum hızı ile kıyaslandığında daha yavaş olduğu rapor edilmiştir. Rezorbsiyonu yavaş olduğu için de *in vivo* ortamda çok uzun süre kalmaktadır (49).

Son yıllarda HA' in fonksiyonunu ve rezorbsiyon oranını arttırmak için, diğer maddelerle kombinasyonu veya modifikasyonu gündeme gelmiştir. Bu amaçla HA ile β -TCP kombine edilmiş ve bifazik kalsiyum fosfat elde edilmiştir. β -TCP/HA osteokondüktif özelliكتedir ve yapısındaki 100–500 μ m çapındaki porlar ile kemik büyümesini teşvik etmektedir. β -TCP/HA biyolojik olarak rezorbe olup, kemiğin optimal büyüme ve şekillenmesini gerçekleştirir. Bu içerik doğal kemiğe yakın özellikte olduğu için, biyouyumluluğu iyi derecededir (50, 51).

BCP'ların en büyük özellikleri, konak kemik dokusuyla güçlü bir bağlanma yapması ve fibröz bir aralığın oluşumuna izin vermeleri olarak görülmektedir. Dinamik bir özelliği olan bu yüzleşmenin yani bağlanmanın oluşumu bir seri olayın gerçekleşmesiyle meydana gelmektedir. Burada hücrelerle etkileşim ve erime-çökme işlemleri sonucu kemik mineral maddesine çok benzeyen hidroksilapatitin (HA) oluşumu söz konusudur. Ayrıca hücre ataşmanına, proliferasyonuna ve ekspresyonuna izin vermektedirler. Biyolojik olarak rastlanan ilk olaylar, BCP kemiklerinin implantasyonu sonrası biyolojik sıvı difüzyonu ve bunu takip eden hücre kolonizasyonu olarak seyretmektedir (52-54).

2.10. Denosumab

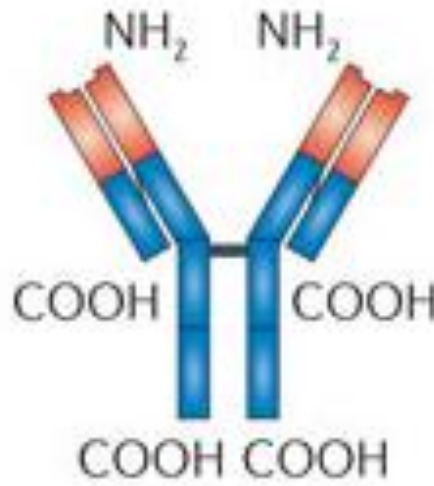
2.10.1. Yapısı ve Özellikleri

Kemik kütlesi osteoblast ve osteoklastların birlikte çalışması ile belirlenir. Osteoblastlarda bunu belirleyen temel yol ise reseptör aktivatör nükleer kapp B ligand (RANKL) / reseptör aktivatör nükleer kapp B (RANK) sistemidir. RANKL'in kemikteki ana görevi osteoklast oluşumunu ve apoptozun inhibisyonunu sağlayarak kemik kaybı ve rezorpsiyonunu arttırmaktır. RANK ise preosteoklastlara RANKL'in bağlanmasını sağlayan tek reseptördür. RANKL RANK'a bağlanarak, preosteoklastların olgun osteoklastlara farklılaşmasını, aktive olmasını ve canlılıklarını sürdürmelerini sağlar ve böylece kemik rezorpsiyonu oluşur. Denosumab ise RANKL için yalancı reseptör görevi görür ve kemik rezorpsiyonunu inhibe eder. RANKL'a bağlanarak bir tuzak reseptör gibi fonksiyon görür ve RANK'a bağlanmasını engeller. Sonuç olarak osteoklast farklılaşması ve aktivasyonu inhibe olur ve RANKL kemik rezorpsiyonu oluşturamaz (55, 56).

Denosumab ilacı; RANKL'yi hedefleyen ve yüksek afiniteyle ve spesifiklikle bağlanarak RANKL/ RANK aktivasyonunu engelleyen tam bir insan monoklonal antikordur. Hipokalsemik ve antiresorptif etkilidir. Ayrıca, RANKL/RANK

etkileşiminin önlenmesi osteoklast oluşumunu, fonksiyonunu ve sağ kalımını inhibe etmekte ve böylece kortikal ve trabeküler kemikte rezorpsiyonu azaltmaktadır. Bu protein, genetik olarak değiştirilmiş memeli hücrelerinde (Çin hamster over hücrelerinde) üretilmiştir (Şekil 2.3). FDA onaylı ilk RANK-Ligandı inhibitörüdür (57, 58).

2010 FDA onayı ile denosumab ilacı yüksek ölçüde kırık riskine sahip olan postmenopozal kadınlarda ve diğer tedavi uygulamalarına yanıt alınamayan postmenopozal kadınlarda, 2012 FDA onayı ile de yüksek ölçüde kırık riskine sahip olan erkek osteoporoz hastalarda kullanılmaya başlanmıştır (59, 60).



Şekil 2.3 Denosumabın kimyasal yapısı (61)

2.10.2. Etki Mekanizması ve Endikasyonları

Denosumab kemik yıkımına yol açan osteoklastların yaşamını ve yapımını bloke eden bir etki mekanizmasına sahiptir. Denosumab uygulaması kemik turnoverını azaltıp ve kemik mineral yoğunluğunu artırmaktadır. Ayrıca kemiğin yeniden şekillenmesindeki biyolojik markerları azaltarak kortikal ve trabeküler kemik kütlesinde artış sağlamaktadır. RANKL inhibisyonunun osteoporoz, kemik metastazı, inflamatuvar eklem hastalıkları ve maligniteye bağlı hiperkalsemiye kemik koruyucu olduğu görülmüştür (62, 63).

Denosumab, osteoporoz tedavisinde kullanılan yeni bir ajandır. Denosumab, osteoklast aktivasyonunu bloke etmekte, böylece kemik rezorpsiyonunun azalmasına yani kemik kırıklarında azalmaya neden olmaktadır. Menapoz sonrası osteoporosis ve

yüksek kemik kırılması riski olan kadınların tedavilerinde kullanılmaktadır. Osteoporotik hastalarda omurga ve kalça kırığı riskinde azalmaya yol açar. Altı ayda bir subkutan enjeksiyon yoluyla uygulanmaktadır (64, 65).

Kemik destrüksiyonunun yeni inhibitörü olan denosumab kemik metastazı oluşumunu geciktiren, metastazlara bağlı kemik ilintili olayların oluşumunu azaltıcı etki mekanizmaya sahiptir. Ayrıca, kanserden dolayı kemiğe metastaz göstermiş hastalarda, kemikte oluşan komplikasyonların önlenmesi için de kullanılmaktadır. Bu bağlamda göğüs kanseri, multipl miyeloma gibi kemik metastazı olan neoplastik hastalıklardakemik rezorpsiyonunu azalttığı bildirilmiştir (66, 67).

Hipokalsemi ve çene osteonekrozisi bu ilacın beklenen yan etkileridir. Uygulama kolaylığı ve renal fonksiyon takibi gerektirmemesi bu ilacın önemli avantajlarıdır. Denosumab ilacı bifosfonatlarla karşılaştırıldığında kemik mineraline bağlanmaması, etkisinin geridönüşümlü olması ve böbrekten elimine olmaması avantajlarıdır (68, 69).

Özellik	Bifosfonat	Denosumab
Kimyası	Kimyasal	Monoklonal antikor
Hedef	Hidroksiapatitte bağlanır, ppp sentez inhibisyonu yapar	Seçici olarak RANKL bağlanır
Dağılım	Kemik yüzeyi	Kan ve ekstraselüler sıvı
Hedef kemik hücresi	Matür osteoklast	Osteoklast öncülleri ve matür osteoklast
Etki mekanizması	Osteoklast resorptif fonksiyonunu ve sağkalımını inhibe eder.	Osteoklast oluşumunu, fonksiyonunu ve survivalını önler. Osteoklastları azaltır
Veriliş şekli	Oral, IV	Subkutan
Etki süresi ve geridönüşebilirlik	BP tipine bağlı, Geridönüşebilirlik yavaş	Tam geridönüşebilir, görece olarak hızlı

Tablo 2.1 Denosumab-Bifosfonat karşılaştırması(69)

Denosumab veya başka bir anti-resorptif ajan sınıfı olan bifosfonat ile tedavi edilen hastalarda çene osteonekrozu bildirilmiştir. Denosumabın ve hormon replasman tedavisinin (östrojen) birlikte uygulanmasına ilişkin herhangi bir klinik veri bulunmamaktadır. Ancak farmakodinamik etkileşim potansiyelinin düşük olduğu

öngörülmektedir. Denosumabın insan fertilitesine etkileri hakkında veri mevcut değildir. Hayvan çalışmaları, fertilitayla ilgili doğrudan ya da dolaylı zararlı etkileri hakkında bir kanıt sunmamaktadır (70, 71).

Denosumab ve tedavisine bakıldığında, oldukça etkin ve pahalı bir tedavi olduğu görülmektedir. Bu tedavi başlanacak kişilerde kalsiyum ve D vitamini düşük olmamalıdır. Eğer bu durum söz konusu ise takviye yapılmalıdır (72).

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2013/184 no'lu proje ile desteklenmiştir. Çalışmamızın deney kısmı için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 20-06-2013 tarihli ve 2013/A-52 sayılı karar ile onay alınmıştır.

Bu proje içerisinde gerçekleştirilen hayvan deneyleri İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde yapılmış ve çalışmamızda ortalama ağırlıkları 3 kg ve ortalama yaşları 7 ay olan toplam 20 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Çalışmamızda kullanılan tüm tavşanlar İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde üretilmiş ve hayvanlar yine aynı merkezde ortalama 24 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda deney kafeslerinde tutulmuşlardır. Kafeslerine standart besinleri ve su konularak istedikleri zaman ulaşmaları sağlanmış ve aynı zamanda, çalışmamıza başlamadan önce hayvanların sağlık durumları uzman bir veteriner tarafından incelenmiş bulunmaktadır.

Çalışmamız sonunda hayvanlardan elde edilen numuneler formaldehite konulduktan sonra histolojik ve histomorfometrik olarak incelemesi İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmamıza 10 adet kontrol ve 10 adet deney grubu olmak üzere 2 grup oluşturularak toplam 20 adet Beyaz Yeni Zelanda tavşanı ile başlandı. Çalışma devam ederken kontrol grubunda 3 adet ve deney grubundan ise 2 adet tavşan ameliyat sonrası post-operatif bakım aşamasında kaybedildi. Çalışma öncesinde yapılan istatistiksel güç analizi sonucuna uygun olduğu için çalışmaya kontrol grubunda 7 adet ve deney grubunda ise 8 adet tavşan ile devam edildi. Her bir tavşanın kalvaryumunda trefin frez yardımıyla dört adet 6 mm çapında bikortikal defektler açıldı. Her bir tavşandaki defektlere 3 farklı greft (otogreft, ksenogreft ve BCP) uygulandı. Defektlerden bir tanesi ise boş bırakıldı.

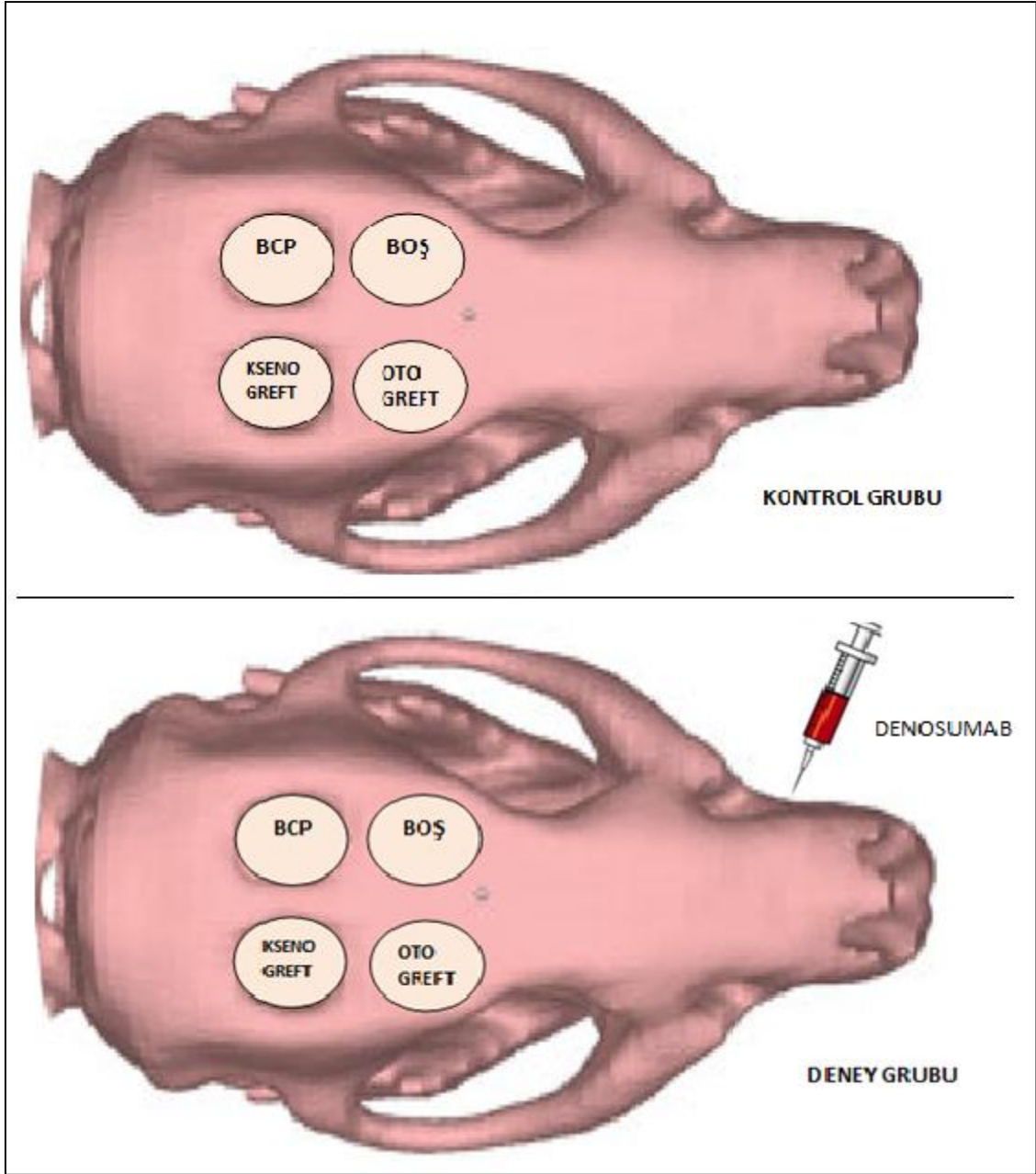
Deney grubuna 2 ay boyunca ayda bir defa subkutan (s.c.) 10 mg/kg Prolia (Denosumab 60 mg SC enjeksiyonluk çözelti içeren kullanıma hazır enjektör, Amgen, Türkiye) enjekte edildi. Kontrol grubuna ise 2 ay boyunca ayda 1 defa subkutan (s.c.) 10 mg/kg serum fizyolojik enjekte edildi.

Tüm hayvanlar 8 hafta sonra sakrifiye edilerek elde edilen kemik doku örnekleri histolojik ve histomorfometrik olarak incelemek üzere Histoloji ve Embriyoloji AD laboratuvarına gönderildi.

Defektler şu şekilde gruplara ayrılmıştır (Şekil 3.1) ;

- **A Grubu:** Bu gruptaki defektler boş bırakılmıştır.
- **B Grubu:** Bu gruptaki defektlere defekten elde edilen kemiğin kemik öğütücü yardımıyla öğütülmesi sonucu oluşan otogreft konulmuştur. (Şekil 3.10)
- **C Grubu:** Bu gruptaki defektlere sığır kaynaklı ksenogreft olan OsteoBiol®Gen-Os (OG) (TecnoDental, Turin, İtalya) konulmuştur (Şekil 3.11.).
- **D Grubu:** Bu gruptaki defektlere tamamen sentetik yapıda olan %60 HA ve %40 β -TCP içeren MİS®4BONE (MB) (MİS, Telaviv, İsrail) konulmuştur (Şekil 3.12.).

Not: B,C ve D grubunda eşit hacimde greft materyali kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Denosumab uygulanan kontrol ve deney gruplarının şeması

3.2. Cerrahi İşlemler

Hayvanlara yapılacak cerrahi işlem öncesinde kullanılacak tüm cerrahi aletler steril edildi (Şekil 3.3). Tavşanlara genel anestezi işlemi için ketamin 50mg/kg (Alfasan, Woerden, Hollanda) ve xylazine 10mg/kg (Bloveta, Komenskeho, Çek Cumhuriyeti) intramusküler enjeksiyonla yapıldı (Şekil 3.2). Cerrahi işlemler öncesinde tüm tavşanların kafa derileri traş edildi (Şekil 3.4). Kafa derilerinde antisepsi sağlamak amacıyla %10'luk povidon iyodür kullanıldı. Cerrahi alan açıkta kalacak şekilde steril örtüler tavşanlar üzerine örtüldü (Şekil 3.5). Tavşanların kafatasında 3-4 cm

uzunluğında insizyonla önce kafa derisi kaldırıldı (Şekil 3.6). Sonrasında periost kaldırılarak kafatası kemiği görüldü (Şekil 3.7). Trefin frez yardımıyla serum ile soğutma yapılarak tavşan kalvaryumlarında dört adet 6mm çapında bikortikal defektler açıldı (Şekil 3.8, Şekil 3.9). Bu aşamada dura matere zarar verilmemesi için çok hassas çalışıldı. Açılan defektlerin 3 tanesine greft materyalleri (otogreft, ksenogreft, BCP) eşit miktarda uygulandı. Defektlerden biri ise boş bırakıldı (Şekil 3.13, Şekil 3.14). İşlem bitirildikten sonra kalvaryumun üstüne membran OsteoBiol®Evolution (TecnoDental, Turin, İtalya) yerleştirildi (Şekil 3.16). Sonrasında periost ve cilt dokusu 4.0 Vicryl ile dikilerek cerrahi işlem tamamlandı (Şekil 3.15).



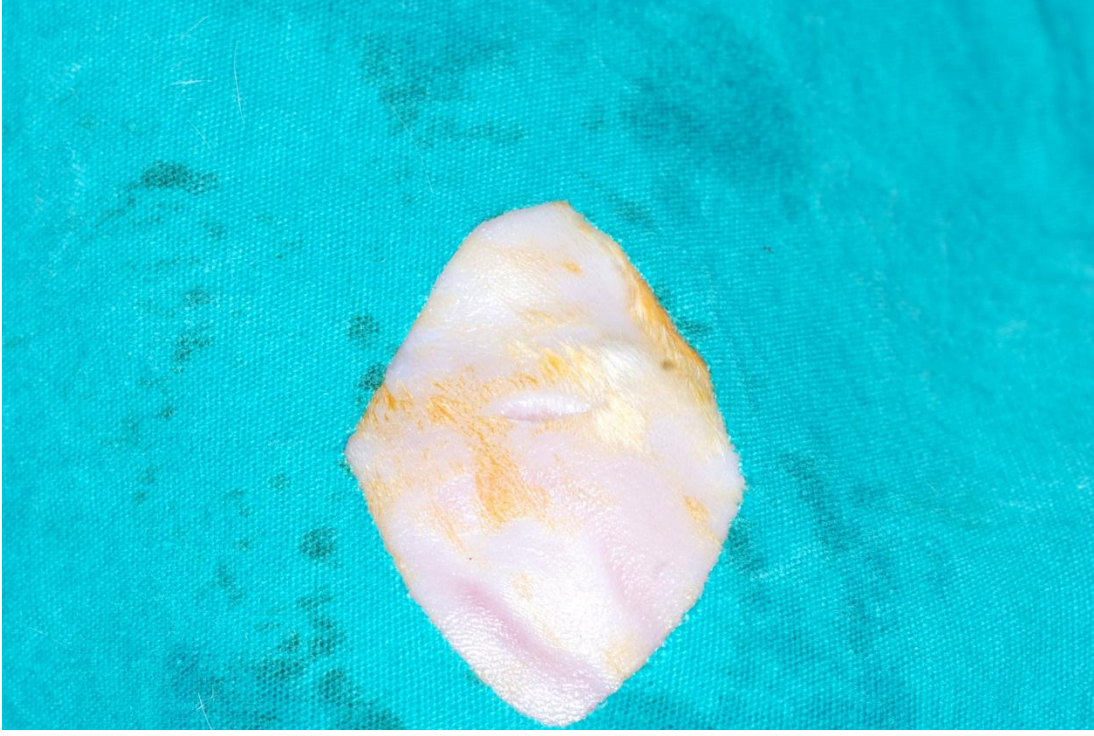
Şekil 3.2. Tavşanların anesteziye alınması



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan aletler



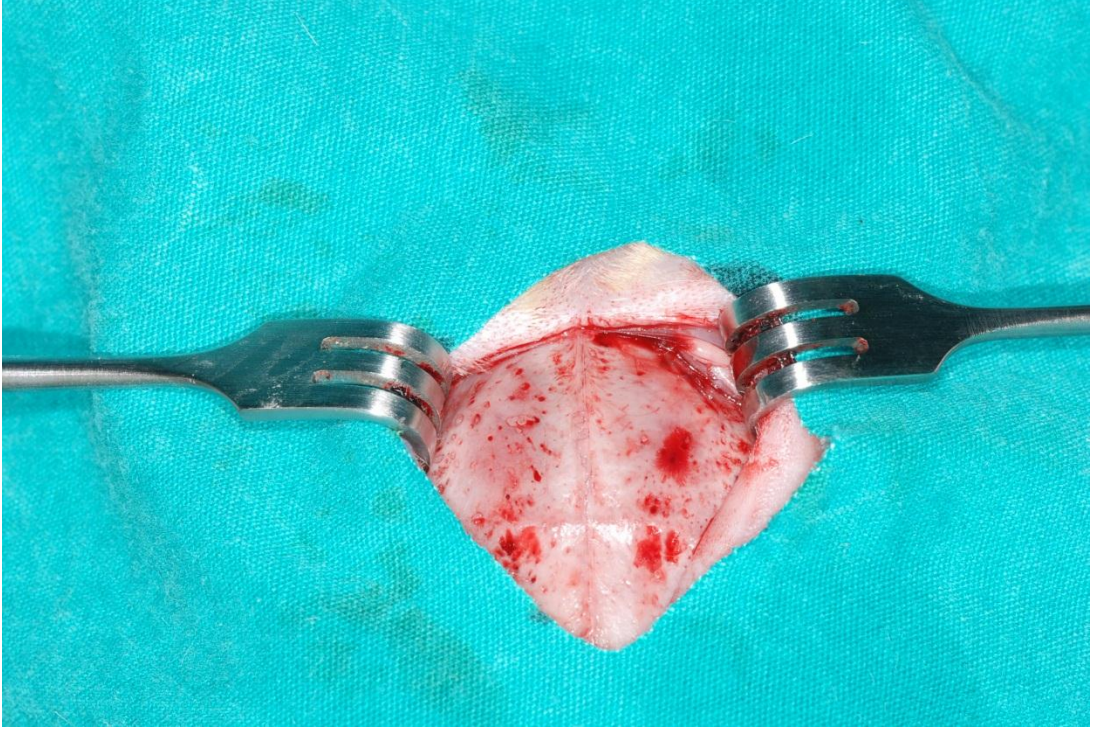
Şekil 3.4. Tavşan kafa derisi traş edildikten sonraki görüntüsü



Şekil 3.5. Tavşan kafatasının açık kalacak şekilde örtülmesi



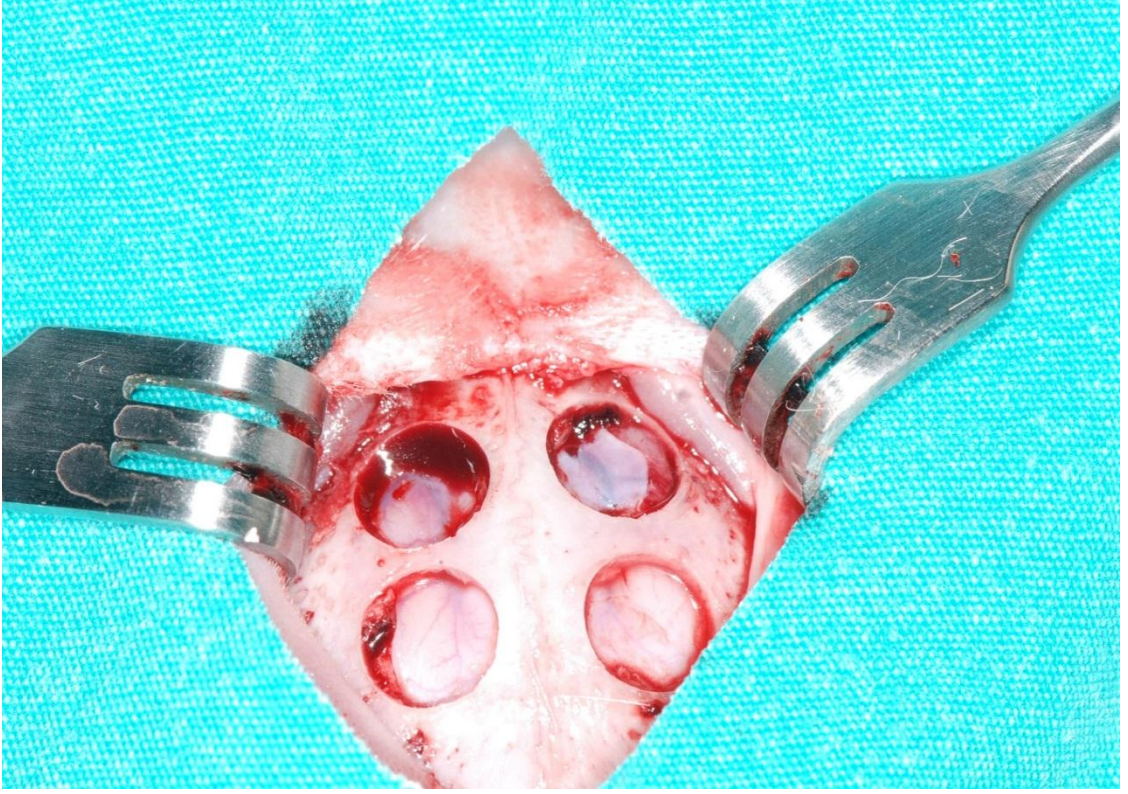
Şekil 3.6. Kafatası derisi insizyonu



Şekil 3.7. Tavşanın kafatası kemiğinin görüntüsü



Şekil 3.8. Trefin frez yardımıyla defektin açılması



Şekil 3.9. 6 mm çapında hazırlanan bikortikal dört adet defektin görüntüsü



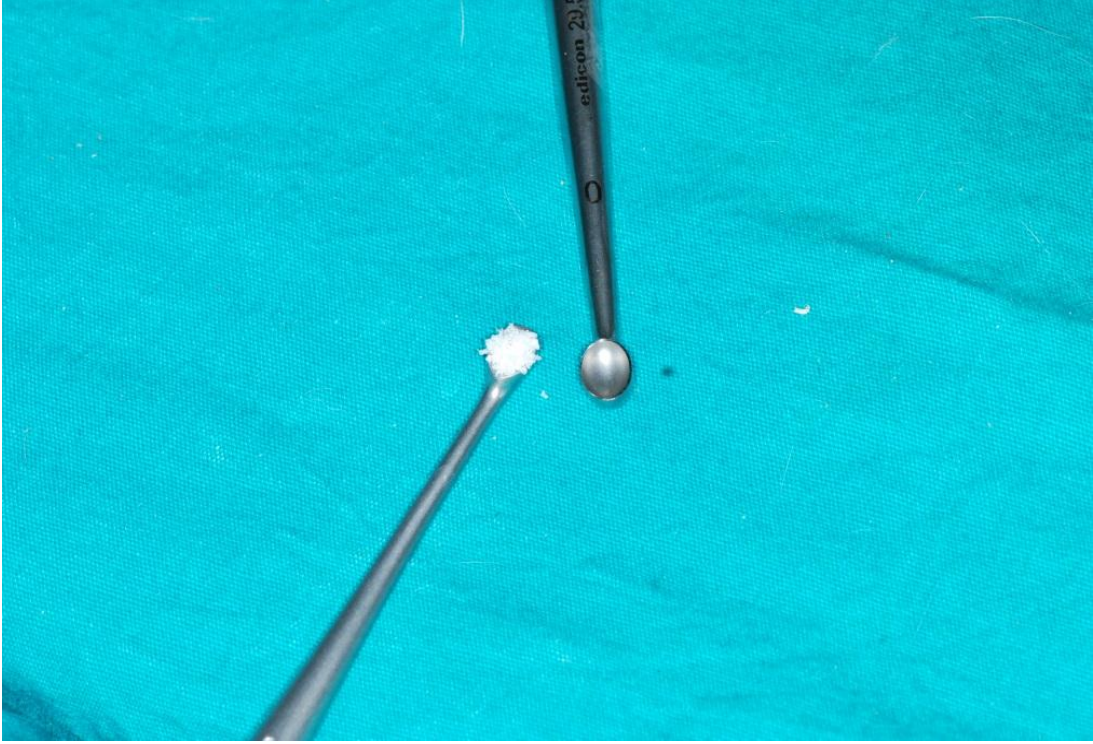
Şekil 3.10. Otogreftin hazırlanması



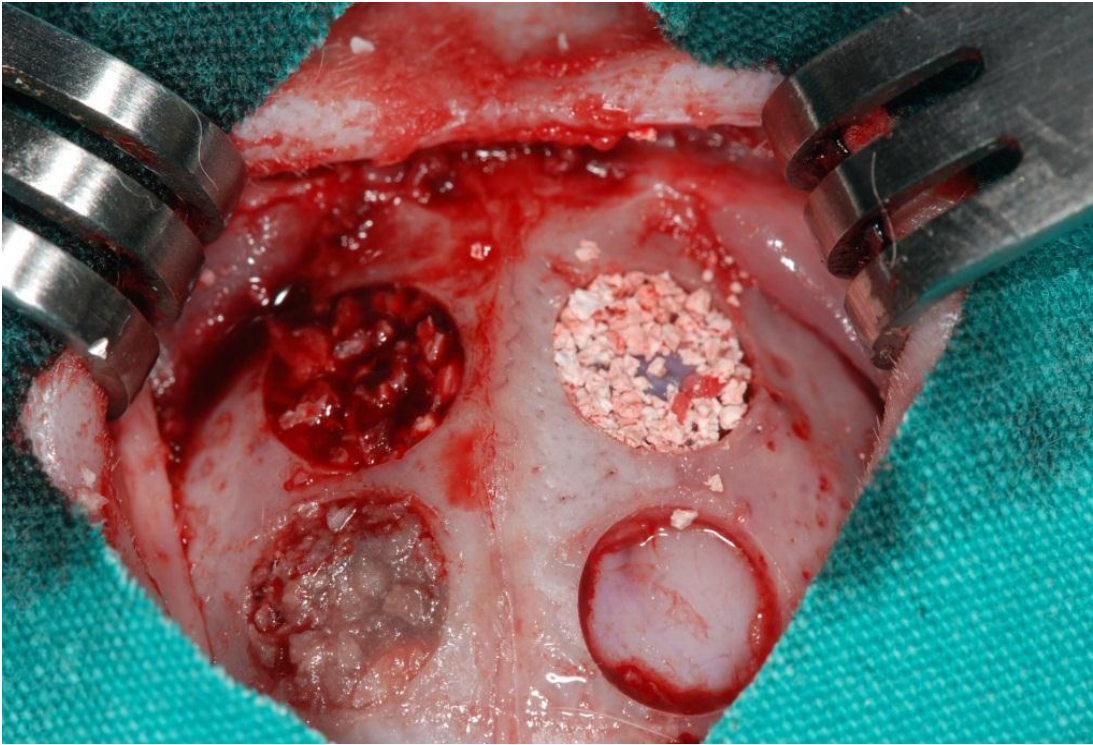
Şekil 3.11. Çalışmada kullanılan ksenogreft materyali



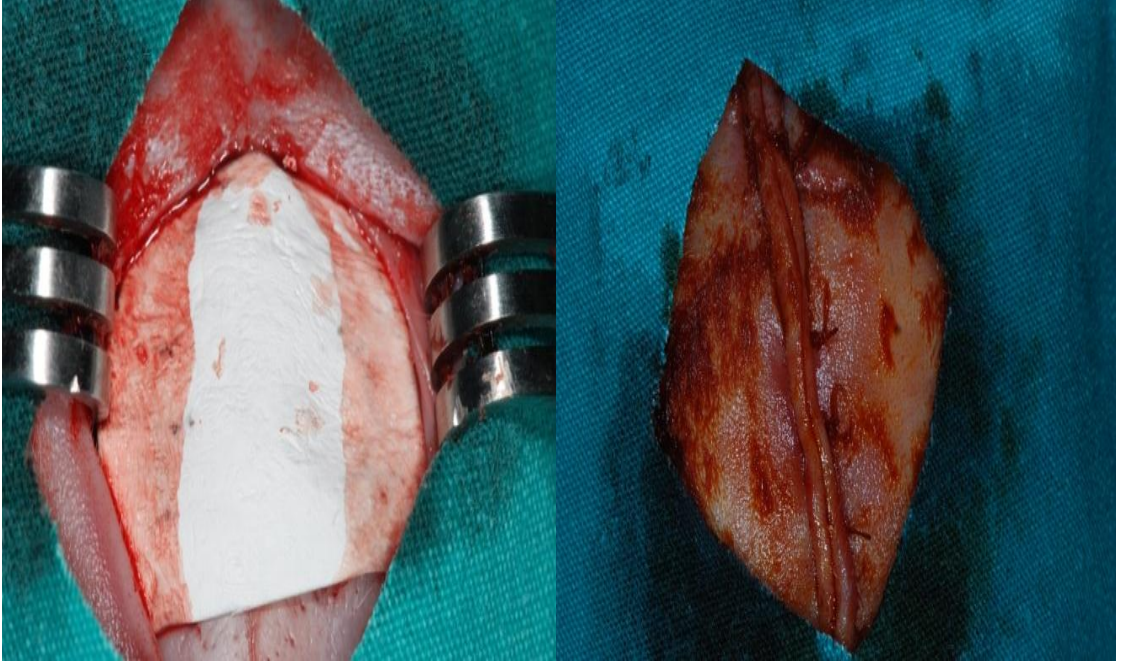
Şekil 3.12. Çalışmada kullanılan BCP greft materyali



Şekil 3.13. Greftlerin eşit miktarda uygulanması



Şekil 3. 14. Kontrol ve deney gruplarının görüntüsü



Şekil 3.15. Cerrahi işlem tamamlandıktan sonra membran ile örtülüp flebin kapatılması



Şekil 3.16. Çalışmada kullanılan membran materyali

3.3. İlaç Uygulaması

Deney grubuna 2 ay boyunca ayda bir defa subkutan (s.c.) 10 mg/kg Prolia® (Denosumab 60 mg SC enjeksiyonluk çözelti içeren kullanıma hazır enjektör, Amgen, Türkiye) enjekte edilmiştir (Şekil 3.17, Şekil 3.18). Kontrol grubuna ise 2 ay boyunca ayda 1 defa subkutan (s.c.) 10 mg/kg serum fizyolojik enjekte edilmiştir.

Hayvanlar 8. haftanın sonunda intravenöz yolla verilen sodyum pentotal (Pentothal, Abbott, ABD) ile sakrifiye edildi. Hayvanlardan elde edilen numuneler %10'luk formaldehite konuldu. Numuneler histolojik ve histomorfometrik incelemeleri için laboratuvara gönderildi.



Şekil 3.17. Sistemik olarak uygulanan denosumab ilacı



Şekil 3.18. Denosumab ilacının uygulanması

3.4. Histolojik ve Histomorfometrik İnceleme

Kemik doku örnekleri %10 formaldehit ile 72 saat süresince tespit edildi. Tespit işlemi sonrasında gün aşırı değiştirilerek yenilenen % 10'luk formik asit çözeltisinde 12 gün süresince dekalsifikasyon işlemine tabi tutuldu. Dekalsifikasyon süreci tamamlanan kemik doku örnekleri yıkama işlemi takiben, artan derecelerdeki etanol serilerinden (%50-%99) ve ksilen serilerinden geçirildikten sonra parafin bloklar içerisine gömüldü (Şekil 3.19). Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom yardımı ile hazırlanan 6 µm kalınlığındaki kesitler lamalar üzerine alındı (Şekil 3.20). Kesitlere hematoksilin-eozin (H-E) ve Gomori'nin trikrom boyamaları uygulandı (Şekil 3.21).



Şekil 3.19. Örneklerin dehidrate olmaları için bekletildikleri tam otomatik doku takip cihazı



Şekil 3.20. Histolojik incelemeye hazır hale getirmek için kullanılan parafin blok cihazı ve mikrotom cihazı

Boyanmış olan kemik doku kesitleri Leica DFC280 ışık mikroskopunda incelenerek Leica Q Win Plus V3 görüntü analiz sisteminde (Leica Microsystems Imaging Solutions, Cambridge, UK) fotoğraflar alındı. Alınan fotoğraflar üzerinde her bir kesitteki total doku alanının ve bu total doku alanı içindeki matür kemik doku alanlarının ölçümleri yapıldı. Her bir kesitteki matür kemik doku alanı/total doku alanı oranlanarak yeni oluşan kemik doku indeksi belirlendi (73).



Şekil 3.21. Histolojik değerlendirme için kullanılan boyama cihazı

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiş ve parametrelerin normal dağılmadığı saptanmıştır. Parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U test kullanıldı ve anlamlılık düzeyi $p<0.008$ olarak kabul edildi. Parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Çalışmadaki genel anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Histolojik Bulgular

4.1.1. Kontrol grubuna Ait Histolojik Bulgular

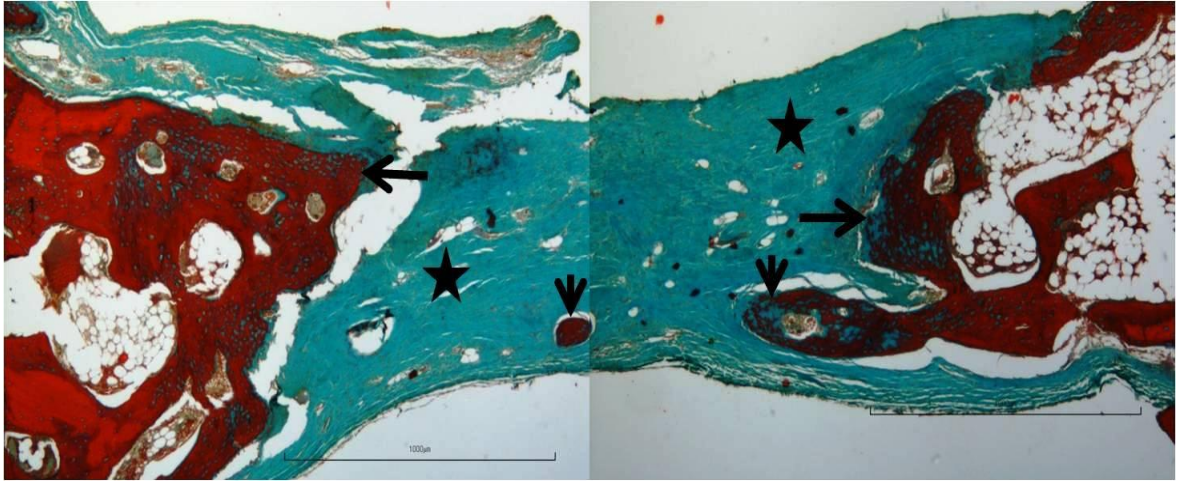
Kontrol A grubu: Cerrahi uçlardan kemik dokunun defekt alanına doğru osteokondüktif aktivite göstererek uzadığı görüldü. Defekt alanları yoğun olarak fibröz bağ dokusu yapısında izlenmekle birlikte yer yer bağ dokusu alanlar içinde küçük, matür kemik doku parçaları izlendi. Kemik doku parçaları periferinde yerleşik osteoblatlar dikkati çekti (Şekil 4.1, 4.2, 4.3). Histomorfometrik bulgular tablo 4.1-4.2-4.3-4.4 te görülmektedir.



Şekil 4.1. Kontrol A grubuna ait genel histolojik görünüm (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları . H-E, Skala=1000 µm.)

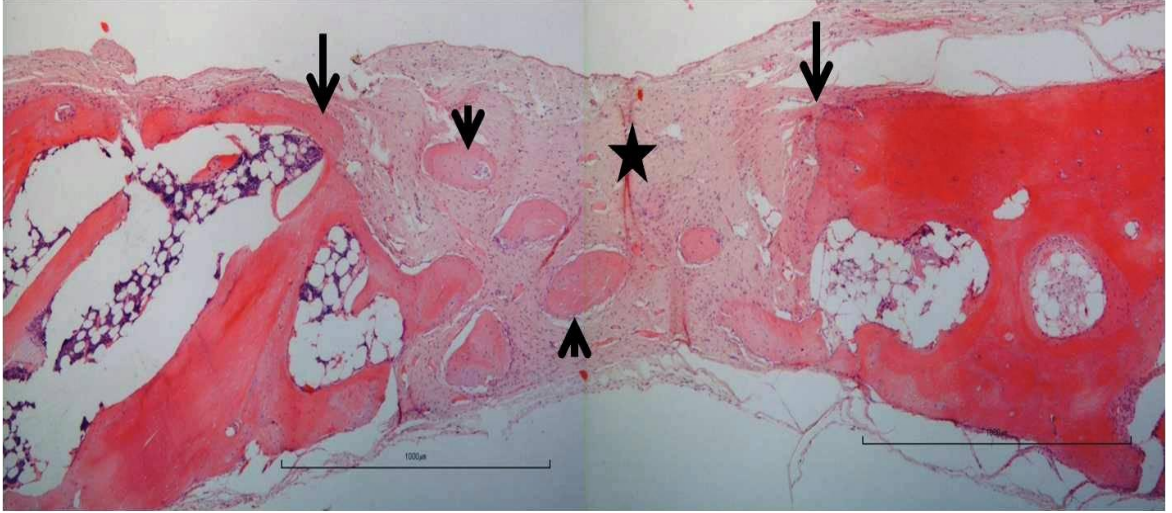


Şekil 4.2. Kontrol A grubuna ait örnek fotoğraf (yıldız: Fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları, ok: matür kemik kemik doku çevresinde osteoblastlar H-E, Skala=100 µm.)

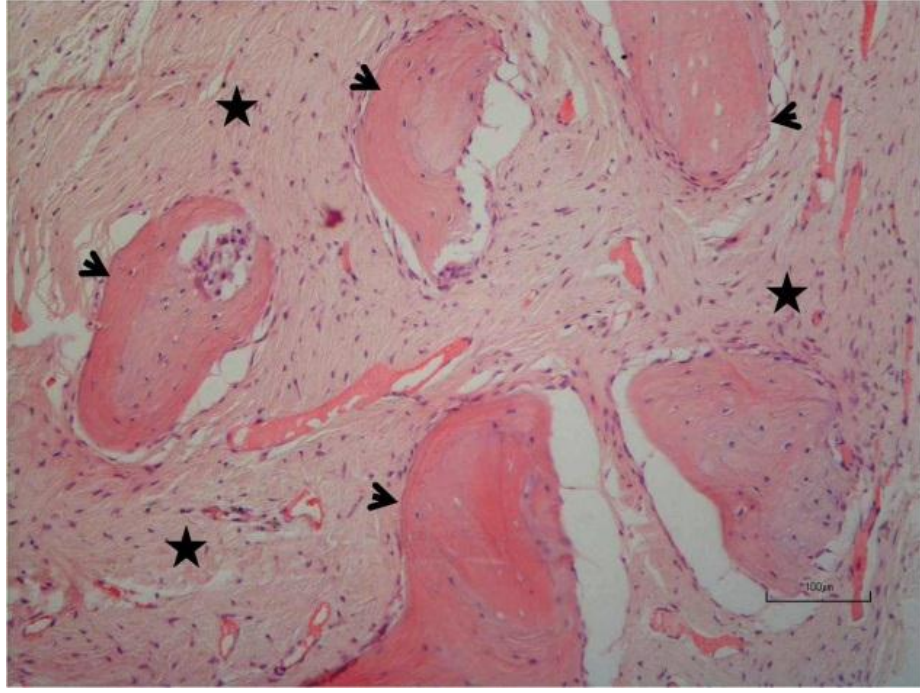


Şekil 4.3. Kontrol A grubuna ait örnek fotoğraf (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları Trikrom. , Skala=1000 µm.)

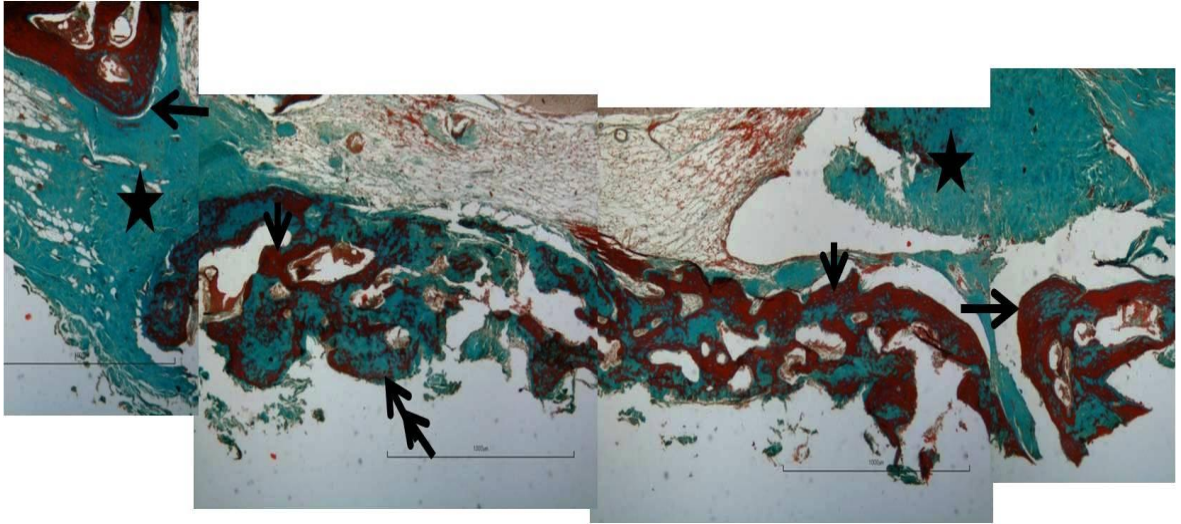
Kontrol B grubu: Kemik dokunun cerrahi uçlarında osteokondüktif aktivite izlendi. Defekt alanında fibröz bağ dokusu ve bu bağ dokusu içerisinde matür kemik doku parçaları izlendi. Kemik doku çevresinde belirgin fibroblastik aktivite dikkati çekti. Bazı kesitlerde kemik doku oluşumunun trabeküler tarzda olduğu gözlemlendi. Trabeküller yapıların bazı alanlarda matür kemik yapısında bazı alanlarda ise osteoid doku formunda olduğu gözlemlendi (Şekil 4.4, 4.5, 4.6).



Şekil 4.4. Kontrol B grubuna ait genel histolojik görünüm (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları . H-E, Skala=1000 µm.)

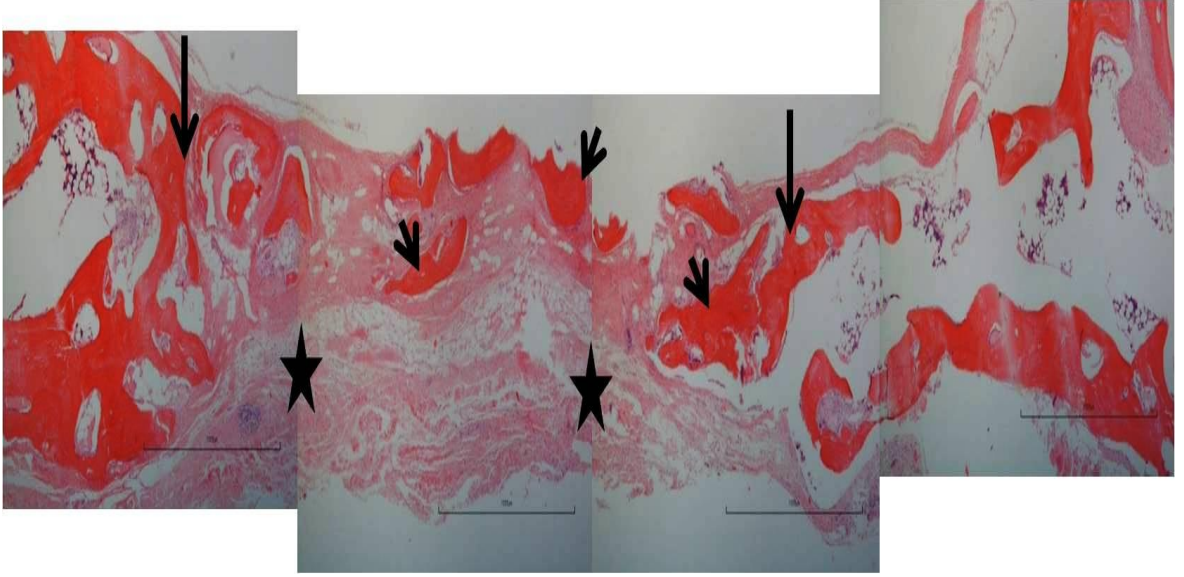


Şekil 4.5. Kontrol B grubuna ait örnek fotoğraf (yıldız: Fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları, H-E, Skala=100 µm.)

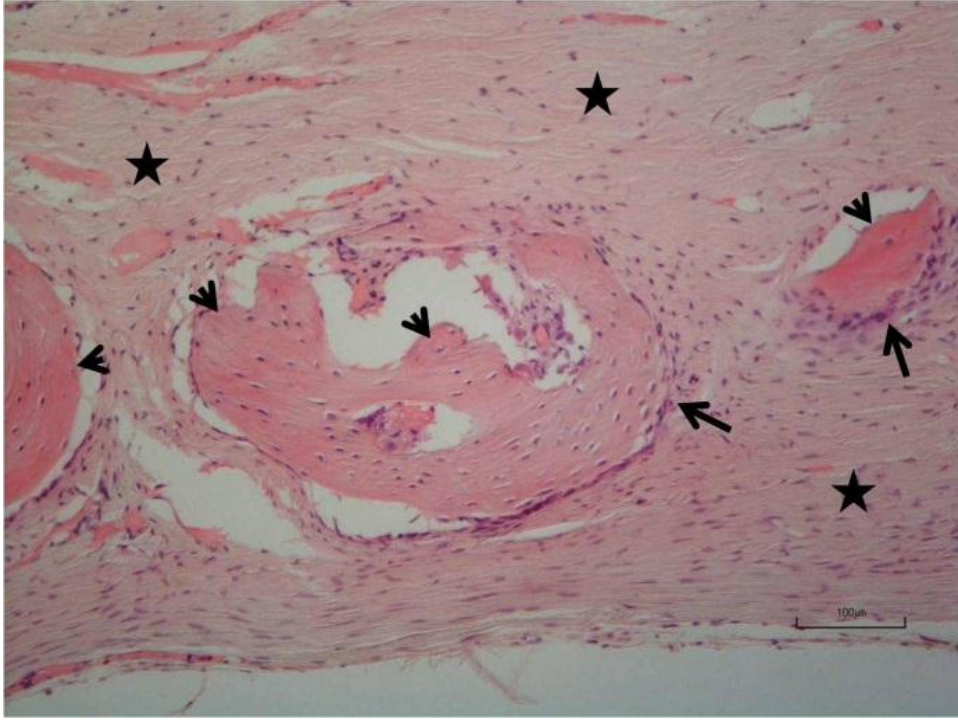


Şekil 4.6. Kontrol B grubuna ait örnek fotoğraf (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları çift başlı ok: inmatür kemik doku trabeküleri Trikróm. , Skala=1000 µm.)

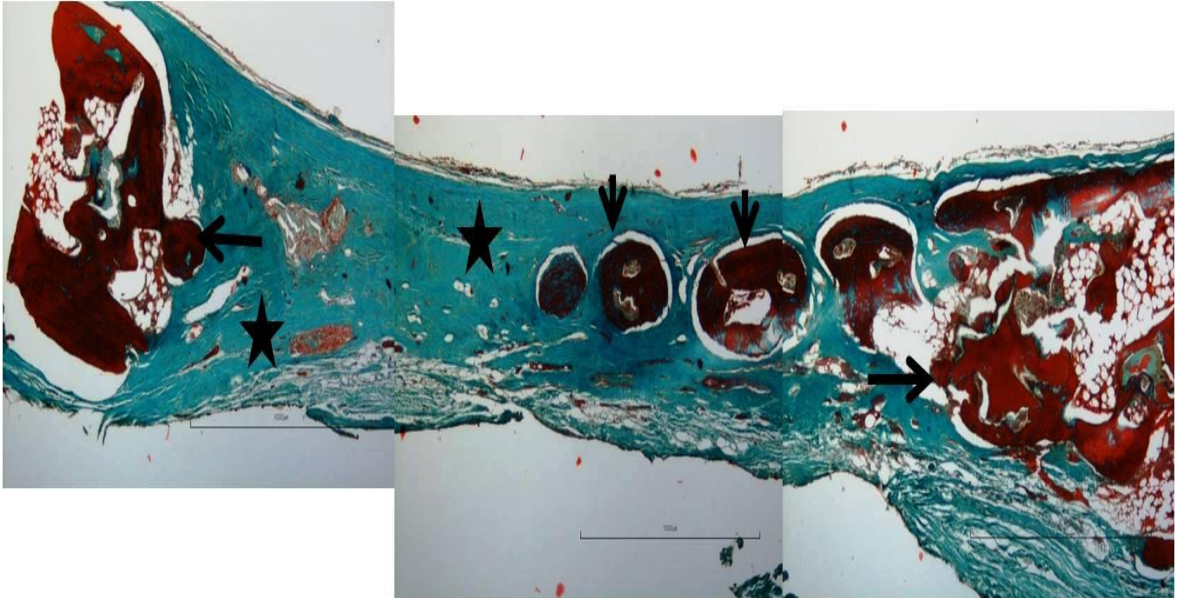
Kontrol C grubu: Cerrahi uçlarda kemik dokunun osteokondüktif gelişim ile defekt alanı yönünde uzadığı görüldü. Defekt bölgesinde fibröz bağ dokusu ve trabeküler yapıda matür kemik doku parçaları izlendi. Kemik doku parçaları periferinde osteoblastlar dikkati çekti. Defekt alanındaki greft materyalinin büyük oranda rezorbe olduğu ancak yer yer küçük greft alanları çevresinde osteojenik aktivite gözlemlendi (Şekil 4.7, 4.8, 4.9).



Şekil 4.7. Kontrol C grubuna ait genel histolojik görünüm(oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları. H-E, Skala=1000 µm.)

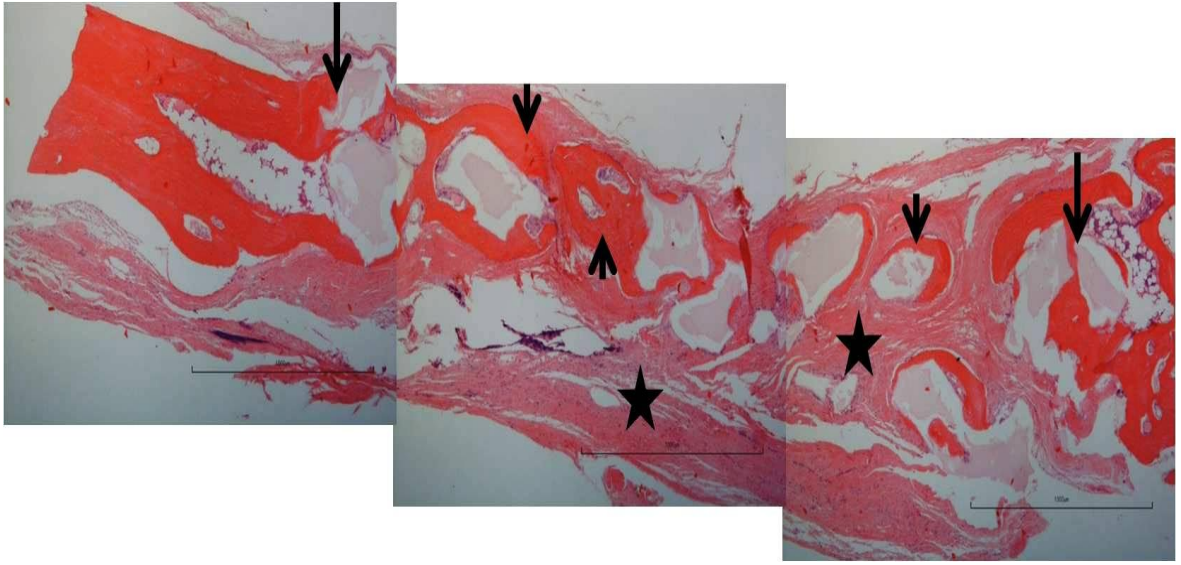


Şekil 4.8. Kontrol C grubuna ait örnek fotoğraf (yıldız: Fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları, ok: matür kemik kemik doku çevresinde osteoblastlar H-E, Skala=100 µm.)

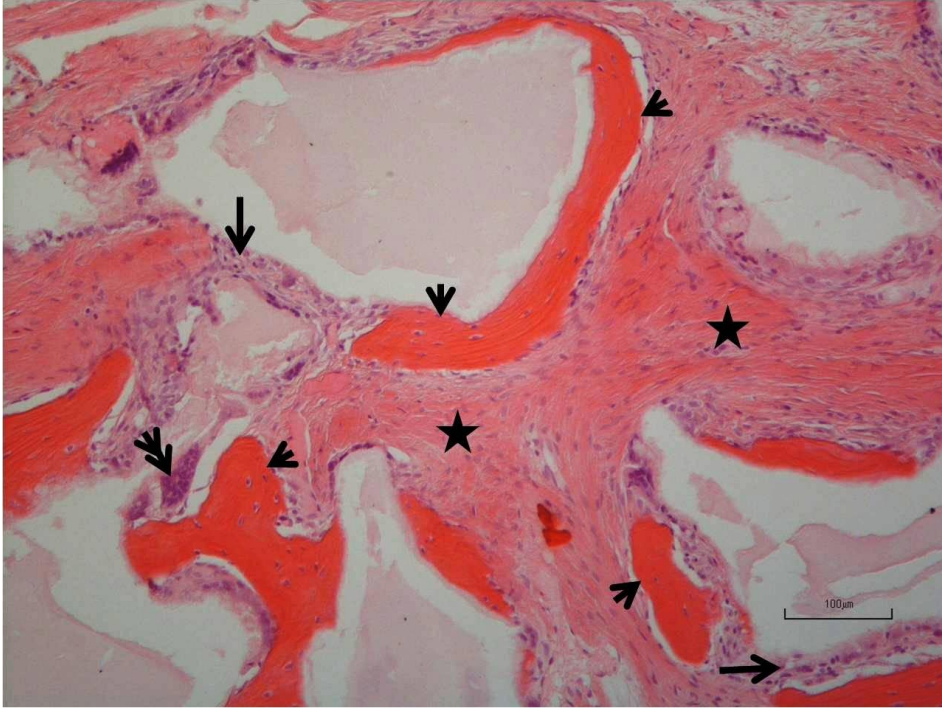


Şekil 4.9. Kontrol C grubuna ait örnek fotoğraf (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları Trikrom, Skala=1000 µm.)

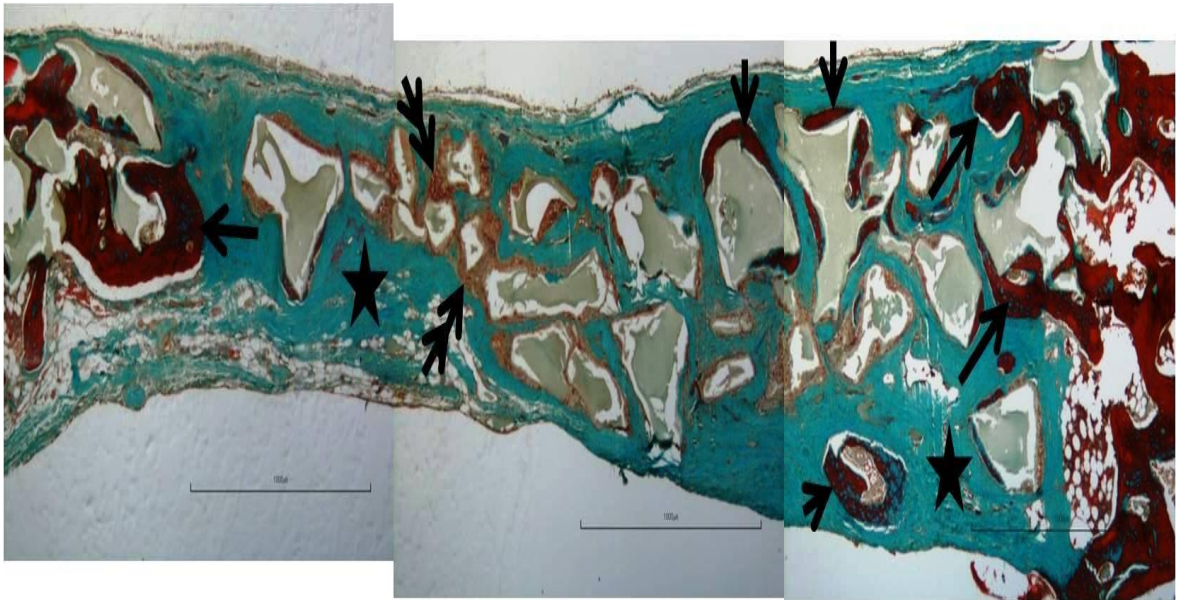
Kontrol D grubu: Kemik dokunun cerrahi uçlarından defekt alanına doğru uzanan ince, trabeküler yapıda kemik doku parçaları izlendi. Defekt alanında geniş greft alanları çevresinde ince lameller şeklinde matür kemik doku trabekülleri mevcuttu. Kemik lameller arasındaki alanlarda yer yer osteoid doku alanlarına rastlandı. Graft alanları çevresinde osteoblastlar ve yer yer osteoklastlar izlenen osteojenik alanlar görüldü. Defekt alanı içinde greft alanları ile matür ve inmatür kemik doku alanları dışındaki bölgeler fibröz bağ dokusu yapısında izlendi (Şekil 4.10, 4.11, 4.12).



Şekil 4.10. Kontrol D grubuna ait genel histolojik görünüm (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları. H-E, Skala=1000 μ m.)



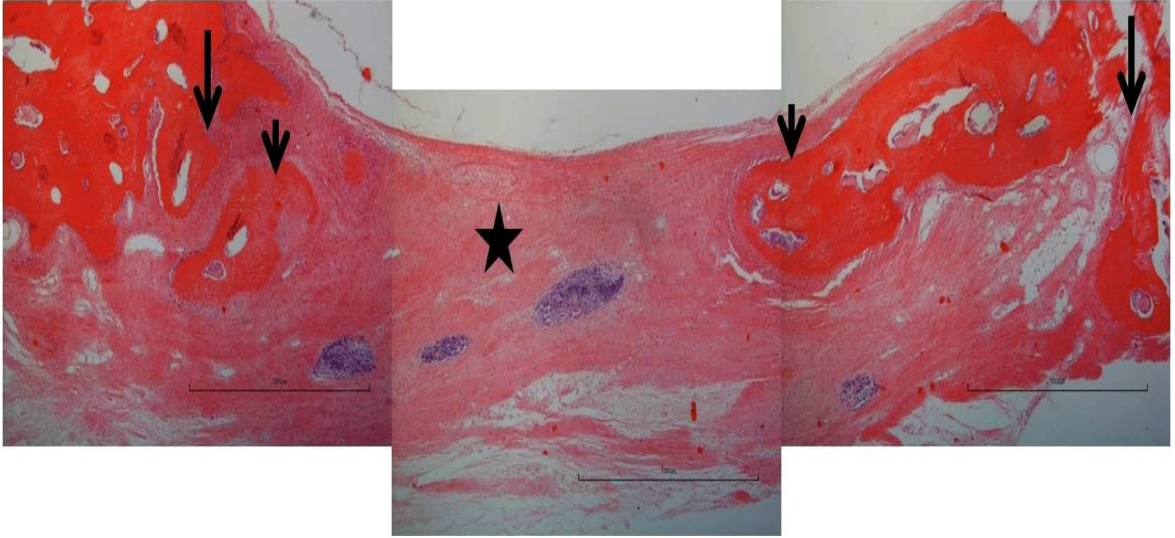
Şekil 4.11. Kontrol D grubuna ait örnek fotoğraf (yıldız: osteoid doku, ok başı: matür kemik doku parçaları, ok: osteoblastlar çift ok başı: osteoklast H-E, Skala=100 µm.).



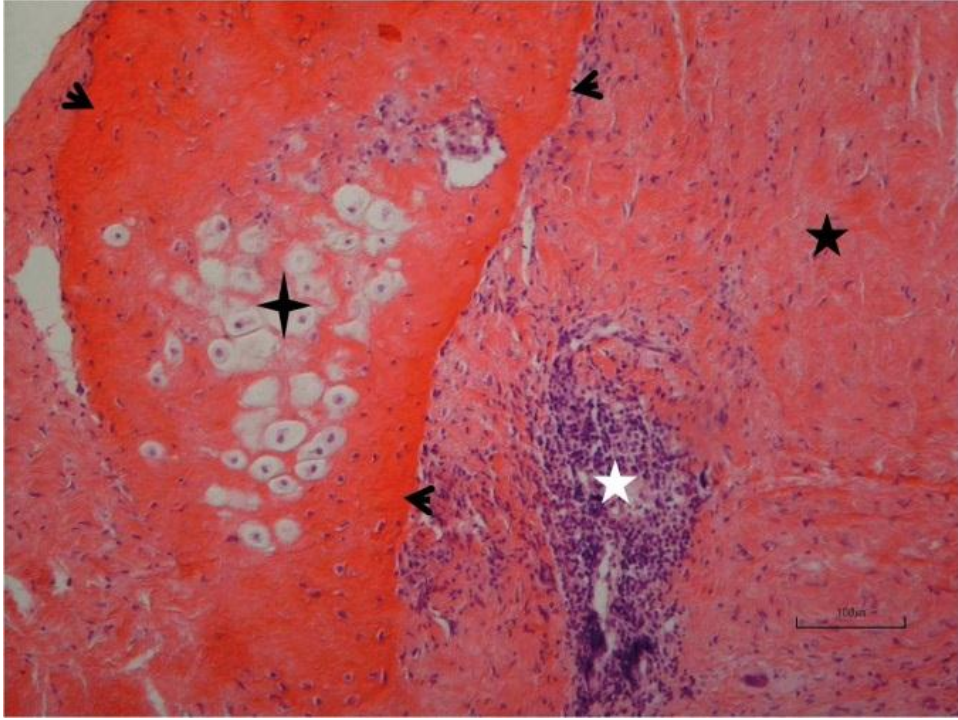
Şekil 4.12. Kontrol D grubuna ait örnek fotoğraf (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları çift başlı ok: greft alanları periferinde osteojenik aktivite Trikrom, Skala=1000 µm.)

4.1.2. Deney Grubuna Ait Histolojik Bulgular

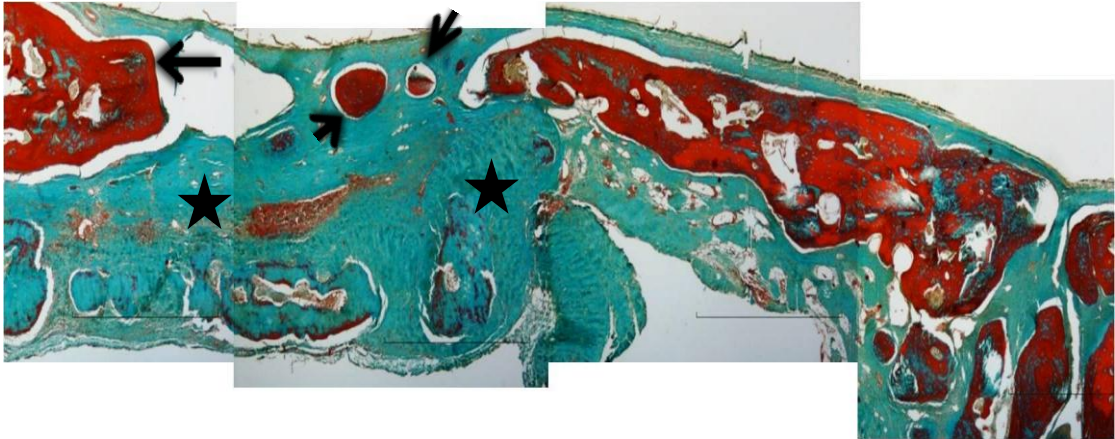
Deney A grubu: Cerrahi uçlarda kemik dokunun defekt alanına doğru osteokondüktif aktivite göstererek uzadığı görüldü. Defekt alanının ağırlıklı olarak fibröz bağ dokusu ile kapandığı görülmekle birlikte özellikle cerrahi uçlara yakın bölgelerde kemik doku oluşumu dikkati çekti. Ayrıca yer yer fibröz bağ dokusu alanları içinde inmatür kemik doku alanları saptandı (Şekil 4.13, 4.14, 4.15).



Şekil 4.13. Deney A grubuna ait genel histolojik görünüm (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları. H-E, Skala=1000 µm.)

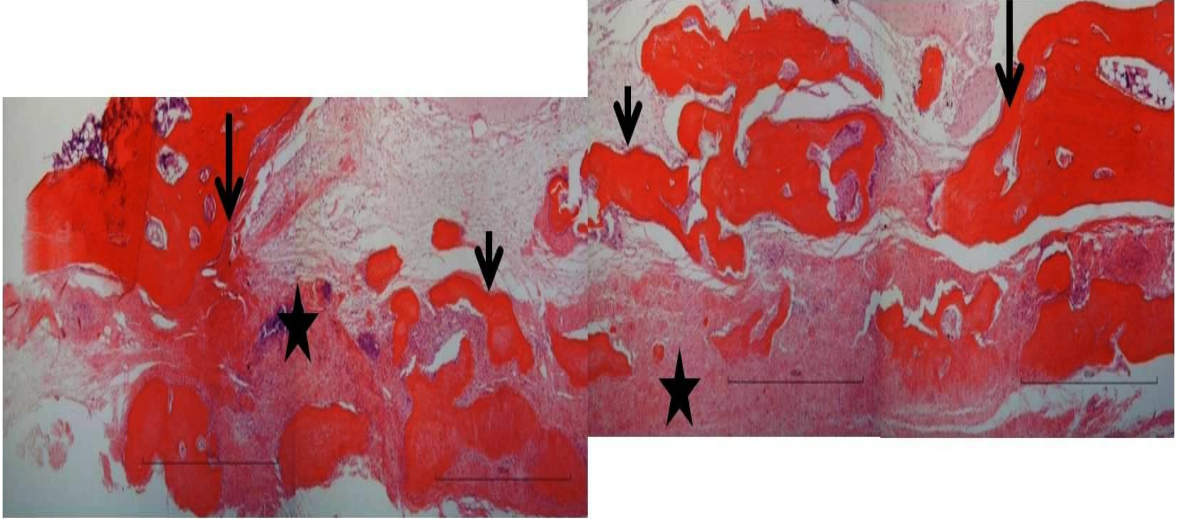


Şekil 4.14. Deney A grubuna ait örnek fotoğraf (ok başı: Kemik doku parçaları, dört nokta yıldız: kemik doku merkezinde kıkırdak doku alanı, siyah yıldız: fibröz bağ dokusu, beyaz yıldız: inflamatur hücre kümesi. H-E, Skala=100 μm.)

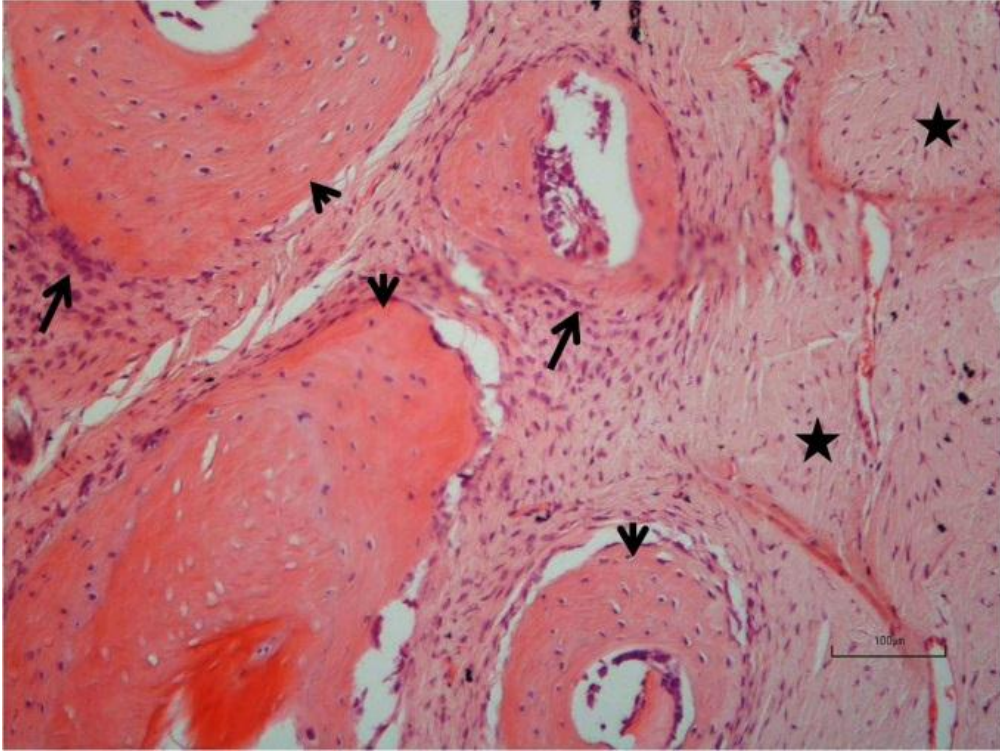


Şekil 4.15. Deney A grubuna ait örnek fotoğraf (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: mattür kemik doku parçaları çift başlı ok: osteoid doku Trikrom, Skala=1000 μm.)

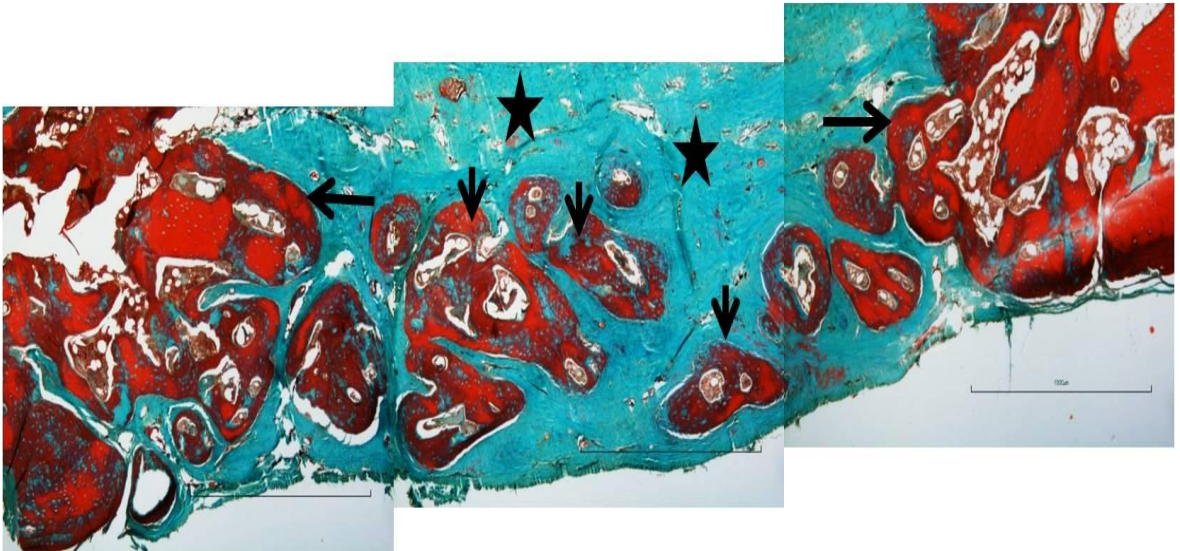
Deney B grubu: Kemik dokunun cerrahi uçlarında osteokondüktif aktivite ve kemik dokuda defekt alanına doğru büyüme izlendi. Tüm defekt alanı boyunca geniş, düzensiz, trabeküler tarzda anastomozlaşan matür kemik doku parçaları izlendi. Kemik doku parçaları dışındaki alanlar fibröz bağ dokusu yapısındaydı. Kemik doku parçaları çevresinde belirgin fibroblastik aktivite artışı dikkati çekti (Şekil 4.16, 4.17, 4.18).



Şekil 4.16. Deney B grubuna ait genel histolojik görünüm (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları. H-E, Skala=1000 µm.)

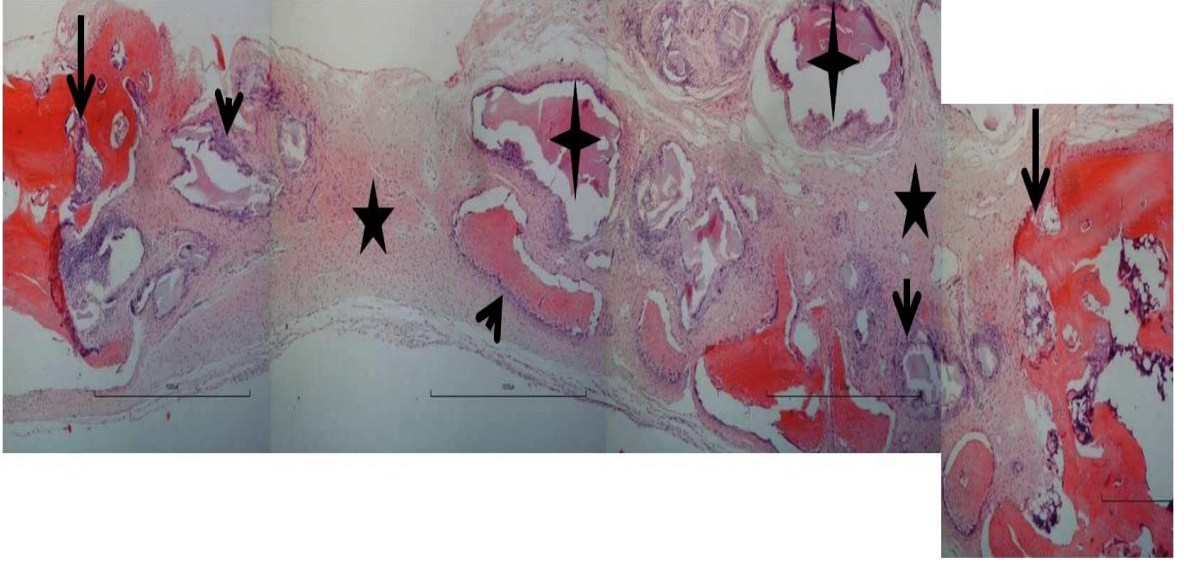


Şekil 4.17. Deney B grubuna ait örnek fotoğraf (yıldız: Fibröz bağ dokusu , ok başı: matür kemik doku parçaları, ok: matür kemik doku çevresinde osteoblastlar H-E, Skala=100 µm.)

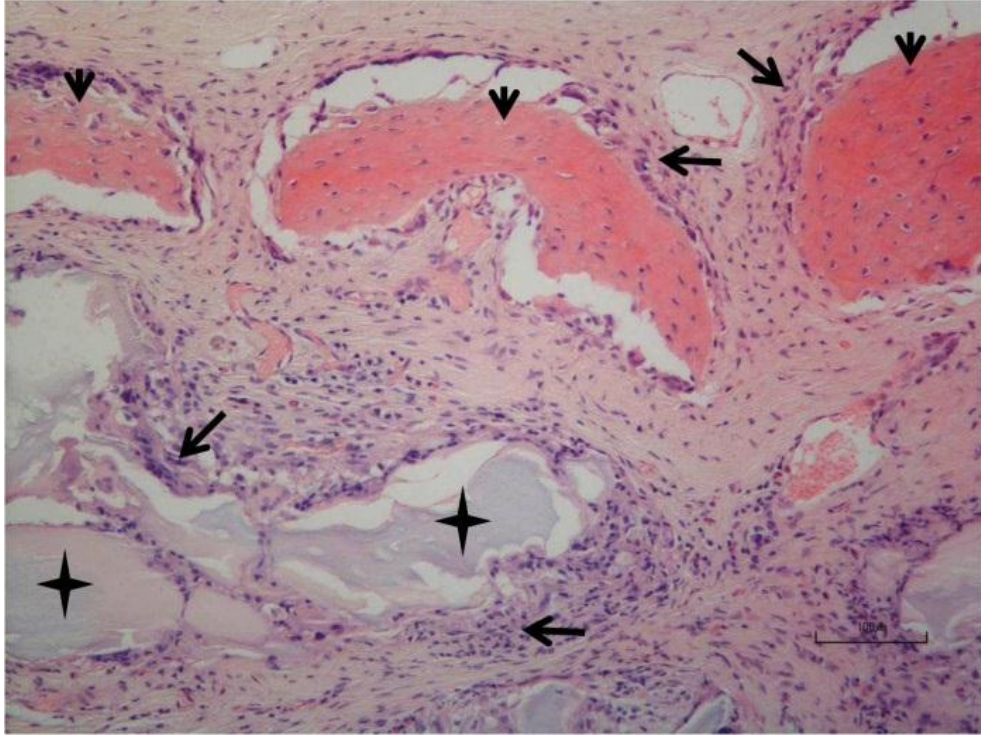


Şekil 4.18. Deney B grubuna ait örnek fotoğraf (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları Trikrom, Skala=1000 µm.)

Deney C grubu: Cerrahi uçlarda osteokondüktif aktivite izlendi. Defekt alanı içinde geniş, düzensiz greft materyali alanları, matür ve inmatür kemik doku parçaları ve fibröz bağ dokusu izlendi. Graft materyali alanları çevresinde ve kemik doku parçaları periferinde belirgin osteoblast yoğunlaşması ve ostojenik aktivite saptandı (Şekil4.19, 4.20, 4.21)



Şekil 4.19. Deney C grubuna ait genel histolojik görünüm (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, dört nokta yıldız: greft alanları ok başı: greft alanları çevresinde osteoblastik-ostojenik aktivite. H-E, Skala=1000 µm.)

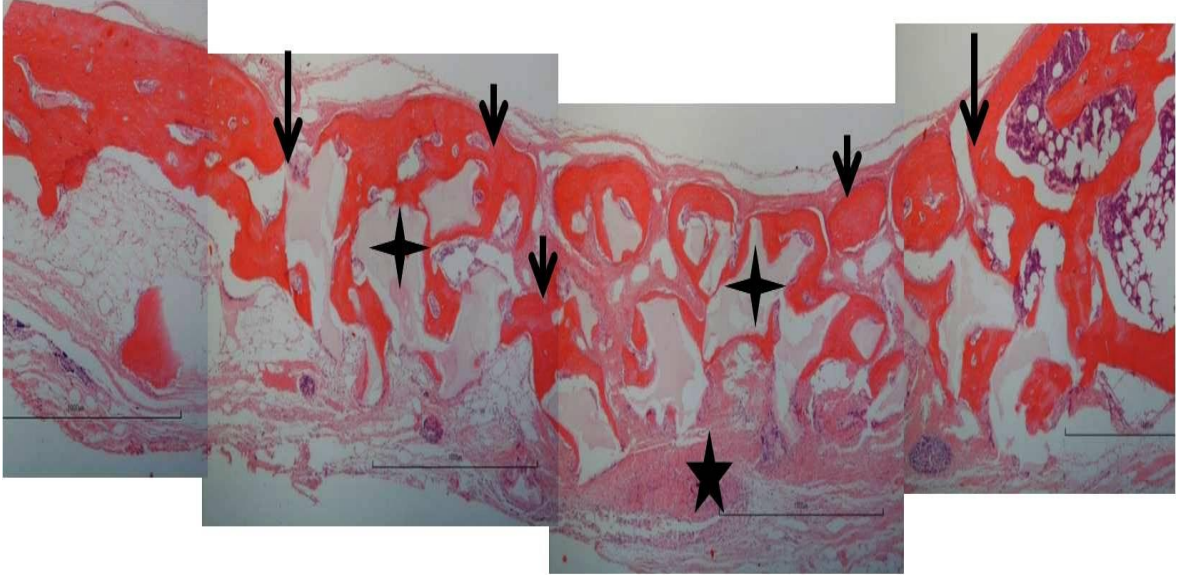


Şekil 4.20. Deney C grubuna ait örnek fotoğraf (yıldız: Fibröz bağ dokusu, ok başı: kemik doku parçaları, dört nokta yıldız: greft alanları ok: kemik doku parçaları ve greft alanları çevresinde osteoblastlar H-E, Skala=100 µm.)

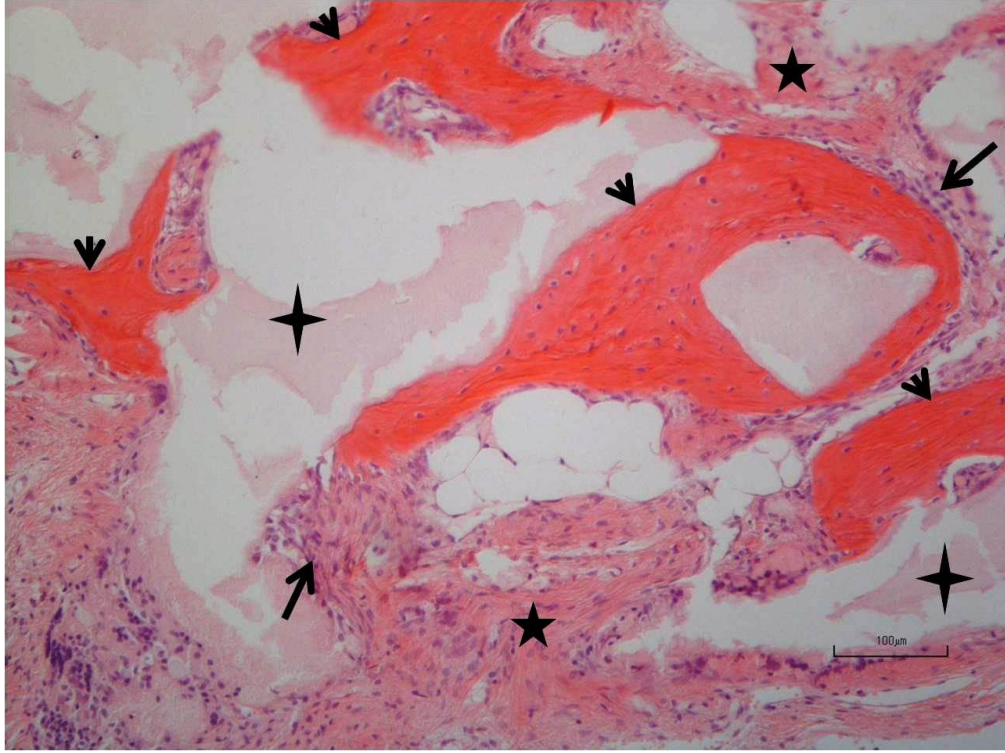


Şekil 4.21. Deney C grubuna ait örnek fotoğraf (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları çift başlı ok: greft alanları çevresinde osteojenik aktivite Trikróm, Skala=1000 µm.)

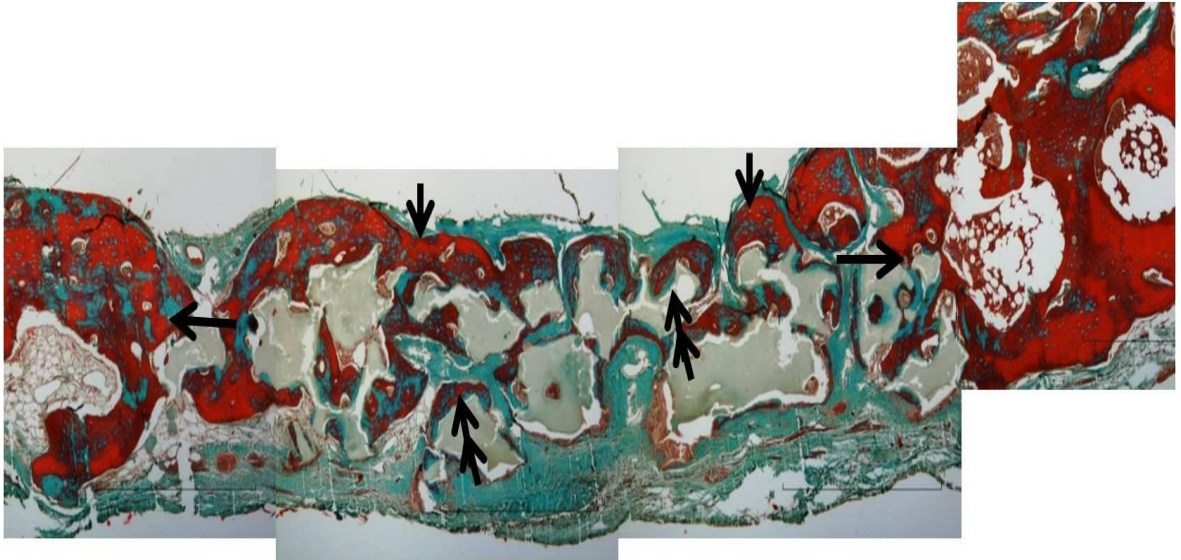
Deney D grubu: Cerrahi kemik uçlarında osteokondüktif büyüme izlendi. Greft materyali alanları düzensiz geniş boşluklar şeklinde görüldü. Defekt alanı boyunca greft materyali çevresinde lameller şeklinde matür kemik doku oluşumları ve yer yer osteoid doku alanları izlendi. Bu yapılar dışındaki alanlar fibröz bağ dokusu yapısında gözlemlendi. Kemik doku parçaları periferinde osteoblastlar mevcuttu (Şekil 4.22, 4.23, 4.24).



Şekil 4.22. Deney D grubuna ait genel histolojik görünüm (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, dört nokta yıldız: greft alanları ok başı: trabeküler yapıda matür kemik doku parçaları H-E, Skala=1000 µm.)



Şekil 4.23. Deney D grubuna ait örnek fotoğraf (yıldız: osteoid doku , ok başı: kemik doku parçaları, dört nokta yıldız: greft alanları ok: matür kemik doku çevresinde osteoblastlar H-E, Skala=100 μm.)



Şekil 4.24. Deney D grubuna ait örnek fotoğraf (oklar: cerrahi uçlarda kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başı: matür kemik doku parçaları çift başlı ok: greft alanları çevresinde inmatür kemik doku parçaları Trikröm, Skala=1000 μm.)

4.2. Histomorfometrik Bulgular

Kontrol grubu içerisindeki gruplarda elde edilen yeni kemik alanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.068$; $p>0.05$) (Tablo 4.1).

Deney grubu içerisindeki gruplarda yeni kemik alanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p=0.015$; $p<0.05$) (Tablo 4.1). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U test uygulanmış ve yeni anlamlılık düzeyi $p<0.008$ olarak kabul edilmiştir. Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda, Deney B grubunda elde edilen yeni kemik alanı ortalaması, C ($p=0.008$) ve D ($p=0.007$) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p\leq 0.008$). Deney A, C ve D gruplarının yeni kemik alanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.008$) (Tablo 4.2).

Grup A da; deney grubunda elde edilen yeni kemik alanı ortalaması, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0.021$; $p<0.05$).

Grup B de; deney grubunda elde edilen yeni kemik alanı ortalaması, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0.032$; $p<0.05$).

Grup C de; deney grubundaki yeni kemik alanı ortalaması kontrol grubuna göre az olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.107$; $p>0.05$).

Grup D de; deney grubundaki yeni kemik alanı ortalaması kontrol grubuna göre az olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.225$; $p>0.05$).

Yeni oluşan kemik alanları Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Şekil 4.25’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Yeni kemik alanı değerlendirilmesi (μm^2)

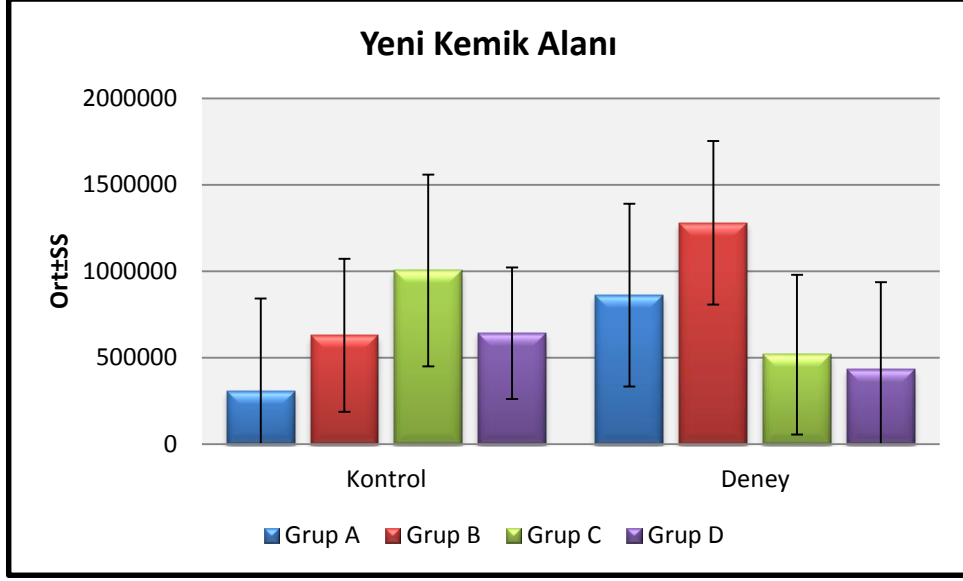
Yeni Kemik Alanı	Kontrol	Deney	¹ p
	(Ort \pm SS)	(Ort \pm SS)	
Grup A	308794,43 \pm 534242,25	862607,75 \pm 528867,54	0,021*
Grup B	629952 \pm 441453,39	1280422 \pm 472561,26	0,032*
Grup C	1004034,8 \pm 554413,45	518225,88 \pm 461998,31	0,107
Grup D	642232,57 \pm 380579,12	432666,14 \pm 504658,1	0,225
² p	0,068	0,015*	

¹Mann Whitney U test²Kruskal Wallis Test* $p < 0.05$ **Tablo 4.2.** Yeni kemik alanının Post hoc değerlendirmeler

Yeni Kemik Alanı	Kontrol	Deney
	P	p
A/B	0,032	0,132
A/ C	0,042	0,172
A/ D	0,084	0,083
B/C	0,361	0,008*
B/D	0,886	0,007*
C/D	0,223	0,728

Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U Test

* $p \leq 0.008$



Şekil 4.25. Histomorfometrik inceleme sonuçlarına göre yeni oluşan kemik alanlarının dağılımları

Kontrol grubu içerisindeki gruplarda elde edilen yeni kemik oluşum yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.173$; $p>0.05$) (Tablo 4.3, 4.4).

Deney grubu içerisindeki gruplarda elde edilen yeni kemik oluşum yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.060$; $p>0.05$) (Tablo 4.3, 4.4).

Grup A da; deney grubunda elde edilen yeni kemik oluşum yüzdesi, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0.037$; $p<0.05$).

Grup B de; deney grubunda elde edilen yeni kemik oluşum yüzdesi, kontrol grubuna göre fazla olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.199$; $p>0.05$).

Grup C de; deney grubundaki yeni kemik oluşum yüzdesi kontrol grubuna göre az olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.187$; $p>0.05$).

Grup D de; deney grubundaki yeni kemik oluşum yüzdesi kontrol grubuna göre az olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.180$; $p>0.05$).

Yeni oluşan kemiğin total doku alanına oranlanarak elde edilen yeni oluşan kemik alanlarının yüzdeleri Tablo 4.3, 4.4 ve Şekil 4.26'da gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Yeni kemik alanının yüzdesi

Yeni Kemik Yüzdesi	Kontrol	Deney	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	
Grup A	15±17	33±15	0,037*
Grup B	27±13	38±2	0,199
Grup C	36±2	19±18	0,187
Grup D	24±12	14±14	0,180
²p	0,173	0,060	

¹Mann Whitney U test

²Kruskal Wallis Test

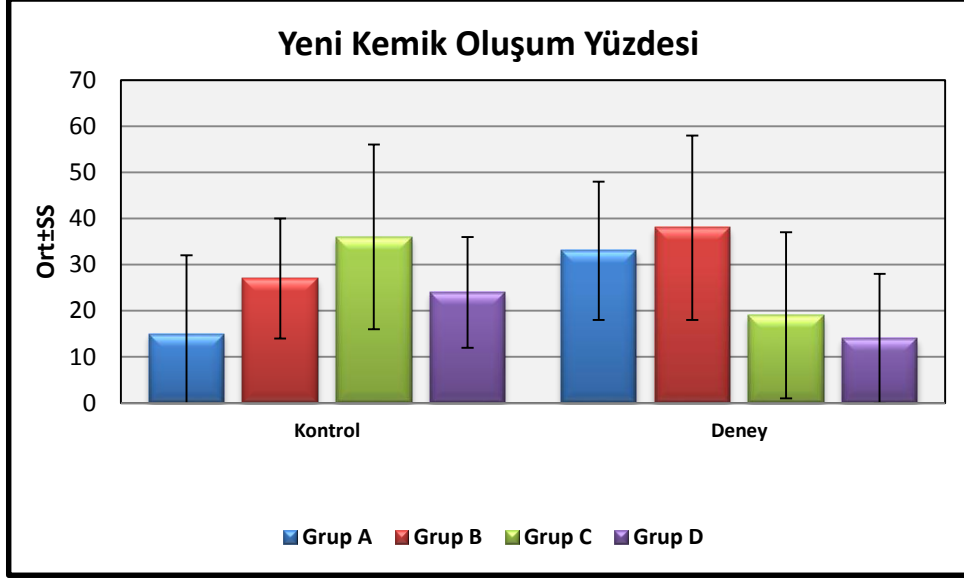
*p<0.05

Tablo 4.4. Yeni kemik yüzdesinin Post hoc değerlendirilmesi

Yeni Kemik Alanı Oranı	Kontrol	Deney
	p	p
A/B	0,116	0,728
A/C	0,061	0,074
A/D	0,224	0,028
B/C	0,361	0,082
B/D	0,886	0,025
C/D	0,223	0,728

Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U Test

*p≤0.008



Şekil 4.26. Histomorfometrik inceleme sonuçlarına göre yeni oluşan kemik alanlarının yüzde cinsinden dağılımları (%)

5. TARTIŞMA

Kemikler, zaman içerisinde eski formlarını kaybedebilir veya çeşitli yaralanmalara maruz kalabilirler. Bunun sonucunda kemik dokusunda defektler oluşabilir. Kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu gerek ortopedide gerekse maksillofasyal cerrahide çözüm bekleyen ve üzerinde yoğun çalışılmış bir konu olduğu görülmektedir. Günümüzde bu defektlerin tedavilerinde greft materyalleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Maksillofasiyal cerrahide kullanılan otogreftler, ksenogreftler allogreftler ve sentetik greftler farklı özelliklere sahiptirler. Bu greft materyalleri osteogenezis, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon gibi özelliklerin en az birine veya birkaçına sahip olabilirler (74).

Kemik defektlerinin tamirinde ilk seçenek olan otogreftler altın standart olarak kabul edilen kemik transplantasyonudur. Bunun nedeni, bu greftin osteojenik hücreler bulundurması ve immünolojik reaksiyona neden olmamasıdır (75-77). Otojen kemik yapısı itibari ile transplante kansellöz kemik hücrelerinden direkt olarak kemik şekillendiren bir greft konumundadır. Bunun yanında greftin birleşmesi esnasında yapısında bulunan bone morfogenetik proteinler (BMP) aracılığı ile kemiklerin gelişimine neden olmaktadır (78).

Von Arx ve Buser, 42 hastada semfiz veya ramus bölgesinden aldıkları otojen kemik greftinden yararlanarak implant yerleştirilecek kretin genişliğini arttırmayı hedeflemişlerdir. Alınan greftler fiksasyon vidaları ile alıcı sahaya fikse edilmiştir. Ortalama iyileşme süresi 5.8 ay olarak tespit edilmiş ve 58 alıcı sahada yapılan ölçümler sonucunda başlangıçta ortalama kret genişliği 3,06 mm ve operasyon sonrası 7,66 mm olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda ağız içi kaynaklı otojen greft uygulamasının kret genişliği elde etmede başarılı bir yöntem olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (79).

Raghoobar ve ark. 99 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada ise; maksiller sinüs yükseltilmesini iliak kemik, semfiz bölgesi ve tuber maksilladan alınan otojen kemik greftlerden yararlanarak yapmışlardır. Operasyonlar sonucunda sadece 1 hastada kemik kaybı ile sökestr oluşumu ve 3 hastada medikal tedavi ile iyileşebilen geçici sinüzit görülmüştür. Yapılan operasyonlar sonucunda tüm hastalarda implant yerleştirmek için yeterli kemik hacmi elde edilmiş ve implantlar yerleştirilip protetik rehabilitasyon sağlanmıştır. Bu çalışma sonucunda, sinüs yükseltilmesi işleminde otojen kemik

greftinden yararlanılmasının uzun dönemde iyi ve güvenilir bir tedavi seçeneği olduğu sonucuna varılmıştır (80).

Becker ve ark. otojen kemik greftleri ile demineralize kuru dondurulmuş kemik allogreftlerini (DFDBA) karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda, otojen greft konulan bölgelerde üç ay sonra yeni kemik oluşumu görülürken, demineralize kuru dondurulmuş kemik allogreftleri kullanılan bölgelerin yedisinin altısında yeni kemik oluşumu görülmediği ve DFDBA'nın kemik iyileşmesini sekteye uğratabileceği belirtilmiştir (81). Mevcut çalışmamızda defekt elde etmek için çıkardığımız kemik kapağını kemik öğütücüsünde öğütüp tekrar defekt bölgesine yerleştirerek otogreft uyguladık. Otogreft ile birlikte denosumab uygulanan grupta kemik iyileşmesi fazla gözlemlendi.

Tüm bu olumlu özelliklere rağmen otojen kemik greft materyallerinin olumsuz bazı etkileri de bulunmaktadır. Materyal miktarının yeterli olmaması, ikinci bir operasyon sahası olması, postoperatif iyileşme süresinin uzun olması gibi örnekler karşımıza çıkmaktadır (82). Bu dezavantajları nedeniyle kemik defektlerinin rejeneratif tedavisinde otojen greftlere alternatif olarak allogreftler, ksenogreftler, alloplastik materyaller önem kazanmıştır. Bu materyaller ile kemik rejenerasyonunu kolaylaştırmak ve kemik dokusuna en yakın materyali kullanmak amaçlanmaktadır (83, 84).

Geniş olmayan defektlerin onarımı için küçük grenli materyaller tercih edilmektedir. Bunun yanında, geniş defektlerin onarımı içinse daha iri materyallere başvurulduğu görülmektedir. Taze ve dondurulmuş kurutulmuş allogreftler oldukça antijenik özellik gösterirken, dondurulmuş kurutulmuş ve demineralize edilmiş allogreftler minimal ölçüde antijeniktir veya antijenik değildir (85, 86).

Clokie ve ark. farelerin femur kemiklerinde açtıkları defektlerde demineralize bone matrix (DBM) ile BMP'i beraber kullanmışlar ve 28 gün sonra hayvanları kurban ederek defektleri histokimyasal olarak incelemişlerdir. 28 günün sonunda hem intramembranöz hem de endokondral kemik oluşumunu gözlemledikleri çalışmada; kemik oluşumundaki bu farklılıkların greftin stabilitesine ve lokal damarlara olan yakınlığına bağlı olarak değiştiğini savunmuşlardır. Kan damarlarına yakın oksijenden zengin olan bölgelerde intramembranöz kemikleşme ve kan damarlarından uzak bölgelerde ise endokondral kemikleşme gözlemlenmiştir. Ayrıca greft için stabil bir ortam yaratılmadığında mezenşimal hücrelerin osteoblastlar yerine fibroblastlara veya kondroblastlara dönüşebileceğini vurgulamışlardır (87).

Ksenogreftler oral cerrahide yaygın olarak kullanılmakta olup diğer kemik greftlerine iyi bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Bu kemik greftleri ile ilgili olarak yapılmış birçok insan ve hayvan çalışması mevcuttur (88-94). Sığır kaynaklı ksenogreftler insan kemiğine morfolojik olarak benzediğinden tercih edilmektedirler. Sığır kaynaklı deproteinize kemik greftleriyle ilgili olarak yapılan çalışmalarda bu greftin biyo uyumluluğunun iyi olduğu tespit edilmiştir. Tavşan kalvaryum defeklerinde doğal kemik yapısına benzer yapısı nedeniyle kemik iyileşmesinde iyi bir iskelet görevi gördüğü belirtilmiştir (95, 96). Yapılan hayvan çalışmalarında histolojik olarak yeni oluşmuş kemik, osteoid doku ve bir miktar kan damarları içeren yeni kemik iliği tespit edilmiştir (97, 98). Organik madde içermemelerine rağmen osteoblastik aktiviteyi artırdıkları düşünülmektedir. Tüm bu özelliklerinden dolayı sığır kaynaklı deproteinize greftler çene ve yüz cerrahisinde sinüs tabanı yükseltme, alveol kret yükseltme işlemlerinde, dişler ve implantların çevresindeki defektlerin tedavisinde, alt ve üst çene defektlerinin tamirinde, diş çekim boşluklarının doldurulmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (99).

Ksenogreftler içinde sığır kaynaklı olan OsteoBiol®Gen-Os oral cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır. OsteoBiol®Gen-Os sinüs yükseltme operasyonlarında tek başına veya otojen kemik greftleriyle karıştırılarak kullanılabilir (89,90).

Oltramari ve ark. domuzlarla yaptıkları çalışmalarında, ksenogreftle doldurulmuş çekim soketlerinde, radyografik olarak kemik yoğunluğu ve kemik yüksekliğini incelemişlerdir. Deney grubundaki soketler ksenogreftlerle doldurulurken kontrol grubundaki soketler spontan iyileşmeye bırakılmıştır. 3 ay sonra ilgili bölgelerden radyografiler alınarak değerlendirme yapılmıştır. 3 ay sonunda; deney grubunda, belirgin şekilde daha az yükseklik kaybı görüldüğü ve kemik yoğunluğunun daha fazla olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak yazarlar, çekim soketlerinde ksenogreft kullanımının başlangıçta kemik yüksekliğini koruduğunu; ama kemik yoğunluğu farkının sürekli olmadığını bildirmişlerdir (100). Ksenogreftlerin kullanımını kısıtlayan bazı faktörler vardır. Ksenogreftler elde edilirken geçirildikleri bazı aşamalardan dolayı osteoinduktif etkilerini kaybetmektedirler. Ayrıca elde edilmelerinde bazı etik problemler mevcuttur. Bu sebeplerden dolayı farklı kemik grefti kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Günümüzde kullanılan alloplastik greftler elde edilmelerinde bir kısıtlama olmayıp istenilen miktarda üretilebilirler. Bu yüzden allogreft ve ksenogreftlere iyi bir alternatiftirler. Alloplastik kemik greftlerinin üretiminde seramikler, deniz

mercanlarından elde edilen hidroksiapatitler ve bioaktif camlar gibi kaynaklar kullanılabilir. Hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfattan oluşan sentetik greftler kraniomaksillofasiyal, ortopedik, ve oral cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu greft materyalleri biyouyumlu olup yeni kemik oluşturmada etkin bir iskelet görevi görmektedirler (101,102). Çalışmamızda kullandığımız BCP greft materyali tamamen sentetik malzemelerden üretilmiştir. Bu greft materyali %60 hidroksiapatit ve %40 beta trikalsiyum fosfatın 1100–1500°C’de sinterlenmesiyle oluşmuş bifazik kalsiyum fosfattan oluşmaktadır. Greft partikülleri 100-500 mikron çapında olup %90 pöroz yapıdadır. Tamamen sentetik olduğu için enfeksiyon riski taşımaz ve biyouyumludur. Osteokondüktif etkiye sahip olup, uygulandığı yerde resorbe olarak yeni kemik oluşumunu destekler (102).

BCP’ların en büyük özellikleri, konak kemik dokusuyla güçlü bir bağlanma yapması ve fibröz bir aralık oluşturmalarıdır. Dinamik bir özelliği olan bu bağlanmanın oluşumu bir seri olayın gerçekleşmesiyle meydana gelmektedir. Yani hücrelerle etkileşim ve erime/çökme işlemleri sonucu kemik mineral maddesine çok benzeyen karbonat-hidroksiapatit oluşmaktadır (17,27).

Mardas ve ark. yaptıkları klinik çalışmada çekim soketlerini bifazik kalsiyum fosfat veya sığır kaynaklı ksenogreft ile doldurmuşlar, 4. ve 8. ay olarak 2 zamanlı sonuçları inceledikleri çalışmada her 2 zamanda da radyografik olarak kemikleşmeye baktıklarında benzer sonuçlar tespit etmişlerdir (103).

Nemcovsky ve Serfaty 23 çekim soketinde hidroksiapatit kristalleri kullanmış, flep çevirerek soketi primer kapatmışlar ve 24 ay izlemişlerdir. Sonuçta minimal kret deformasyonu ile birlikte kret korunmasının iyi olduğunu belirtmişlerdir (104).

Maksillofasiyal cerrahide yapılan çalışmalarda çeşitli hayvan türleri kullanılmaktadır. Literatüre baktığımızda denosumab ile yapılan hayvan çalışmalarında daha çok rat, fare, tavşan ve maymun türlerine rastlanmıştır (105-108). Bizim de çalışmamız da literatüre uygun olarak tavşan modeli tercih edilmiştir

Çalışmalarda kritik boyuttaki defektlerin kullanılması önerilmektedir. Kritik boyutta kemik defekti ise organizmanın hayatı boyunca ya da yapılan çalışma süresi içinde kendiliğinden tam olarak kemiksel iyileşme ile kapanması mümkün olmayan defekt olarak tanımlanmaktadır. Kritik boyutta defektin boyutları kullanılan hayvan modeline göre değişmektedir. Fakat tavşan kalvaryal defekt boyutlarıyla ilgili tartışma mevcuttur. Bu konuda farklı boyutta defektler kullanılarak oluşturulan birçok Tavşan kalvaryum defekt modeli çalışmaları mevcuttur (109). Literatürde tavşanlarda 15 mm

çapında kalvaryal defekt önerilmesine rağmen 10mm, 9mm, 8mm, 6,5mm ve 5mm çapında kalvaryal defektler ile yapılan çalışmalar mevcuttur (110-112). Yapılan çalışmalarda tavşan kalvaryumlarına açılan 5mm çapındaki defektlerin 8 haftalık sürede kendiliğinden iyileşemediği rapor edilmiştir (112). Sonuç olarak 5mm ve daha büyük çaptaki tavşan kalvaryal defektlerinin 8 haftalık çalışmalar için uygun olduğu görülmektedir. Bundan dolayı 6mm çapındaki kalvaryal defektlerin çalışmamız için uygun görüldü. Ayrıca çalışmamızda kalvaryumuna 4 adet defekt açıldığından daha büyük çaptaki defektler için yeterli alanın mevcut olmadığı görüldü.

Deney grubunda uygulanan greft işlemlerine göre elde edilen yeni kemik alanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak farklılıklar gözlemlenmiştir. Bu farklılıkların hangi greftlerden kaynaklandığının tespiti için Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U test uygulanmıştır. Deney grubunda otogreft uygulamasında elde edilen yeni kemik alanı ortalaması, ksenogreft ve bifazik kalsiyumfosfat greft uygulandığında elde edilen yeni kemik alanı ortalamalarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak yapılan ikili karşılaştırmalar denosumab uygulandığında otogreftin diğer greftlere göre kemik iyileşmesinde çok daha başarılı olduğunu göstermiştir.

Jambhekar ve ark. yayınlamış oldukları sistematik review çalışmasında flepsiz diş çekimi sonrası 1354 socket greftleme çalışmalarını incelemişler. Çalışmalarda kullanılan farklı greft materyallerinin sonuçlarını karşılaştırmışlar. 12 haftalık periyod üzerinden inceleme yapmışlar. 12 hafta sonunda rezorbe olmadan kalan greft materyali miktarını allogreft (21.75%) ksenogreft (19.3%) and alloplast (13.67%) olarak bulmuşlardır. 12 hafta sonunda allogreft, ksenogreft ve alloplastların tamamen rezorbe olmadığını rapor etmişlerdir (113).

Nevins ve ark. 6 hasta üzerinde yapmış oldukları çalışmada implant cerrahisi öncesi alveolar kemiği BCP greft materyali ile rekonstrükte etmişler. 3 ay sonunda alınan biyopsi materyalinde rezorbe olmamış BCP greft partiküllerine rastladıklarını rapor etmişlerdir (114).

Mahesh ve ark. 20 hasta üzerinde yapmış olduğu çalışmada çekim soketlerine sentetik olan kalsiyum fosfosilat grefti yerleştirip başarısını değerlendirmişler. 4.9 ay sonunda greftin tamamen rezorbe olmadığını kalan greft partikül miktarının % 4.3 oranında olduğunu rapor etmişlerdir (115).

Artzi ve ark. yapmış oldukları çalışmada köpek mandibulasında defekt oluşturup defektlere ksenograft ve BCP grefti uygulayıp greftlerdeki kemik iyileşmesini farklı zamanlarda gözlemlemişlerdir. Ksenogreftin 6 ay sonunda tamamen rezorbe olmadığını

bildirmişler. BCP greftini ise 24 ayda tamamen rezorbe olduğunu rapor etmişlerdir (116). Mevcut çalışmamızda kontrol ve deney gruplarının ksenogreft ve BCP grefti uygulandığındaki yeni kemik oluşum yüzdesi ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamasını ise çalışma süremizin bu greftlerin rezorpsiyonu için yeterli olmaması ve uyguladığımız ilacın osteoklastik aktiviteyi azaltması nedeniyle rezorpsiyonun engellenmesine bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Kemik iyileşmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda kullanılan yöntemlerden biri de histolojik ve histomorfometrik analizdir. Histomorfometrik inceleme kemik hücrelerini ve aktivitelerinin in situ olarak değerlendirebilen tek metod olduğu için, kemik dokusunun değerlendirilmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Min ve ark. tavşan kafatasında elde ettikleri yeni kemik dokuyu histolojik ve histomorfometrik inceleme ile değerlendirmişlerdir (117). Mevcut çalışmamızda kranial kemik defektlerinin iyileşmesinin değerlendirilmesinde literatüre uygun olarak histolojik ve histomorfometrik değerlendirme yapılmıştır.

Denosumab insan ve hayvan çalışmalarında kullanılarak kemik kütlelerini, mikromimarisini ve dayanıklılığını artırdığı kanıtlanmış, osteoporoz tedavisinde kullanılan antirezorptif potansiyele sahip yeni bir ajandır. RANKL'a karşı olarak geliştirilmiş olan ilaç, insan monoklonal antikorudur. Bunların yanı sıra; osteoklastların farklılaşmasını ve fonksiyonunu engelleme görevini de üstlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda denosumab uygulamasının kemik şekillenmesinde antirezorptif etkisi olduğu rapor edilmiştir (70). Denosumab RANKL'a bağlanarak bir tuzak reseptör gibi fonksiyon görür ve RANK'a bağlanmasını engeller. RANKL/RANK bağlantısı engellenince, preosteoklastların olgun osteoklastlara farklılaşması, aktive olması ve canlılıklarını sürdürmeleri inhibe edilmiş olur ve RANKL kemik rezorpsiyonu oluşturamaz. Böylece kortikal ve trabeküler kemikte rezorpsiyonu azaltmış olur.

Denosumab ilacı antirezorptif özelliğini kemik yıkımına yol açan osteoklastların yaşamını ve yapımını bloke ederek gösterir. Ayrıca kemik turnoverını azaltıp ve kemik mineral yoğunluğunda artış sağlamaktadır (58).

Denosumabın kemikler üzerindeki olumlu etkilerinin olduğunu gösteren osteoporotik veya osteoporotik olmayan çok sayıda hayvan çalışması rapor edilmiştir. Fakat literatüre baktığımızda denosumab ilacının etkisinin defektlerle ve greftlerle birlikte değerlendirildiği çalışmalara rastlanmamıştır.

Ominsky ve ark. ovariectomized maymunlar üzerinde denosumabın etkisini araştırmışlar. Denosumabın kemiğin yeniden şekillenmesindeki biyolojik markerları azalttığını ve kortikal ve trabeküler kemik kütlesini artırdığını bildirmişlerdir. Denosumabın kemik kalitesini koruyarak ve kemik kütlesini artırarak kemik dayanıklılığını artırdığını rapor etmişlerdir (106).

Kostenuik ve ark. yapmış olduğu çalışma sonucunda denosumab ile tedavi edilen maymunlarda hem trabeküler hem de kortikal kemik kütlesinde artış tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Aynı zamanda trabeküler kemikteki porozite ve aşınma miktarını azalttığını rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmamızda da kontrol ve deney gruplarının boş defektleri karşılaştırıldığında denosumab ilacının yeni kemik alanı oluşumunu anlamlı bir şekilde artırdığı görülmüştür (118).

Nguyen ve ark fareler üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda denosumab'ın kemik rezorpsiyonunu azalttığını, kortikal ve kansellöz kemik kütlesinde artış meydana getirdiğini ve bununla beraber mikro düzeyde trabeküler yapıyı artırdığını rapor etmişlerdir. Ayrıca trabeküler kemik yüzeyindeki osteoklast aktivitesini % 95'e kadar azalttığı rapor edilmiştir. Mevcut çalışmamızda otograft konulan defektlerde oluşan yeni kemik alanı deney grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Ayrıca histomorfometrik incelemeler daha fazla yeni kemik oluşumu olduğu görülmüştür (119).

Denosumab uygulamasının kırık bölgesinde kemik rejenerasyonunu desteklediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Gerstenfeld ve ark. yapmış olduğu çalışmada fare modelinde alendronat ve denosumab'ın kırık iyileşmesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Femur bölgesinde kırık hattı oluşturup gruplar halinde denosumab (10 mg/kg) ve alendronat (0.1 mg/kg) enjeksiyonu yapılmış. Çalışmada denosumab ile tedavi edilen grup ile kontrol ve alendronat grubu karşılaştırıldığında denosumab uygulanan grubun kırık hattında kemik hacminin daha fazla olduğunu ve kemik yapılarının daha sert ve dayanıklı olduğunu saptamışlardır (120).

Helas ve ark. denosumabın kemik kaybını önlemesi üzerindeki etkisini fareler üzerinde araştırdıkları çalışmada denosumabın vasküler kalsiyum birikmesini azalttığını bildirmişler ve denosumabın kemik kaybını önlemedeki etkisini bu sonuçla ilgili olabileceğini rapor etmişlerdir (107).

Bernhardsson ve ark. ratlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada denosumabın vida fiksasyonunu üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada ratların tibialarına vidalar yerleştirip subkütan olarak alendronate ve denosumab uygulamışlardır. Sonuçları pull

out testi ve micro CT yardımıyla değerlendirerek denosumabın vida fiksasyonunda sıyrılma kuvvetini alendronattan daha fazla artırdığını bildirmişlerdir. Denosumab ilacının kemik yoğunluğunu alendronattan daha fazla artırdığını ayrıca denosumabın kansellöz kemikteki vida fiksasyonunu bifosfonattan daha fazla artırdığını rapor etmişlerdir (121).

Paul J Kostenuik ve ark. denosumab ve alendronatın maymunlar üzerindeki etkisini karşılaştırdıkları çalışmada denosumabın alendronata göre kemik rezorpsiyonunu ve kortikal poroziteyi daha fazla azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca denosumabın kalsiyum hemostazı veya kemik kalitesine zararlı etkisi olmaksızın kemik mineral yoğunluğunu ve kemik dayanıklılığını alendronata göre daha fazla artırdığını rapor etmişlerdir (108).

Molon ve ark. çenede osteonekroz olan fareler üzerinde çalışma yapmışlardır. İlaça bağlı osteonekrozlarda denosumab ve zoledronik asit'in etkisini araştırdıkları çalışmada bu ilaçların kesilmesiyle osteonekrozun etkilerinin tersine dönüp dönmeyeceğini araştırmışlardır. Osteonekrozda zoledronik asit ilacının kesilmesinin iyileşme üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını fakat denosumab ilacının kesilmesinin osteonekrozun semptomlarını azaltabileceğini rapor etmişlerdir (122).

RANKL inhibisyonunun osteoporoz, kemik metastazı, inflamatuvar eklem hastalıkları ve maligniteye bağlı hiperkalsemi de kemik koruyucu olduğu görülmüştür. Bu konuda denosumab tedavisinin olumlu sonuçlarını gösteren çalışmalar mevcuttur. Denosumabın'ın osteoporozlu kadınlarda vertebra kırığı, vertebra dışı kırıklar ve kalça kırığı üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada; yüksek risk grubundaki hastalarda kalça kırığı riskini azalttığı, vücut kemik mineral yoğunluğu (KMY) değerini anlamlı düzeyde artırdığı rapor edilmiştir (61). Ayrıca klinik çalışmalar denosumab ilacının multipl myelom, göğüs kanseri, postmenopozal osteoporoz hastalarında kemik rezorpsiyonunu azalttığını göstermiştir (123-125).

Bone ve ark. tarafından yapılan çalışmada, denosumabın 10 yıla kadar uzun dönem etkinlik ve güvenliğini değerlendirmek üzere 4550 kadın çalışmaya alınmıştır. Üç yıl denosumab alan grub üç yıl daha almış, üç yıl plasebo alan grup çapraz geçiş ile üç yıl denosumab almıştır. Altı yıl denosumab alan grupta lomber omurga KMY'de %15.2, total kalça KMY'de %7.5 artış, plasebodan geçen üç yıl denosumab alan grupta lomber omurga KMY'de %9.4, total kalça KMY'de %4.8 artış bulunmuştur. Altı olguda çene osteonekrozu, bir olguda atipik femur kırığı görülmüş (56).

Klinik çalışmalara bakıldığında doz aşımıyla ilgili bir deneyimin olmadığı görülmektedir. Aynı zamanda klinik çalışmalarda 4 haftada bir 180 mg'a kadar dozlarda kümülatif doz 6 ayda 1080 mg'a kadar ulaşıp denosumab uygulanmış ve herhangi bir yan etki görülmemiştir. Klinik çalışmalarda denosumab için nötralize edici antikorlar gözlemlenmemiştir. Hassas bir immünolojik miktar tayini kullanılarak yapılan testlerde 5 yıla kadar sürelerle denosumab tedavisi verilen hastaların %1'inden azı nötralize edici olmayan bağlayıcı antikorlar bakımından pozitif bulunmuş, bunlarda farmakokinetik, toksisite ya da klinik yanıt bakımından bir farklılık kanıtına rastlanmamıştır (70).

Denosumab ile yapılan faz 3, çift kör, plasebo kontrollü 30 ülkeden 319 merkezin katıldığı bir çalışmada hormon dirençli metastatik olmayan fakat kemik metastazı için yüksek risk taşıyan grup değerlendirilmiştir. 716 hastaya 4 haftada bir 120 mg subkutanöz denosumab, diğer 716 hastaya ise subkutanöz plasebo verilmiştir. Denosumab'ın ilk kemik metastazı oluşumunu 33.2 ay ertelediği saptanmıştır. Toplam yaşam beklentisi üzerine plasebo ile aynı oranda etki gösterdiği izlenmiştir (denosumab için 43.9 ay, plasebo için 44.8 ay). Çene osteonekrozis oluşumu denosumab alan hastalarda %5 iken plaseboda gözlenmemiş, aynı şekilde hipokalsemi gelişimi denosumab alan hastalarda %2 saptanırken, plaseboda <%1 olarak gözlenmiştir. Bu değerler denosumabın kemik metastazı oluşumunu plaseboya göre geciktirdiğini göstermiştir (126).

Denosumab ve zoledronik asit ile yapılan faz 3, çift kör, çift plasebo kontrollü çalışmada 1779 hasta değerlendirilmiştir 889 hastaya 120 mg subkutanöz denosumab ve 890 hastaya 4 mg intravenöz zoledronik asit aylık injeksiyonlar şeklinde uygulanmıştır. KİO gelişimini nleme bakımından denosumab zoledronik asite göre daha düşük etkinlik göstermemiştir. Toplam yaşam süresine olan etkileri ve hastalık progresyonunu önlemedeki etkinlikleri özdeş bulunmuştur. Denosumab kullanımının subkutanöz olması, renal monitörizasyon gerektirmemesi ve doz ayarlaması gerektirmemesi açısından zoledronik asitten daha üstün olduğu sonucu çıkarılmıştır (124).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızın sonucunda elde edilen bulgular değerlendirildiğinde şu sonuçlara varılmıştır:

1. Tavşan kalvaryumlarına açılan 6mm çapındaki defektlerin 8 hafta süresinde kendiliğinden iyileşmediği görülmüştür. Çalışmalarda 8 haftalık kemik iyileşmesini incelemek için tavşan kalvaryumunda 6mm çapındaki defektler kullanılabilir.
2. Defekt içine yerleştirilen greft materyallerinin (otogreft, ksenogreft, BCP) yeni kemik oluşumunu artırdığı gözlemlendi.
3. Kemik defektlerinin onarımında antirezorptif özelliği bulunan denosumab uygulamasının tek başına kullanıldığında yeni kemik oluşumunu artırdığı görüldü.
4. Otogreft ve denosumab kombine kullanıldığında yeni kemik oluşumunda daha üstün sonuçlar verdiği görüldü.
5. Ksenogreft ve BCP grefti ile denosumabın birlikte kullanımında yeni kemik oluşumunda istenilen düzeyde artış meydana getirmediği görülmüştür.

Bu sonuçlar ışığında kemik hacmini artırmaya yönelik operasyonlarda denosumab uygulamasının ileriye yönelik klinik olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Bu konuda uzun dönem sonuçların araştırıldığı çalışmalar yapılarak denosumab ilacının lokal salımlı preparatları hazırlanabilir. Bu sayede gerek sistemik yan etkilerden kaçınılır, gerekse de istenen etki en üst düzeyde olabilir. Öte yandan bu tedavinin klinik uygulamalar öncesinde daha geniş deney grupları içeren hayvan ve klinik çalışmalar ile doz ve süre açısından değerlendirilmesi gerekli görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Pandit N, Pandit IK, Malik R, Bali D, Jindal S. Autogenous bone block in the treatment of teeth with hopeless prognosis. *Contemp Clin Dent* 2012, 3(4): 437-42.
2. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury* 2005, 36: 20-7.
3. Stavropoulos A. and Karring T. Guided tissue regeneration combined with a deproteinized bovine bone mineral (Bio-Oss) in the treatment of intrabony periodontal defects: 6-year results from a randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2010, 37(2): 200-10.
4. Erbe EM, Marx JG, Clineff TD, Bellincampi LD. Potential of an ultraporous beta-tricalcium phosphate synthetic cancellous bone void filler and bone marrow aspirate composite graft. *Eur Spine J* 2001, 2: 141-6.
5. Junquera LC, Carnerio J, Kelley RO. *Basic Histology*, Sixth Edition. Bloomington, Appleton & Lange Company, 1989: 136-153.
6. <http://www.iskelet.gen.tr/kemik-yapisi.html>, 09.09.2014.
7. Ross M, Pawlina W. *Histology a Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology*, Sixth Edition. Philadelphia, Macmillan Company, 2011: 218-244.
8. Eşrefoğlu M. *Genel ve Özel Histoloji*, 1. Baskı. Malatya, Pelikan Yayıncılık, 2004: 101-114.
9. Bloom Fawcett. *A Textbook of Histology*, 11th. Edition. Philadelphia, Saunders Comp, 1986: 125-144.
10. Irie K, Alpaslan C, Takahashi K, Kondo Y, Izumi N, Sakakura Y, Tsuruga E, Nakajima ES, Ozawa H, Yajima T. Osteoclast differentiation in ectopic bone formation induced by recombinant human bone morphogenetic protein 2 (rhBMP-2). *J Bone Miner Metab* 2003, 21(6): 363- 9.
11. Tekelioğlu M. *Genel Tıp Histolojisi*, 3. Baskı. İstanbul, Beta Basın Yayın Dağıtım, 1989: 252-265.
12. Fleming JE, Cornell CN, Muschler GF. Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthop Clin North Am* 2000, 31(3): 357-74.

13. Özturan Kutay Engin. Kemik Yaralanması ve Onarımı, <http://totek.totbid.org.tr/files/TBAOMalatya/010.pdf>, 18.12.2014.
14. Leeson T, Leeson R, Raparo A. *Text and Atlas of Histology*, 5th. Edition. Philadelphia, W.B. Saunders Company. 1988:150-72.
15. Aaboe M, Pinholt ME, Hjorting-Hansen E. Healing of experimentally created defects. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1995, 33: 312.
16. Bernard GW. Healing and repair of osseous defects. *Dent Clin North Am* 1991, 35(3): 469.
17. Lundgren A, Lundgren D, Taylor A. Influence of barrier occlusiveness on guided bone augmentation. An experimental study in the rat. *Clin Oral Implants Res* 1998, 9(4): 251-60.
18. Ezirganlı Ş, Polat S, Barış E, Tatar İ, Çelik HH. Comparative investigation of the effects of different materials used with a titanium barrier on new bone formation. *Clin Oral Implants Res* 2013, 24(3): 312-9.
19. Ross MH. *Histology. A Text and Atlas*, 6th. Edition. Chicago, Harper and Row Publ. C.B. Lippincott Co. 1983: 352-81.
20. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res* 1986, 205: 299-308.
21. Frame JW, A convenient animal model for testing bone substitute materials. *J. Oral Surg* 1980, 38: 176.
22. Rowe NL, Nonunion of the mandible and maxilla. *J.Oral Surg* 1969, 27: 520.
23. Takagi K, Urist MR, The reaction of the dura the bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. *Ann. Surg* 1982, 196: 100.
24. Srouji S, Rachmiel A, Blumenfeld I, Livne E. Mandibular defect repair by TGF-beta and IGF-1 released from a biodegradable osteoconductive hydrogel. *J Craniomaxillofac Surg* 2005, 33: 79-84.
25. Santana RB, Trackman PC. Controlled release of fibroblast growth factor 2 stimulates bone healing in an animal model of diabetes mellitus. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006, 21: 711-8.
26. Gomez G, Korkiakoski S, Gonzalez MM, Lansman S, Ella V, Salo T, Kellomaki M, Ashammakhi N, Arnaud E. Effect of FGF and polylactide scaffolds on calvarial bonehealing with growth factor on biodegradable polymer scaffolds. *J Craniofac Surg* 2006, 17: 935-42.

27. Schallhorn RG. Osseous in the treatment of periodontal osseous defect in Stahl. *Periodontal Surgery* 1976, 16:134-42
28. Bozkaya S, Karaca İ, Oygür T, Barış E. Deproteinize Kemik Grefti (BİO- OSS) nin Kemik İyileşmesi Üzerine etkisinin Deneysel Olarak İncelenmesi. *ADO Klinik Bilimler Derg* 2008, 2 (2): 87-97.
29. Kruger GO. *Text Book of Oral and Maksillo-facial Surgery*, 6th. Edition. Harvard, The CV Mosby Company, 1984: 378-89.
30. Efeoğlu A. Periodontal Kemik Cerrahisi, www.istanbul.edu.tr/dishekimligi/dersnotlari/Periodontal_Kemik_Cerrahisi.09.09.2009.
31. Hammerle CH., Schmid J, Lang NP, Olah AJ. Temporal dynamics of healing in rabbit cranial defects using guided bone regeneration. *J Oral Maxillofac Surg* 1995, 53(2): 167-74.
32. Tuscan C, Yaltırık M. *Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Materyaller*, 1. Baskı. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2002: 6.
33. Akay C. Çeneler Bölgesinde Meydana Gelen Kemik Defektlerinin Solvent Dehidrate Allojen Spongios Kemik Greftleri İle Tedavisi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora tezi, İzmir, Ege Üniversitesi, 1998.
34. Daddona A, Ghassemian M, Raffaelli L, Manicone PF. Soft and Hard Tissue Management in Implant Therapy Part 1: Surgical Concept. *International Journal of Biomaterials* 2012, 2012: 8
35. Büyükakyüz N, Öztürk M. Oral İmplantolojide Estetik Problemlerin Sert ve Yumuşak Doku ile Çözülmesi. *İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2012, 1: 32-41
36. Baylas H. Mukogingival Sorunlar ve Cerrahisi, *Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ders Notları*, 2011.
37. Muschik M, Ludwig R, Halbhubner S, Bursche K, Stoll T. Beta-tricalcium phosphate as a bone substitute for dorsal spinal fusion in adolescent idiopathic scoliosis: preliminary results of a prospective clinical study. *Eur Spine J* 2001, 10: 178-84.
38. Schwartz-Arad D, Levin L, Sigal L, Surgical success of intraoral autogenous block onlay bone grafting for alveolar ridge augmentation. *Implant Dent* 2005, 14(2): 131-8.

39. Gellrich NC, Held U, Schoen R, Pailing T, Schramm A, Bormann KH, Alveolar zygomatic buttress: A new donor site for limited preimplant augmentation procedures. *J Oral Maxillofac Surg* 2007, 65(2): 275-80.
40. Klinge B, Alberious B. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxylapatite ceramics in the repair of experimental skull bone defects. *J Oral Maxillofac Surg* 1992, 50: 241–49.
41. Isaksson S. Aspects of bone healing and bone substitute incorporation. An experimental study in rabbit skull bone defects. *Swed Dent J Suppl* 1992, 84:1–46
42. Jensen T, Schou S, Stavropoulos A, Terheyden H, Holmstrup P. Maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss or Bio-Oss mixed with autogenous bone as graft: a systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2012, 23: 263–73.
43. Ashammakhi N, Ferretti P. *Topics in tissue engineering*. (Electronic book), 2003 Volume I, 7: 1-46.
44. Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM, Hjorting-Hansen E, Melsen F, Ruyter IE. Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997, 11(1): 55-66.
45. Basle MF, Grizon F, Pascaretti C, Lesourd M, Chappard D. Shape and orientation of osteoblast-like cells (Saos-2) are influenced by collagen fibers in xenogenic bone biomaterial. *J Biomed Mater Res* 1998, 40: 350-7.
46. Merckx, MAW, Maltha JC, Stoelinga PJW. Assessment of the value of anorganic bone additives in sinus floor augmentation: a review of clinical reports. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003, 32: 1-6.
47. Hallman M, Lundgren S, Sennerby L. 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): 87-96.
48. Albee FH. Studies in bone growth. Triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis. *Ann Surg* 1920, 71: 32-6.
49. Ylinen P, Suuronen R, Taurio R, Tormala P, Rokanken P. Use of hydroxylapatite/polymer-composite in facial bone augmentation. An experimental study. *Int J Oral and Maxillofac Surg* 2002, 31: 405-9.
50. De Groot K. Ceramics of calcium phosphates: preparation and properties. in bioceramics of calcium phosphate. *CRC Press, Boca Raton* 1983, 100-14.

51. Jarcho, M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin Orthop* 1981, 157: 259-78.
52. Daculs G, LeGeros RZ, Deudon C. Scanning and transmission electron microscopy and electron probe analysis of the interface between implants and host bone. *Scan. Micr* 1990, 4: 309-14.
53. Hench LL, Splinter RJ, Ailen WC, Greelee TK. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials, *J Biomed Mater Res* 1971, 2: 117-41.
54. Develioğlu H. Günümüzde Bifazik Kalsiyumfosfat Seramikler, *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 2002, 5: 1-13.
55. Lippuner K. The future of osteoporosis treatment - a research update. *Swiss Med Wkly* 2012, 142: 136-44.
56. Bone HG, Chapurlat R, Brandi ML, Brown JP, Czerwinski E, Krieg MA. The effect of three or six years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the freedom extension. *J Clin Endocrinol Metab* 2013, 98: 4483-92.
57. Seeman E, Delmas PD, Hanley DA, Sellmeyer D, Cheung AM, Shane E. Microarchitectural deterioration of cortical and trabecular bone: differing effects of denosumab and alendronate. *J Bone Miner Res* 2010, 25: 1886-94.
58. Suresh E and Abrahamsen B. Denosumab: A novel antiresorptive drug for osteoporosis. *Cleveland Clinic Journal Of Medicine* 2015, 82: 2
59. Schwarz EM and Ritchlin CT. Clinical development of anti-RANKL therapy. *Arthritis Research & Therapy* 2007, 9:1-9.
60. Goldhahn J. Implications for Fracture Healing of Current and New Osteoporosis Treatments. *Calcif Tissue Int* 2012, 90: 343-53.
61. Lacey DL, Boyle JW. Bench to bedside: elucidation of the OPG-RANK-RANKL pathway and the development of denosumab. *Nature Reviews Drug Discovery* 2012, 11: 401-19.
62. Takagi K, Urist MR. The reaction of the dura the bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. *Ann. Surg* 1982, 196:100.
63. Sindel D. Günümüzde ve Gelecekte Osteoporoz Tedavisi. *Turk J Phys Med Rehab* 2013, 59: 330-7.
64. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009, 361: 756-65.

65. Rowe NL. Nonunion of the mandible and maxilla. *J.Oral Surg* 1969, 27: 520.
66. Çelik S, Mungan U. Metastatik prostat kanserinde kemik korumada güncelleme: Denosumab, Alfaradin. *Üroonkoloji Bülteni* 2012, 11(2): 13-22.
67. Cleeland CS. Pain and its treatment in outpatients with metastatic cancer. *N Engl J Med.* 1994, 330: 592-96.
68. Raj VS, Moos,VR. Clinical benefit in patients with metastatic bone disease: results of a phase 3 study of denosumab versus zoledronic acid. *Oxford Journal* 2012, 2: 11-9
69. Alp Ç. Osteoporozda Güncelleme, *Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Ankara, 2014.
70. Kurban S, Mehmetoğlu İ. Osteoprotegerin, Rank ve Rank Ligandı. *Turkish Journal of Biochemistry* 2007, 32 (4): 178–84.
71. Mundy GR. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* 2002, 2(8): 584-93.
72. Capanna R, Coia LR, Coleman R. *Textbook of Bone Metastases*, 5th. Edition. Philadelphia, John Wiley and Sons Company. 2005 :105.
73. Gül M, Bayat N, Gül S, Hüz M, Yıldız A, Otlu A. A Comparison of Three Different Agents of Decalcification for a Histological Examination of Bone Tissues. *J Turgut Ozal Med Cent* 2014, 21(4): 274-79
74. Kahnberg KE. *Bone grafting Techniques for Maxillary Implants*, 1th.edition. Oxford, Blackwell Publishing Company, 2005: 1-5.
75. Banwart JC, Asher MA, Hassanein RS. Iliac crest bone graft harvest donor site morbidity: a statistical evaluation, *J Spine* 1995, 20(9): 1055-60.
76. Hadjipovloulou AG, Simmons JW, Yang J, Nicodemus CL, Esch O, Simmons DJ. Plaster of Paris as an osteoconductive material for interbody vertebral fusion in mature sheep. *J Spine*, 2000, 25(1): 10-16.
77. Younger EM, Chapman MW. Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Trauma* 1989, 3(3): 192- 95
78. Misch C. *Contemporary implant dentistry, bone augmentation for implant placement: keys to bone grafting* 3th. Edition. Canada, Mosby Elsevier Company, 1999: 451-67.
79. Von Arx T, Buser D. Horizontal ridge augmentation using autogenous block grafts and the guided bone regeneration technique with collagen membranes: a clinical study with 42 patients. *Clin Oral Impl Res* 2006, 17: 359-66.

80. Raghoobar GM, Timmenga NM, Reintsema H, Stegenga B, Vissink A. Maxillary bone grafting for insertion of endosseous implants: results after 12-124 months. *Clin Oral Impl Res* 2001, 12: 279-86.
81. Becker W, Becker BE, Caffesse R. A comparison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. *J Periodontol* 1994, 65: 1128-33
82. Aybar B, Gümrü O. *Oral Cerrahide Kemik Defektlerinin Onarımı*. 1. baskı. İstanbul, İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası, 2000: 63; 3.
83. Block MS, Kent JN, Ardoin RC, Davenport W. Mandibular Augmentation in Dogs with Hydroxylapatite Combined with Demineralized Bone. *J. Oral Maxillofac. Surg* 1987, 45 : 414-20.
84. Chang CS, Matukas VJ, Lemons JE. Histologic Study of Hydroxylapatite as an Implant Material for Mandibular Augmentation. *J. Maxillofac. Surg* 1983, 41: 729-37.
85. Eick JD, Bear L, Cobb CM, Mosby EL, Hiatt WR. Mechanical Behavior of Mandibular Continuity Defects Reconstructed Using Combinations of Hydroxylapatite and Autogenous Bone. *J. Oral Maxillofac. Surg* 1990, 48 : 823-30.
86. Sadık B, Öncan T, Küçükalp A, Kara H. Total Kalça Protezi Revizyonu Olgularında Femoral Kemik Defektlerinin Yapısal Şaft Allograft İle Onarımı. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2009, 35 (1): 37-40.
87. Clokie M, Urist M, Bone Morphogenetic Protein Excipients: Comparative Observations on Poloxamer. *Plast Reconstr Surg* 2000, 105: 628-37.
88. Hürzeler MB, Quiñones CR, Kirsch A, Gloker C, Schüpbach P, Strub JR, Caffesse RG. Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and dental implants in monkeys. Part I. Evaluation of anorganic bovine-derived bone matrix. *Clin Oral Implants Res* 1997, 8(6): 476-86.
89. Yildirim M, Spiekermann H, Handt S, Edelhoff, D. Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: a histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001, 16(1): 23-33.
90. Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination

- with venous blood. A histologic and histomorphometric study in humans. *Clin Oral Implants Res* 2000, 11(3): 217-29.
91. Rokn AR, Khodadoostan MA, Ghahroudi AA, Motahhary P, Kharrazi MJ, Bruyn HD, Afzalifar R, Soolar E, Soolari A. Bone formation with two types of grafting materials: a histologic and histomorphometric study. *Open Dent J* 2011, 5: 96-104.
 92. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: histomorphometric evaluations at 9 months. *J Periodontol* 2000, 71(6): 1015-23.
 93. Valentini P, Abensur D, Densari D, Graziani JN, Hammerle C. Histological evaluation of Bio-Oss in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. *Clin Oral Implants Res* 1998, 9(1): 59-64.
 94. Aghazadeh A, Rutger Persson G, Renvert S. A single-centre randomized controlled clinical trial on the adjunct treatment of intra-bony defects with autogenous bone or a xenograft: results after 12 months. *J Clin Periodontol* 2012, 39(7): 666-73.
 95. Wang H, Li Y, Zuo Y, Li J, Ma S, Cheng L. Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2007, 28: 3338-48.
 96. Bruijn JD, Van Blitterswijk CA, Davies JE. Initial bone matrix formation at the hydroxyapatite interface in vivo. *J Biomed Mater Res* 1995, 29: 89-99.
 97. Okumura M, Ohgushi H, Dohi Y, Katuda T, Tamai S, Koerten HK. Osteoblastic phenotype expression on the surface of hydroxyapatite ceramics. *J Biomed Mater Res*. 1997, 37: 122-29.
 98. Şimşek A, Çakmak G. Kemik Graftleri ve Kemik Graftlerinin Yerini Tutabilecek Maddeler. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi* 2004, 3: 3-4.
 99. Hollinger JO, Battistone GC. Biodegradable bone repair materials. *Clin Orthop* 1986, 207: 209-305.
 100. Oltramari PV, Navarro L, Henriques JF. Evaluation of bone height and bone density after tooth extraction: an experimental study in minipigs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007, 104: 9-16.
 101. Cordaro L, Bosshardt DD, Palattella P, Rao W, Serino G, Chiapasco M. Maxillary sinus grafting with Bio-Oss or Straumann Bone Ceramic:

- histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. *Clin Oral Implants Res* 2008, 19(8): 796-803.
102. Antunes AA, Oliveira Neto P, De Santis E, Caneva M, Botticelli D, Salata LA. Comparisons between Bio-Oss® and Straumann® Bone Ceramic in immediate and staged implant placement in dogs mandible bone defects. *Clin Oral Implants Res* 2013, 24(2): 135-42.
 103. Mardas N, Daiuto F, Mezzomo L, Arzoumanidi M, Donos N. Radiographic alveolar bone changes following ridge preservation with two different biomaterials. *Clin Oral Implants Res* 2011, 22(4): 416-23
 104. Nemcovsky CE, Serfaty V. Alveolar ridge preservation following extraction of maxillary anterior teeth. Report on 23 consecutive cases. *J Periodontol* 1996, 67: 390-5.
 105. Çay M. *Deney Hayvanları Fizyolojisi, Refah ve Davranış Özellikleri*, Elazığ, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2004.
 106. Ominsky L. Denosumab, a fully human RANKL antibody, reduced bone turnover markers and increased trabecular and cortical bone mass, density, and strength in ovariectomized cynomolgus monkeys. *The bone Journal* 2011, 49 (2): 162–73
 107. HelaS A. Inhibition of Receptor Activator of NF-B Ligandby Denosumab Attenuates Vascular Calcium Deposition in Mice. *The American Journal of Pathology* 2009, 175(2): 473-8.
 108. Kostenuik PJ. Effects of Denosumab, Alendronate, or Denosumab Following Alendronate on Bone Turnover, CalciumHomeostasis, Bone Mass and Bone Strength in Ovariectomized Cynomolgus Monkeys. *Journal of Bone and Mineral Research* 2015, 30(4): 657–69.
 109. Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg* 1990, 1(1): 60-8.
 110. Lee EH, Kim JY, Kweon HY, Jo YY, Mi SK, Park YW, Choi JY, Kim SG. A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010, 109(5): 33-8.
 111. Özdemir B, Kurtiş B, Tüter G, Sengüven B, Tokman B, Demirel İ, Özcan G. Double-application of platelet-rich plasma on bone healing in rabbits. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2012, 17(1): 171-7.

112. Hokugo A, Sawada Y, Hokugo R, Iwamura H, Kobuchi M, Kambara T, Morita S, Tabata Y. Controlled release of platelet growth factors enhances bone regeneration at rabbit calvaria. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007, 104(1): 44-8.
113. Jambhekar S, Kern F, Bidra AS. Clinical and histologic outcomes of socket grafting after flapless tooth extraction. *The Journal Of Prosthetic Dentistry,* 2015, 113: 371-82
114. Nevins, M. A Prospective, Randomized Controlled Preciinicai Trial to Evaiuate Different Fornuiations of Biphasic Caicium Phosphate in Coriibination With a Hydroxyapatite Collagen Membrane to Reconstruct Deficient Alveolar Ridges. *Journal of Oral Implantolog* 2013, 39(2) 23-34.
115. Mahesh L. Socket grafting with calcium phosphosilicate alloplast putty: a histomorphometric evaluation. *Compend Contin Educ Dent* 2012, 33(8): 109-15.
116. Artzi B. Biomaterial Resorption Rate and Healing Site Morphology of Inorganic Bovine Bone and β -Tricalcium Phosphate in the Canine: A 24-month Longitudinal Histologic Study and Morphometric Analysis. *Int Journal Oral Maxillofacial Implants* 2004, 19: 357–68.
117. Kulak CA, Dempster DW. Bone histomorphometry: a concise review for endocrinologists and clinicians. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2010, 54(2): 87-98.
118. Kostenuik P. Decreased bone remodeling and porosity are associated with improved bone strength in ovariectomized cynomolgus monkeys treated with denosumab, a fully human RANKL antibody. *Bone* 2011, 49: 151–61
119. Nguyen C. Denosumab, A Fully Human Monoclonal Antibody to RANKL, Inhibits Bone Resorption and Increases BMD in Knock-In Mice That Express Chimeric (Murine/Human) RANKL. *Journal Of Bone And Mineral Research* 2009, 24(2): 56-65.
120. Gerstenfeld LC. Comparison of Effects of the Bisphosphonate Alendronate Versus the RANKL Inhibitor denosumab on Murine Fracture Healing. *Journal Of Bone And Mineral Research* 2009, 24: 196–208.
- 121 Bernhardtsson D. Anti-RANKL treatment improves screw fixation in cancellous bone in rats. *International Journal Care Injured* 2015, 46: 990–5.

122. Molon E. OPG-Fc but Not Zoledronic Acid Discontinuation Reverses Osteonecrosis of the Jaws (ONJ) in Mice. *Journal of Bone and Mineral Research* 2015, 4: 1-14
123. Vildan Ö. *Miyelom Kemik Hastalığı*, Bursa, Türk Hematoloji Derneği, 2013.
124. Henry DH, Costa L, Goldwasser F. Randomized, Double-Blind Study of Denosumab Versus Zoledronic Acid in the Treatment of Bone Metastases in Patients With Advanced Cancer (Excluding Breast and Prostate Cancer) or Multiple Myeloma accompanying editorial. *J Of Clinical Oncol* 2011, 29 (9): 1095-99.
125. Fizazi K. Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind study. *Lancet* 2011, 377: 813-22.
126. Smith MR, Saad F, Coleman R. Denosumab and bone metastasis free survival in men with castration-resistant prostate cancer: results of a phase 3, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2012, 379: 39–46.

EKLER

EK 1. Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 20-06-2013
Toplantı Yeri : Tıp Fak. Toplantı Salonu-Malonya
Araştırma Protokol no.su : 2013/A-52
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Tavşan
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyu : Yeni Zelanda Tavşanı
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 20 Adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yapı ve Ağırlığı : 5-7 aylık/2,5-3 kg

Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd.Doç.Dr.Hilal ALAN'ın yürütlüğü olduğu "Sclerostin antikorunun kemik yenilenmesi üzerindeki etkisinin incelenmesi" isimli 2013/A-52 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Doç.Dr.M.Ahmet ADAG Başkan	 Doç. Dr. Yılmaz ÇİGREMİŞ Üye	 Doç. Dr. Abdurrahman KARAMAN Üye
 Vet.Dok.M.Zafer BOZBAĞ Üye	 Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ Üye	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
 Salih AVCI Sivil Üye	 Ahmet ÖNELLİOĞLU Sivil Üye	

EK 2. Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURUL BAŞKANLIĞI



Sayı : B.30.2.İNÜ.0.20.05.05/20

24.10.2013

Konu :2013/A-52 nolu çalışma

Sayın: Yrd. Doç. Dr. Hilal ALAN
Diş Hekimliği Ağız Dış Çene Cerrahisi AD

2013/A-52 protokol nolu "Sclerostin antikorunun kemik yenilenmesi üzerindeki etkisinin incelenmesi." isimli projede, başlığın "Kemik defektlerinin onarımında sistemik olarak uygulanan sclerostin antikoru etkinliğinin incelenmesi." şeklinde değiştirilmesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı tarafınca uygun görülmüştür.

Doç. Dr. M. Arif ALADAĞ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı

EK 3. Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı



T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi

Deney Hayvanları Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : B.30.2.İND.0.20.05.05/145

Konu : 2013/A-52 nolu çalışma

MALATYA

08 / 07 / 2014

Sayın: Yrd.Doç.Dr. Hilal ALAN
Diş Hekimliği Ağız Diş Çene Cerrahisi AD

2013-/A-52 protokol nolu "Kemik defektlerinin onarımında sistemik olarak uygulanan sclerostin antikorunun etkinliğinin incelenmesi" isimli projenin başlığının "Kemik defektlerinin onarımında sistemik olarak uygulanan denosumab'ın etkinliğinin incelenmesi." şeklinde değiştirilmesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı tarafından uygun görülmüştür.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Doç. Dr. M. Arif ALADAĞ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı

EK 4. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Ömer PİRİNÇ
Doğum Yeri ve Tarihi: Elazığ 5/5/1987
Medeni Hali: Evli
Yabancı Dil: İngilizce
İletişim Adresi: İnönü Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 44280-Malatya
E-posta Adresi: drpirinc@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lisans ve Yüksek Lisans: İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 2004-2009
Doktora: İnönü Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı ve Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi ortak doktora programı 2011-2015