

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

TAVŞANLARDA SİSTEMİK OLARAK VERİLEN
OKSİTOSİNİN, DİSTRAKSİYON İŞLEMİNİN HIZINA VE YENİ
KEMİK OLUŞUMUNA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Arş. Gör. Dt. Berkan ALTAY

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
(UZMANLIK TEZİ)

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mustafa Ercüment ÖNDER

2019 – Kırıkkale

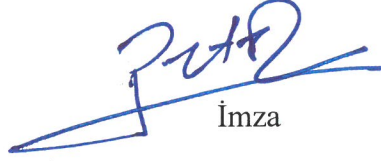
Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Ağız Diş Ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Diş Hekimliği Uzmanlık Programı

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Uzmanlık

Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19 / 11 / 2019



İmza

Prof. Dr. Petek KORKUSUZ

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. Mustafa Ercüment ÖNDER

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Üye

İmza

Prof. Dr. Umut TEKİN

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Üye

İmza

Prof. Dr.H.Ebru OLGUN

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

İmza

Doç. Dr. Özkan ÖZGÜL

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince ve bu tezin hazırlanması aşamasında bilgisi ve değerli tecrübesiyle bana yol gösteren, hata yaptığım zamanlarda bile hoşgörüsünü esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa Ercüment ÖNDER' e

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi uzmanlık eğitimim süresince pratik ve teorik olarak bilgi ve deneyimlerinin yanı sıra hayata dair birikimlerini benimle paylaşan, üzerimde çok emeği bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Umut TEKİN, Doç. Dr. Fethi ATIL, Doç. Dr. İ. Doruk KOÇYİĞİT, Doç. Dr. Özkan ÖZGÜL' e,

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden itibaren bana hep destek olan ve öğreten değerli kıdemlilerim Uzm. Dt. Mürüde YAZAN AKYOLAL, Uzm. Dt. İbrahim MACİT, Uzm. Dt. Ömer ÖNER VE Uzm. Dt. İ. Eser BOLAT' a

Uzmanlık eğitimim süresinde tanışmak ve birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum asistan ve hemşire arkadaşlarıma,

Dostluğundan büyük keyif aldığım, her konuda desteğini benden esirgemeyen, değerli arkadaşım Arda TÜRKOĞLU' na

Deneyle sırasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Petek KORKUSUZ, Eda ÇİFTÇİ DEDE, Dt. Merve Gül ULUve Dt. Arzu TECİK' e

Bugünlere gelmemi sağlayan, hayatımın her anında destek ve sevgilerini vermiş olan aileme,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM...

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
KISALTMALAR.....	V
ŞEKİLLER.....	VII
TABLolar.....	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ.....	11
1.1. DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİ.....	11
1.1.1. Tarihi.....	11
1.1.2. Doku Mühendisliği ile İlişkisi.....	12
1.2. KEMİK GELİŞİMİ.....	12
1.3. APENDİKÜLER KEMİK KIRIĞI İYİLEŞMESİ.....	19
1.4. KRANIYOFASİYAL KEMİK KIRIĞI İYİLEŞMESİ.....	22
1.5. KEMİK İYİLEŞMESİNDE DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİNİN FİZYOLOJİK ETKİLERİ.....	24
1.6. KEMİK İYİLEŞMESİNDE DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİNİN MOLEKÜLER ETKİLERİ.....	26
1.7. DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİNDE ANJİYOGENEZ.....	28
1.8. KIRIK İYİLEŞMESİYLE KEMİK OLUŞUMUNU DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI.....	29
1.9. DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİNDE ADJUVAN TEDAVİLER.....	31
1.10. OKSİTOSİN.....	33
1.10.1. Oksitosin ve Kemik.....	34
1.10.1.1. Oksitosinin İskelet Sisteminde Anabolik Etkileri.....	35
1.10.2. Oksitosin ve Osteoporoz.....	38
1.10.3. Maksillofasiyal Bölgede Oksitosin.....	40
1.11. ÇALIŞMANIN HİPOTEZİ.....	41
1.12. ÇALIŞMANIN AMACI.....	42
1.13. ÇALIŞMADAN BEKLENEN FAYDA.....	42
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	43
2.1. CERRAHİ YÖNTEM.....	44

2.2.1. GRUPLAR VE ENJEKSİYONLARIN UYGULANMASI.....	48
2.2.2. OPERASYON SONRASI BAKIM	48
2.2.3 SAKRİFİKASYON İŞLEMİ.....	49
2.2. HİSTOMORFOMETRİ	49
2.3. MİKROTOTOMOGRAFİ	50
2.4. KORELASYON ANALİZLERİ	50
2.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	50
3. BULGULAR.....	51
3.1. HİSTOMORFOMETRİ	51
3.2. MİKRO BİLGİSAYARLI TOMOGRAFİ.....	53
3.3. KORELASYON ANALİZLERİ	56
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	57
5. KAYNAKLAR.....	66
6. ÖZGEÇMİŞ	83

KISALTMALAR

DO	Distraksiyon Osteogenezi
Runx	Proosteojenik faktör runt ile ilişkili transkripsiyon faktörü 2
Sox	SRY [cinsiyet belirleyici bölge Y] ile ilgili yüksek mobilite grubu boks geni
BMP2	Kemik morfogenetik protein 2
BMP4	Kemik morfogenetik protein 4
Wnt	Wingless ilişkili entegrasyon
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
MMP	Matriks metalloproteinaz
HIF	Hipoksi ile indüklenebilir faktör
FGFR3	FGF reseptör 3
TGF- β	Transforme edici büyüme faktörü beta
FIZ	Fibröz İnterzon
PMF	primer mineralizasyon cephesi
MCF	mikrokolon oluşum bölgesi
IL	interlökin
TNF- α	tümör nekroz faktörü alfa
OB	Osteoblast
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
RANKL	NF- κ B ligandının reseptör aktivatörü
OPG	osteoprotegerin
OT	Oksitosin
mikro-BT	mikro bilgisayarlı tomografi

ATF-4	aktive edici transkripsiyon faktörü-4
PTHrP	paratiroid hormonla ilişkili peptid
KH/TH	total kemik hacmi yüzdesi (kemik hacmi/Total Hacim)
TbKa	trabeküler kalınlık
TbS	trabeküler sayı
TbAy	trabeküler ayrılma
TA/DZ	yeni trabeküler kemik alanının, toplam distraksiyon zonuna oranı
MSC	mezenkimal kök hücre



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Kalvaryumdaki kemiklerin kökenleri.	14
Şekil 1.2. Nöral krest hücrelerinin ve paraksiyal mezoderm hücrelerinin kraniyofasiyal iskeletteki iki kemiğe kısmi katkıları	15
Şekil 1.3. Kemik oluşum yolakları.....	16
Şekil 1.4. DO ile kemik iyileşmesinin neo-fiziği. FIZ, fibröz interosseöz zon; MCF, mikro kolon oluşumu; PMF, primer mineralizasyon cephesi.	25
Şekil 2. 1. Subperiosteal diseksiyon sonrası kemik dokunun açığa çıkartılması.....	45
Şekil 2. 2. Osteotomi hattının ront frezlerle işaretlenmesi.	46
Şekil 2. 3. Ront frezlerle yapılan işaretlemelerin fissür frezle birleştirilmesi.	46
Şekil 2. 4. Distraktör vidalarının yerleştirilmesi.	47
Şekil 2. 5. Distraktörün aktive edilerek ayrılmanın gözlenmesi.....	47
Şekil 2. 6. Distraktörün aktive edilerek ayrılmanın gözlenmesi.....	48
Şekil 3. 1. Kontrol ve deney gruplarına ait mikrograflarda sol kolonda küçük büyütmede Masson trikrom (MT) ile dikdörtgen içinde temsili olarak distraksiyon zonu izlenmektedir. Orta kolonda hematoksilen eozin (HE) ile orta büyütmede DZ'daki trabeküler kemik ağı (TK), fibröz bağ dokusu (BD) ve kıkırdak (K1) adaları; sağ kolonda büyük büyütmede MT ile yeşil renkte genç ve kırmızı renkte yeniden yapılanarak olgunlaşan damardan zengin, osteoblastlara çevrili kemik trabekülleri izlenmektedir. C, I ve L'de kemikleşmenin F'ye göre ileri düzeyde olduğuna dikkat ediniz. Di.: Distraktöre ait boşluk. A, D, G, J x1,25; B, E, H, K x10 ve C, F, I, L x20.	52
Şekil 3. 2. Kutu çizgi grafiğinde, histomorfometrik analiz sonuçları verilmektedir. Dikey ekseninde yeni trabeküler kemik alanının distraksiyon zonuna oranı (TA/DZ) yatay ekseninde ise gruplar görülmektedir. (a) 1mm distraksiyon/gün-serum fizyolojik grubuna göre $p<0,05$, (c) 1mm distraksiyon/gün- Ot grubuna göre $p<0,05$, (d) 2mm distraksiyon/gün- OT grubuna göre $p<0,05$	53
Şekil 3. 3. Kutu çizgi grafiğinde, Mikro-BT verisi olan KH/TH oranı analiz sonuçları verilmektedir. KH/TH yatay ekseninde ise gruplar görülmektedir. (a) 1mm distraksiyon/gün-serum fizyolojik grubuna göre $p<0,05$, (b) 2mm distraksiyon/gün-serum fizyolojik grubuna göre $p<0,05$, (d) 2mm distraksiyon/gün- OT grubuna göre $p<0,05$	54
Şekil 3. 4. Kutu çizgi grafiğinde, Mikro-BT verisi olan BY analiz sonuçları verilmektedir. Dikey ekseninde BY yatay ekseninde ise gruplar görülmektedir. (a) 1mm distraksiyon/gün-serum fizyolojik grubuna göre $p<0,05$, (b) 2mm distraksiyon/gün-serum fizyolojik grubuna göre $p<0,05$, (d) 2mm distraksiyon/gün- OT grubuna göre $p<0,05$	54
Şekil 3. 5. 3 boyutlu mikro-BT görüntüleri.....	55
Şekil 3. 6. Korelasyon grafiğinde, (KH/TH) ve (BY) birbiriyle olumlu korelasyon göstermektedir ($r= 0,742$, $p=0.01$).....	56
Şekil 3. 7. Korelasyon grafiğinde, histomorfometri TA/DZ ve Mikro-BT KH/TH verilerinin pozitif yöndeki korelasyonu görülmektedir ($r=0,578$, $p=0.01$)	57

TABLÖLAR

Tablo 1.1. Endokondral Kemik Kırığı İyileşmesi Sırasında Aktive olan Moleküler Yolaklar (Ai-Aql ve ark. 2008)	21
--	----



ÖZET

Oral ve maksillofasiyal bölgede oluşan kemik deformitelerinin, konjenital anomalilerin ya da uzun süreli kemik rezorbsiyonuna bağlı kemik yetersizliklerinin düzeltilmesi amacı ile farklı cerrahi yöntemler kullanılmaktadır. Distraksiyon osteogenezisi, yumuşak ve kemik dokuda aşamalı bir doku artışına olanak sağlaması nedeni ile oral ve maksillofasiyal cerrahide tercih edilen bir yöntemdir. Daha önce yapılan bilimsel çalışmalarda, distraksiyon işlemi aşamasında distraktörün aktivasyon sınırı günlük 1mm olarak tanımlanmıştır. Distraksiyon işleminin günlük 1mm olması tedavinin uzamasına ve buna bağlı komplikasyonlara neden olmaktadır. Distraksiyonun hızının arttırılmasına yönelik pek çok çalışma yapılmaktadır.

Tez çalışmamızda amaç, yapılan son hayvan çalışmalarında kemik ve yumuşak dokularda kök hücre aktivasyonunu arttırarak iyileşmeyi arttırdığına dair bilgilerin mevcut olduğu oksitosin uygulamalarının, distraksiyon işlemi üzerine etkilerini incelemektir.

Çalışma 28 adet erkek, Yeni Zelanda beyaz tavşanı üzerinde gerçekleştirildi. Hayvanlar 3 deney grubu ve 1 kontrol grubuna ayrıldı. A grubu, 1 mm / gün distraksiyon uygulanan hayvanlardan; Grup B, dağılma hızı 2 mm / gün olan hayvanlardan oluşuyordu. A ve B gruplarına Postoperatif salin enjeksiyonu yapıldı. C grubu, 1 mm / gün oranında distraksiyon uygulanan; Grup D, dağılma hızı 2 mm / gün olan hayvanlardan oluşuyordu. Postoperatif oksitosin enjeksiyonu C ve D gruplarına uygulandı.

Hem histomorfometri, hem de mikro-BT verilerinin değerlendirilmesine dayanarak, sistemik OT uygulamasının Distraksiyon osteogenezisinde yeni kemik oluşumunu ve kemik iyileşmesini arttırdığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Oksitosin, kemik rejenerasyonu, distraksiyon osteogenezisi, distraksiyon miktarı, tavşan mandibulası

ABSTRACT

Different surgical methods are used for the correction of bone deformities in the oral and maxillofacial region, bone defects due to congenital anomalies or prolonged bone resorption. Distraction osteogenesis is a preferred method in oral and maxillofacial surgery with the reason that it allows for a gradual increase of tissue in both soft and bone tissue. In previous scientific studies, the limit of activation of the distractor during distraction was defined as 1 mm per day. The distraction procedure is 1mm per day, which causes the prolongation of the treatment and its associated complications. Many studies have been carried out to increase the speed of the distraction. The aim of the thesis is to examine the effects of oxytocin applications on the distraction process, where information is available on recent animal studies to increase recovery by increasing stem cell activation in bone and soft tissues. The aim of this study is to compare clinical, radiologic and histopathologic results of systemic oxytocin application in rabbits.

The experimental study was conducted on 28 male, New Zealand white rabbits. The animals were divided into 3 experimental groups and 1 control group. Group A consisted of animals with distraction of 1 mm / day. Group B consisted of animals with a distraction rate of 2 mm / day. Groups A and B received postoperative saline injection. Group C consisted of animals with distraction at a rate of 1 mm / day. Group D consisted of animals with a distraction rate of 2 mm / day. Postoperative OT injection was performed in groups C and D.

Based on the evaluation of both the histomorphometry and micro-CT data, it was found that systemic OT administration increases new bone formation and bone healing in DO.

Key Words: Oxytocin, bone regeneration, distraction osteogenesis, amount of distraction, rabbit mandible

1. GİRİŞ

1.1. DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİ

Distraksiyon osteogenezi (DO), osteotomi sonrası distraksiyon aralığı içerisinde yeni kemik oluşumu ile birlikte etrafındaki vaskülarize kemik segmentlerinin kademeli distraksiyonunu içeren kemiğin rejeneratif bir sürecidir. Bu süreç, apendiküler ve kraniyofasiyal iskeletteki kritik boyutta kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu için etkilidir. Kraniyofasiyal ve apendiküler iskeletin kemikleri, farklı embriyonik gelişim mekanizmalarına sahiptir. Kraniyofasiyal kemikler, intramembranöz ossifikasyon yoluyla mezenkimal öncüllerin büyüme merkezlerinden gelişir. Apendiküler kemikler ise, büyüme plakalarındaki endokondral ossifikasyonlar ile oluşurlar. Bununla birlikte, hem endokondral hem de intramembranöz kemiklerin ana düzenleyici transkripsiyon faktörleri ve alt büyüme faktörleri benzerdir. Kırık iyileşmesi, bu kemiklerin embriyonik olarak geliştiği yolu takip eder. Aksine, DO ile oluşturulan kemik, apendiküler veya kraniyofasiyal iskelet yapısında olmasından bağımsız olarak intramembranöz kemikleşme ile gerçekleşir. Bu mekanizmalar tarafından kemik oluşumları arasındaki moleküler yol farklılıklarının anlaşılması, DO ile iskelet rekonstrüksiyonunun optimizasyonu ve geliştirilmesini sağlayabilir (Runyan ve Gabrick 2017).

1.1.1. Tarihi

DO ilk olarak 20. yüzyılın başlarında Alessandro Codivilla tarafından tanımlanmıştır. Ancak klinik kullanımı, düşük öngörülebilirlik ve yüksek komplikasyon oranları sebebiyle sınırlı olmuştur (Jordan ve ark. 2013). 1950'lerden 1980'lere kadar Rus ortopedist Gavril Ilizarov, tekniği dikkatlice karakterize ederek mükemmelleşmiştir. Katkıları arasında katı bir eksternal halka fiksatörünün geliştirilmesi ve fiksatör içine optimal pim yerleştirme ve stabilitenin belirlenmesi, osteotomiler yerine kortikotomi fizibilitesinin gösterilmesi, ideal latent ve aktivasyon sürelerinin belirlenmesi ve distraksiyon bölgesinin titiz bir histolojik değerlendirmesi yer almıştır (Ilizarov 1989). DO ilk önce Snyder ve arkadaşları tarafından kraniyofasiyal iskelete uygulanmıştır (Snyder ve ark. 1973). Bu araştırmacılar bir

köpek mandibulasının bir tarafını cerrahi olarak kısaltmış ve daha sonra oluşan çapraz kapanışı, eksternal vidalı cihazla düzeltmiştir. McCarthy ve arkadaşları, insanda hipoplastik mandibula rekonstrüksiyonunda yeniden uygulanmadan önce, kraniyofasiyal iskeletin içindeki optimal latent periyot, aktivasyon ve konsolidasyon aşamalarını belirlemek için köpekler üzerinde deneyler gerçekleştirmiştir (McCarthy ve ark. 2001). Bu deneylerden sonra DO, maksillofasiyal cerrahlara özellikle kemik kusurları ve eksikliklerini gidermek için faydalı bir araç olmuştur. Distraksiyon, cerrahi literatürde iyi tanımlanmış olup çeşitli dezavantajları olsa da, distraksiyon biyolojisinin anlaşılması ve rejeneratif tıptaki ilerlemeler DO için ikinci bir şans ortaya çıkartabilir. (Runyan ve Gabrick 2017).

1.1.2. Doku Mühendisliği ile İlişkisi

Doku mühendisliği 3 ana bileşen gerektirir:

- İstenen dokuyu üretmek için bir progenitör veya kök hücre
- Progenitör hücrelere gerekli indükleyici sinyalleri sağlamak için büyüme faktörleri 3
- Büyüyen dokunun uygun 3-boyutlu yapılandırmayı yönlendirmek için bir iskelet yapı (frame)

DO' nun klinik kullanımı esasen bir kemik doku mühendisliği şeklindedir. DO sırasında, kemiğe bağlı distraktör cihazı, normalde bir iskele tarafından sağlanacak sertliği ve gerekli alanı sağlar. Distraksiyon bölgesini çevreleyen yapı uygun progenitör hücreleri ve büyüme faktörlerini temin eder. Yeni vaskülarize kemik üretmeye çalışan cerrah için, bu hücrel ve moleküler etkileşimlerin anlaşılması önemlidir (Runyan ve Gabrick 2017).

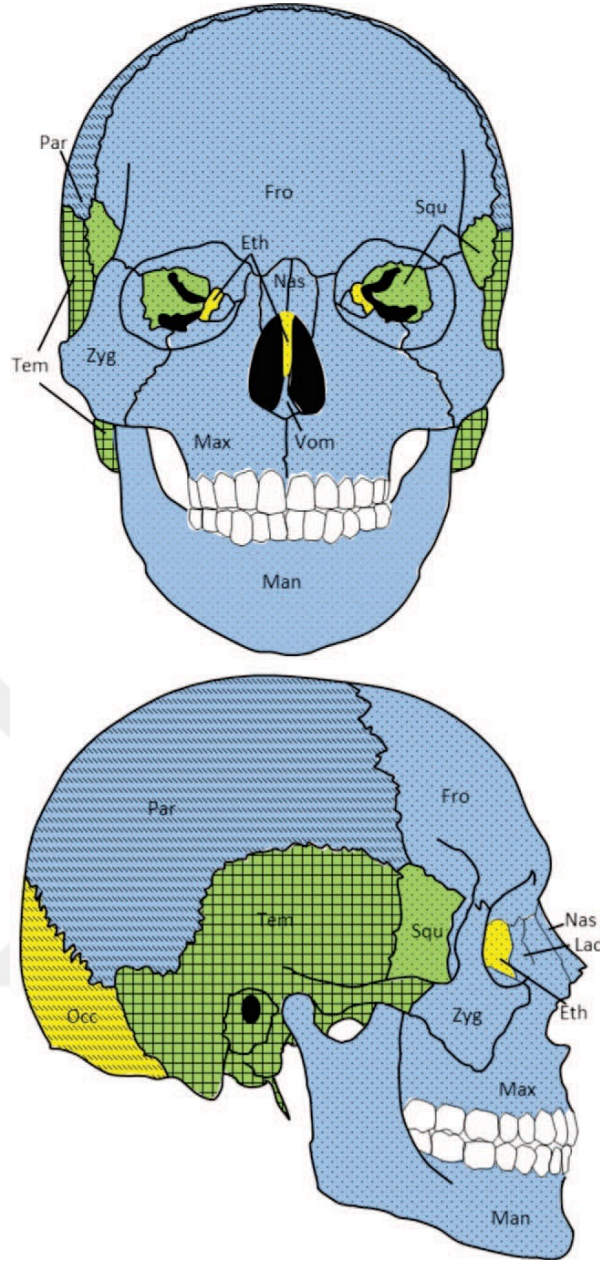
1.2. KEMİK GELİŞİMİ

Kemik, vücuttaki tüm dokular arasında benzersizdir, çünkü skar oluşumu olmadan iyileşen-yenilenen ve tüm premorbid kuvveti ve fonksiyonu yeniden kazandıran tek dokudur. İyileşen kemiğin karmaşık moleküler etkileşimleri gelişim sırasında nasıl oluştuğunu yansıtır (Ferguson ve ark. 1999). Kemik oluşumunun ve kemik iyileşmesinin fizyolojisinin anlaşılması, kemiğin DO sırasında nasıl üretildiği ile ilgili bilgiler sağlamaktadır. Bu da gelecekte maksillofasiyal cerrahın kemik üretimi

için DO'nun en uygun şekilde kullanmasını ve potansiyel olarak yeni teknolojinin geliştirilmesi ve yeni terapötik uygulamaların tıp literatürüne kazandırılmasını sağlayacaktır (Runyan ve Gabrick 2017).

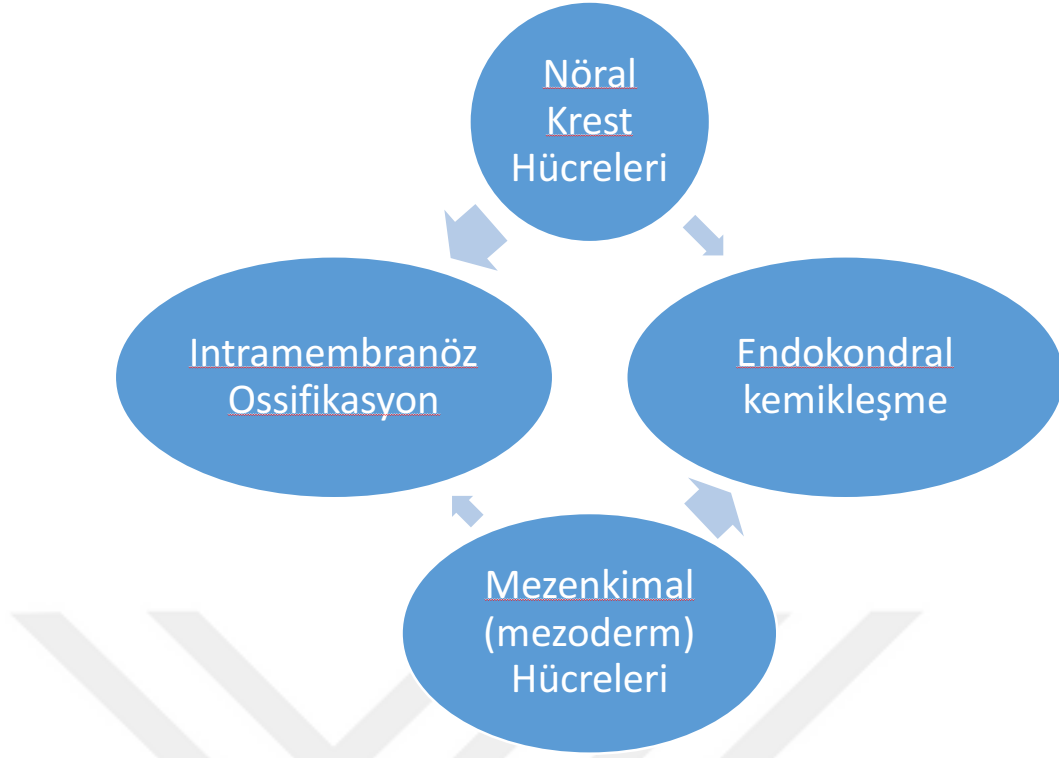
Embriyonik gelişim sırasında kemik iki şekilde oluşur: Endokondral veya intramembranöz ossifikasyon (Karaplis 2008). Endokondral ossifikasyon, kırıkdağı bir ara maddeye gereksinim duyar. Tüm apendiküler (uzuvlar ve pelvis), kaburgalar, skapula ve kafatası tabanı dahil olmak üzere çoğı aksiyal iskeletin oluşumundan sorumludur. Endokondral kemik, paraksiyal mezodermden (aksiyal iskelet) veya uzuv tomurcuklarını (apendiküler iskelet) meydana getiren lateral plak mezoderminden oluşur. İntramembranöz ossifikasyon, kırıkdağı bir ara madde içermez, bunun yerine mezenkimal prekürsör veya nöral krest hücrelerinin osteoblastlara (OB) doğrudan farklılaşmasına dayanır ve kraniyofasiyal iskeletin çoğunun gelişimi için gerekli bir mekanizmadır. Kraniyofasiyal iskelet içindeki intramembranöz kemikler (Şekil 1.1), daha fazla kafa yapıları ve yüz kemiğı için nöral krest hücrelerinden veya daha kaudal yapılar ve kafatası tabanı için paraksiyal mezodermden üretilir (Ishii ve ark. 2015). Kafatasının en kaudal kemiklerinden bazıları (okspital, etmoid, temporalin pöröz kısmı ve sfenoid kemiklerin kısımları) endokondral ossifikasyon ile gelişir (Runyan ve Gabrick 2017).

Endokondral ve intramembranöz kemiğın her ikisi de ilk önce, iskelet gelişimi alanlarında bilinmeyen bir mekanizma ile birleşen mezenkimal yoğunlaşma olarak bilinen farklılaşmamış hücre kümeleri olarak tanımlanmıştır (Karaplis 2008). Nöral krest hücreleri, gelişmekte olan nöral tüpünün nöroektoderminden kaynaklanır ve sonra gelişmekte olan embriyo içindeki kraniyofasiyal yapılara delaminasyon ve ventral göçün ardından epitelyal-mezenkimal dönüşüm geçirir. Mezenkimal yoğunlaşma bölgelerinde mezoderm türevli hücrelerde olduğu gibi, nöral krest hücreleri de benzer şekilde intramembranöz veya endokondral ossifikasyon yoluyla kemik üretimine yol açabilir (Bhatt ve ark. 2013) (Şekil 1.2). Bu hücrelerin ilerlemesi ve farklılaşması, çoğı kırık iyileşmesiyle ilgili olan sinyal yollarıyla yönlendirilir (Runyan ve Gabrick 2017).



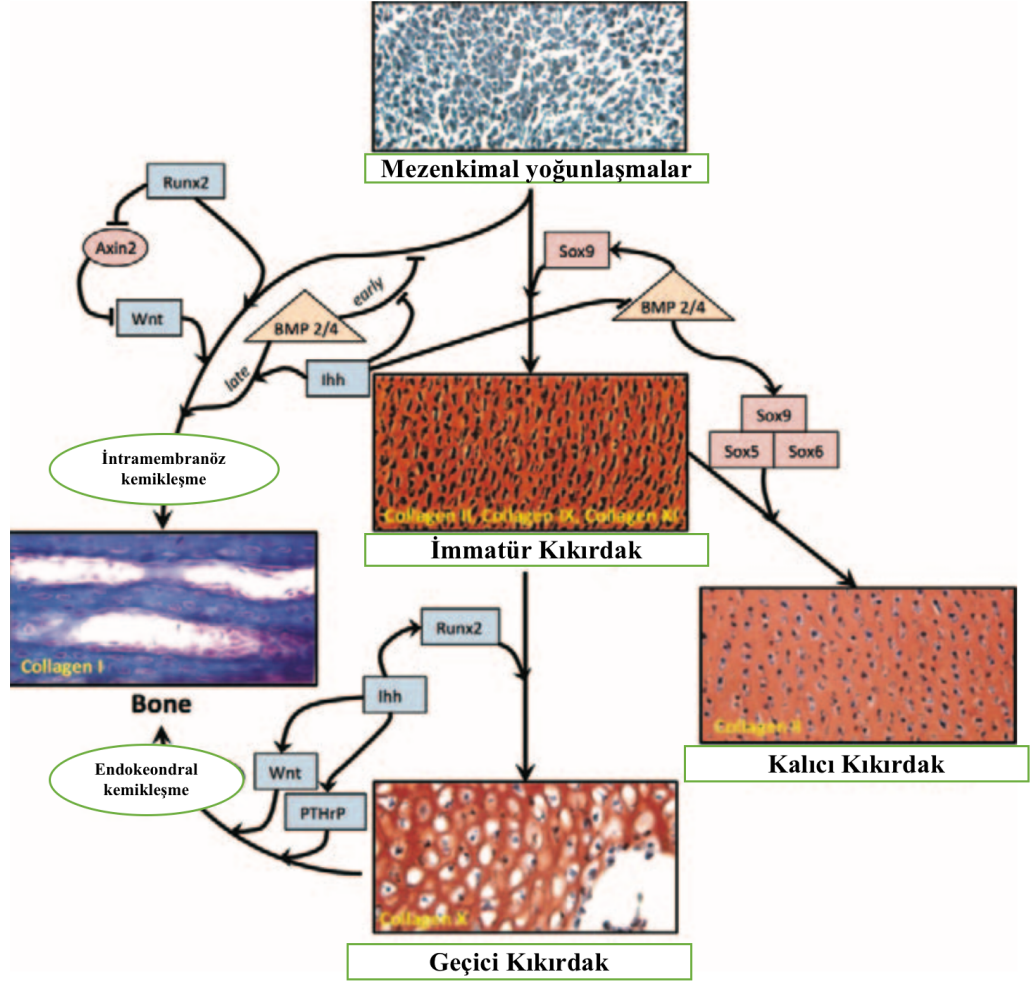
Şekil 1.1. Kalvaryumdaki kemiklerin kökenleri.

(A, B) Hem hücre kaynağını hem de kemik oluşum mekanizmasını gösteren (A) frontal, (B) lateral dahil olmak üzere insan kraniyofasiyal iskeletinin iki görüntüsü. Açık mavi - intramembranöz ossifikasyon. Sarı — endokondral kemikleşme. Yeşil - hem intramembranöz hem de endokondral kemikleşme. Noktalı — nöral krest hücrelerinden köken alan. Köşegen çizgiler - paraksiyal mezodermden köken alan. Çapraz taramalı - hem nöral krest hem de paraksiyal mezoderm türevidir. Eth, ethmoid; Fro, frontal; Lac, lakrimal; Man, mandibula; Max, maksilla; Nas, nazal; Occ, oksipital; Par, parietal; Squamous, Skuamöz; Tem, temporal; Vom, vomer; Zyg, zigoma (Runyan ve Gabrick 2017).



Şekil 1.2. Nöral krest hücrelerinin ve paraksiyal mezoderm hücrelerinin kraniyofasiyal iskeletteki iki kemiğe kısmi katkıları

Kraniyofasiyal iskelette mezenkimal yoğunlaşmalar intramembranöz kemikleşmeye geçerek doğrudan kıkırdaklı bir ara madde olmadan kemik üretebilir (Şekil 1.3). Aksiyal ve apendiküler iskeletin geri kalan kısmında mezenkimal prekürsör hücreler immatür kıkırdak denilen bir ara dokuya neden olurlar. Bu immatür kıkırdak daha sonra iki çeşit kıkırdaktan birine şartlanır: kalıcı ve geçici kıkırdaklar. Kalıcı kıkırdak kısmen avasküler kalır ve sonunda burun, kulak, intervertebral diskler ve kaburga kıkırdaklarını oluşturur. Aksine geçici kıkırdak, kondrosit hipertrofisine ve vaskülarizasyona maruz kalır, endokondral ossifikasyona geçilmesini sağlar. Bu işlem sırasında, kondrositler sıkı bir şekilde kontrol edilen proliferasyon, prehipertrofi, hipertrofi, apoptoz ve OB'lar ile replasman programına girerler (Thorogood ve Hinchliffe 1975).



Şekil 1.3. Kemik oluşum yolları (Runyan ve Gabrck 2017).

Mezenkimal yoğunlaşmaların kemik ve kıkırdaktaki ilerlemesini düzenleyen sinyal iletim yollarının birçoğu anlaşılmiş ve kırık iyileşmesinde tekrarlanmıştır. Proosteojenik faktör runt ile ilişkili transkripsiyon faktörü 2 (Runx2), mezenkimal yoğunlaşmalarda preosteoblastlarda ve daha sonra immatür kıkırdakta eksprese edilir (Ducy ve Karsenty 1998). Runx2'nin her iki alleli eksik olan farelerde kemik oluşumu gerçekleşmez, bu da kemik oluşumu için hem intramembranöz, hem de endokondral kemikleşmenin gerekliliğini gösterir. Ayrıca, insanlarda Runx2'nin bir kopyasındaki bir mutasyon, hipoplastik klavikular, fazla dişler, genişlemiş fontaneller ve nihai osteoporoz ile karakterize kleidokranial displaziye yol açar (Mundlos ve ark. 1997). Benzer şekilde önemli bir prokondrojenik transkripsiyon faktörü olan SRY [cinsiyet belirleyici bölge Y] ile ilgili yüksek mobilite grubu boks geni 9 (Sox9), kıkırdak gelişimi için esastır. Farelerde Sox9'un yokluğu, tam bir kıkırdak oluşumunun

gerçekleşmemesine yol açar (Akiyama ve ark. 2002). İnsanlarda kısmi kaybı ise kraniyofasiyal kusurlar ile karakterize kampomelik displaziye, uzun kemiklerin eğilmesine ve angulasyonuna, sıklıkla perinatal solunum sıkıntısına ve letaliteye neden olan trakeobronşiyal hipoplaziye yol açar (Kwok ve ark. 1995). Özetle Runx2 ve Sox9, sırasıyla osteojenik ve kondrojenik spesifikasyon için ana düzenleyici transkripsiyon faktörleridir (Runyan ve Gabrick 2017).

Sox9, birlikte bir hücre dışı kollajen matriksi oluşturmaya yardımcı olan temel kıkırdak ile ilişkili kollajen genlerinin ekspresyonunu tetikler. İmmatür kıkırdak içerisinde kondrositler hızla bölünür ve farklılaşmadan kalır. Kondrosit proliferasyonunun ve Sox9 aktivitesinin uyarılmasındaki anahtar faktörler, kemik morfogenetik proteinleri 2 ve 4'tür (BMP-2 ve BMP-4) (Abzhanov ve ark. 2007). Kalıcı kıkırdak içerisinde Sox9, birlikte kondrositlerin olgunlaşmasını ve hipertrofiye uğramasını önleyen benzer prokondrojenik faktörler Sox5 ve Sox6'yı uyarır (Ikeda ve ark. 2005). Buna karşılık, immatür kıkırdaktan geçici kıkırdağa geçiş, farklı prehipertrofik ve hipertrofik aşamaların yanı sıra vasküler invazyon ve kemik markerlarının aktivasyonu yoluyla kondrosit olgunlaşmasını içerir. Bu, en önemlisi Hedgehog olan ek sinyal yollarını gerektirir (Yang ve ark. 2015).

Hedgehog geninin memeli homologları arasında Sonic, Desert ve Hint (Ihh) hedgehogları bulunur. Hint hedgehog endokondral kemik oluşumu için esastır (St-Jacques ve ark. 1999). Kıkırdak içindeki prehipertrofik kondrositler tarafından eksprese edilir ve hipertrofisini hızlandırır ve OB farklılaşmasını artırır. Hint hedgehog bunu Runx2'yi aktive ederek yapar; bu transkripsiyon faktörlerinden herhangi biri olmadan, kemik oluşmaz. Hint hedgehog aynı zamanda BMP2 aktivitesini de azaltır, bu da Sox5, Sox6, Sox9 ve kollajen II'nin down-regülasyonuna yol açar (Long ve ark. 2004).

Geçici kıkırdağının endokondral kemikleşme yoluyla kemiğe dönüşmesi, Wingless ilişkili entegrasyon (Wnt) proteinleri, fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), matriks metalloproteinazlar (MMP' ler) ve hipoksi ile indüklenebilir faktör (HIF) dahil olmak üzere önemli faktörler tarafından desteklenir. Mezenkimal yoğunlaşmalarda Wnt sinyalini içermeyen farelerde kıkırdak oluşur ancak endokondral veya intramembranöz kemik oluşmaz. Wnt aktivitesi, kemik

oluşumu sırasında Hedgehog sinyali ile kontrol edilir ve Wnt sinyali, kondrosit proliferasyonunu artırır ve kondrosit apoptozunu engeller (Mak ve ark. 2006).

FGF proteinlerinin reseptörü büyüme plağı içinde yüksek oranda eksprese edilir. Akondroplazi, FGF reseptör 3'ün aktive edici mutasyonları ile ilişkilidir (Murakami ve ark. 2004).

MMP'ler, neovaskülarizasyonu teşvik eden hücre dışı matriks parçalayıcı enzimlerdir. Büyüme plağı içinde, MMP-9 ve MMP-14, hipertrofik kondrositler tarafından üretilir ve kan damarlarının, büyüme plağının primer ossifikasyon merkezlerine girmesini kolaylaştırarak endokondral kemik oluşumunu teşvik eder (Vu ve Werb 2000).

Hif-1 α , hipoksik cevabın merkezi düzenleyicisidir. Hücreler hipoksik olduğunda Hif-1 α , vaskülogenezi uyarmak için VEGF'yi aktive eder. Kondrositlerdeki Hif-1 α 'nın kaybı, oksijen seviyelerinin en düşük olduğu, büyüme plağının ortasındaki hücrelerin apoptozuna neden olur. VEGF hipertrofik kondrositlerden salınır, büyüme plağı içindeki hücre dışı matriks proteinlerine bağlanarak endotelial hücreleri bölgeye çağırır ve kan damarı oluşumunu destekler (Zelzer ve ark. 2004).

İntramembranöz kemikleşme ile kalvaryal kemiklerin gelişimi, gelecekteki kemik hücrelerinin çoğalması ve mezenkimal yoğunlaşmalardan dışarı doğru göç etmeleriyle oluşur (Yoshida ve ark. 2008). Büyüme plağı oluşumu endokondral kemiğe özgüdür. İntramembranöz kemik bunun yerine merkezden uzaklaşan radyal tarzda kemik ekleyen ossifikasyon merkezlerine dayanır. Endokondral kemik oluşumu için gerekli olan proosteojenik moleküler yolların çoğu, Runx2, Wnt, Hedgehog ve BMP yolları dahil olmak üzere intramembranöz kemik oluşumu için esastır. Kranial mezenkimal yoğunlaşmalarda BMP sinyalinin olmaması OB oluşumu için gerekli iken sonraki aşamalarda BMP sinyali nöral-krest kaynaklı kalvaryal kemik oluşumu için esastır (Abzhanov ve ark. 2007, Ishii ve ark. 2015). Hint Hedgehogu da büyümekte olan kranial kemiklerin ön ucunda eksprese edilir, proliferasyondan ziyade BMP-2 ve BMP-4 aracılı direkt osteojenik farklılaşmayla kemik oluşumunu teşvik eder (Lenton ve ark. 2011). Kaybı, kalvaryal kemik oluşumunu önemli ölçüde azaltır (Abzhanov ve ark. 2007).

Runx2, osteogenez sırasında kalvaryumdaki OB'larda eksprese edilir ve osteogenezi destekler. Runx2'nin bir alelinin kaybı, sütürün kapanmasının gecikmesiyle ve kalıcı fontaneller ile ilişkilidir (Runyan 2017). İntramembranöz kemiğin içindeki Runx2'nin proosteojenik etkileri, Wnt sinyalleşmesi ile kontrol edilir. Wnt yolunun aktivasyonu, osteojenik türevlerin spesifikasyonunu teşvik eder ve kalvaryum mezenkimi içindeki kondrojenik türevleri baskılar (Ishii ve ark. 2015). Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) sinyalleşmesi de, kalvaryumun osteosit proliferasyonunu desteklediği için önemlidir (Sasaki 2005).

1.3. APENDİKÜLER KEMİK KIRIĞI İYİLEŞMESİ

Apendiküler iskeletin kemik kırığı hem intramembranöz, hem de endokondral ossifikasyon ile iyileşir. Endokondral kemik oluşumu, mekanik olarak değişken bölgelerde periostun dışında ve hemen kırılma bölgesine bitişik bölgede baskındır. İntramembranöz kemik oluşumu, kallusun proksimal ve distal kenarlarında subperiosteal olarak meydana gelir ve sert kallus oluşturur (Dimitriou ve ark. 2005). Kırık boşluğu boyunca sert kallusun köprü oluşturması ilk stabilizasyonu sağlar ve biyomekanik fonksiyonun restorasyonuna yol açar (Gerstenfeld ve ark. 2006). Endokondral ossifikasyon, apendiküler iskeletteki kemik oluşumunun mekanizması olduğundan, apendiküler iskelet onarımından öncelikli olarak sorumlu olan mekanizmadır (Runyan ve Gabrick 2017).

Kırık iyileşmesinin ardışık dört evresi histolojik olarak belirlenmiştir (Ai-Aql ve ark. 2008):

1. *Ani inflamatuvar cevap*: Bu evre, kırılma sonrası 24 ila 48 saat içinde ortaya çıkar ve hematoma oluşumu, hemostaz, inflamasyon ve mezenkimal kök hücrelerin (MSC) çağırılması ile karakterizedir.
2. *Erken endokondral ossifikasyon ve periost cevabı ile kırıldak oluşumu*: Bu evrede, MSC'ler, daha sonra kollajen ve proteoglikanlar bakımından zengin bir kırıldak kallusu üreten kondrositlere farklılaşır (Marsell ve Einhorn 2011). Yumuşak kırıldak kallusu, kırığın stabilitesi ile ters orantılı ve kırık içinde asimetrik olarak büyür. Kallus büyümesi kırığı takip eden 7 ila 9 gün arasında zirve yapar (Marsell ve Einhorn 2011). Periost yanıtı erken intramembranöz

ossifikasyonla sonuçlanır ve hücre proliferasyonu ve erken vasküler büyüme ve neoanjiyogenez ile ilişkilidir.

3. *Kıkırdak rezorpsiyonu ve primer kemik oluşumu.* Bu evrede kondrositler çoğalır, olgunlaşır, hipertrofik hale gelir ve hücre dışı matriks içinde biriken kollajen sentezini artırır. Kondrositler apoptoz geçirmeye başladıkça, ek mezenkimal progenitör hücreler toplanır ve OB'lara farklılaşır. Bu, OB'lar, mineralize kıkırdak yerine örgü kemiğin birikimi için bir şablon olarak yumuşak kallusu kullandığından, kallus mineralleşmesine yol açar. Bu başlangıçta kallus etrafında ince bir kemik kabuğu olarak kendini gösterir. Neo-anjiyogenez bu aşamada da devam eder.
4. *Sekonder kemik oluşumu ve yeniden şekillenmesi.* Bu son evrede, kemik kallus büyür ve osteoklastik rezorpsiyon ve osteoblastik kemik oluşumu ile yeniden şekillendirilir ve kemik iliği içeren ve kavite ile orijinal kortikal ve trabeküler düzenlemenin yenilenmesine neden olur (Runyan ve Gabrick 2017).

Bu dört kırık iyileşme evresinin moleküler fizyolojisi Tablo 1.1'de verilmiştir (Ai-Aql ve ark. 2008, Wang ve ark. 2013, Ren ve ark. 2011, Glass ve ark. 2011). Kemik iyileşmesiyle ilgili birçok sitokin ve büyüme faktöründen oluşan üç grup, kemik iyileşmesinin dört aşaması boyunca karmaşık fakat iyi tanımlanmış rollere sahiptir. Bunlar arasında proinflamatuvar sitokinler, TGF- β -süper ailesi üyeleri (BMP'ler dahil) ve anjiyojenik faktörler yer alır. Bu faktörlerin eksikliği kemiğin iyileşme yeteneğinde önemli hasarlara neden olmaktadır (Minear ve ark. 2010).

Rijit fiksasyonun yokluğunda, apendiküler iskelette kırık iyileşmesi, aşamalı olarak kemik ile yer değiştiren bir kıkırdak iskelesinin oluşumuyla gerçekleşir. Bu iyileşme, embriyonik endokondral ossifikasyonun aşamalarına benzer (Ferguson ve ark. 1999). Mezenkimal öncüler, hem endokondral kemikleşme hem de kırık iyileşmesi için oluşacak kemiğin şeklinde ve yerinde bir araya gelir (Hiltunen ve ark. 1993). Her iki süreç de kıkırdaklı veya osteojenik yolak boyunca mezenkimal hücre proliferasyonu, farklılaşması ve hipertrofisini içerir. Süreçler arasındaki belirgin fark, kırık iyileşmesinde MSC'lerin çağırılmasını kolaylaştıran inflamatuvar aşamanın varlığıdır. Bununla birlikte, bu hücreler geldiğinde Hedgehog, VEGF ve MMP de dahil olmak üzere benzer sinyal yolları görev alır (Ferguson ve ark. 1999).

Tablo 1.1. Endokondral Kemik Kırığı İyileşmesi Sırasında Aktive olan Moleküler Yolaklar (Ai-Aql ve ark. 2008)

Kırık İyileşmesinin Aşamaları	Biyolojik Süreç	Sinyal Molekülü Aktivasyonu ve Fonksiyonları
İnflamasyon	Hematom	Dolaşımdaki granüositler ve lenfositler tarafından IL-1, IL-6 ve TNF- α salımı, inflamatuvar hücreleri çağırır, hücre dışı matriks sentezini artırır ve anjiyogenezi uyarır.
	İnflamasyon ve progenitör hücrelerin çağırılması	TGF- β ve BMP-2 ekspresyonu, hücre dışı matriks oluşumunu ve ilk kallus oluşumunu teşvik eder. MMP-9, inflamatuvar hücrelerin dağılımını düzenler.
Kıkırdak oluşumu	Kollajen birikimi	Kıkırdak kallusundaki kondrositler ve periosteal OB' lar tarafından üretilen kollajen tip II ve tip III, inflamasyondan kısa bir süre sonra birikir.
	Kondrojeniz ve endokondriyal ossifikasyon	TGF- β kollajen tip II senteziyle ilişkili olarak kondrojenizi uyarır. BMP-2, kondrosit farklılaşmasını destekler.
	Vasküler büyüme	MMP-9, VEGF varlığını destekleyerek hipertrofik kıkırdak damar invazyonunu teşvik eder. VEGF, doğrudan anjiyogenezi uyarır ve rezorpsiyon başladığında maksimum şekilde eksprese edilir.

	Kondrosit apoptozu ve rezorpsiyonu	TNF- α , mineralize kondrosit apoptozunu ve kırıldak rezorpsiyonunu uyarır ve osteoprogenitör hücrelerin çağırılmasına yardımcı olur.
Primer kemik oluşumu	Kollajen ekspresyonunda değişimler	Kollajen tip II ve tip III, kırıldak kallus rezorbe olurken uzaklaştırılır. Kollajen tip I, kemikli trabeküllerin gelişmesiyle birikir. Hipertrofik kondrositlerin kollajen tip X ekspresyonu kemik oluşumu için bir model sağlar.
	Mezenkimal hücrelerin OB' lara farklılaşması	BMP-2, BMP-6 ve BMP-9 tarafından stimüle edilir.
	OB çağırılması ve olgunlaşma	BMP-3, BMP-4 ve BMP-7 tarafından stimüle edilir.
	Neo-anjiyogenez	VEGF ve PDGF ekspresyonu anjiyogenezi desteklemeye devam eder.
Sekonder kemik oluşumu	Kemiğin tekrar modellenmesi	TNF- α ve IL-1 aktivitesi, lameller kemik oluşumu için örgü kemiğin osteoklast tarafından tekrar modellenmesiyle kemiğin tekrar modellenmesini destekler.

BMP: Kemik morfogenezik protein, FGF: Fibroblast büyüme faktörü, HIF: Hipoksi ile indüklenebilir faktör, IGF: insülin-benzeri büyüme faktörü, IL: interlökin, MMP: Matriks metalloproteinazlar, TNF- α : Tümör nekroz faktörü alfa, VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü.

1.4. KRANİYOFASİYAL KEMİK KIRIĞI İYİLEŞMESİ

Bir tavşan mandibula kırığı modeli, rijit fiksasyonun yokluğunda mandibula kırığı iyileşmesinin uzun kemik kırığı ile bazı histolojik benzerliklere sahip olduğunu

göstermiştir (Craft ve ark. 1974). İki hafta içerisinde hem kondroid, hem de olgunlaşmamış osteoid içeren büyük bir subperiosteal kallus gelişir. Takip eden 2 hafta içinde ise bu kallus yavaş yavaş trabeküler kemik ile değiştirilir ve yeni neovasküler kanallar ve Haversian sistemleri ile tamamen birleşir. Paccione ve arkadaşları benzer şekilde fare çene kırığı modellerinde, rudimenter kırıkta matriksi oluşum adalarının ardışık olarak bulunmasının, vasküler büyümenin, OB aktivasyonunun, mineralizasyonun ve lameller kemik oluşumunun hep birlikte, sekonder kemik endokondral kemik iyileşmesine benzediğini gözlemlemiştir (Paccione ve ark. 2001). Kırıkta ara maddesinin, mandibula kırık modeline katkısının basitçe kemiksiz instabiliteye bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Aslında, uzun kemik kırıklarında instabilite varlığı kırılma bölgesinde artmış hareket ile sonuçlanır, bu da primer kemik iyileşme aşamasında kırıkta kallus oluşumunu teşvik eder (Paccione ve ark. 2001).

Rijit fiksasyonla tedavi edilen yüz kemik kırıklarının histolojik ve moleküler değişikliklerini incelemek için hayvan çalışmaları yapmak güçtür. Bunun birçok nedeni vardır. Kemirgenlerin yüz kemiklerinin küçüklüğü, plak fiksasyonunu engellemektedir. Genellikle kemik iyileşme çalışmaları yapıldığında mikropalak kullanılmamaktadır. Sağlam ve düzgün bir kemik iliği kavitesinin olmaması, intramedüller stabilizasyon kullanımını engeller. Buna rağmen, klinik deneyimler intramembranöz kemikleşme ile gelişen kemiklerin aynı mekanizmalarla iyileştiğine ve bu iyileşmenin genellikle kırıkta bir ara madde yoluyla olmadığına dair güçlü kanıtlar sunmaktadır. Kafatası kırıkları da bu prensibi göstermektedir. Kafa derisi, kalvaryal kırılmayı azaltmak için sıkı bir yumuşak doku örtüsünü sağlarken, kalvaryumun konveksitesi, doğal sert sabitleme sağlayan sağlam bir alt yapı oluşturur. Yüz iskeletinin kemiklerinin çoğu benzer şekilde stabilize edici bir periost ve yumuşak doku kılıfına sahip olduğu için tekrarlanan kuvvetlere maruz kalmaz. Buna karşılık, mandibula mastikasyonla ilişkili döngüsel mekanik yüklenmeye maruz kalır. Bununla birlikte; immobilizasyon , rijit yük taşıma veya yük paylaşım fiksasyonu ile doğrudan ossifikasyon yoluyla iyileşir (Runyan ve Gabrick 2017).

Hasegawa ve arkadaşları, membranöz kemik iyileşmesinde kondrogenez rolünün aleyhinde deneysel kanıtlar sunmuştur (Hasegawa ve ark. 2012). Başlangıçta uzun kemiklerin kırık hematomlarında, multipotent bir mezenkimal progenitör hücre tespit edilmiş ve in vitro ortamda bu hücrelerin osteositlere, adipositlere ve kondrositlere farklılaşma yetenekleri olduğu ortaya konulmuştur (Oe ve ark. 2007).

Daha sonra ise bu insan mandibulasının kırık hematom hücrelerine ait kültür ortamına almıştır. Bu hücrelerin benzer bir mezankimal ekspresyon profiline ve iyi bir osteojenik ve adipojenik potansiyele sahip olmalarına rağmen uzun kemik kırığı hematomlarından izole edilen progenitörlere kıyasla kondrositlere farklılaşma kabiliyetlerinin önemli ölçüde azaldığını tespit edilmiştir (Oe ve ark. 2007).

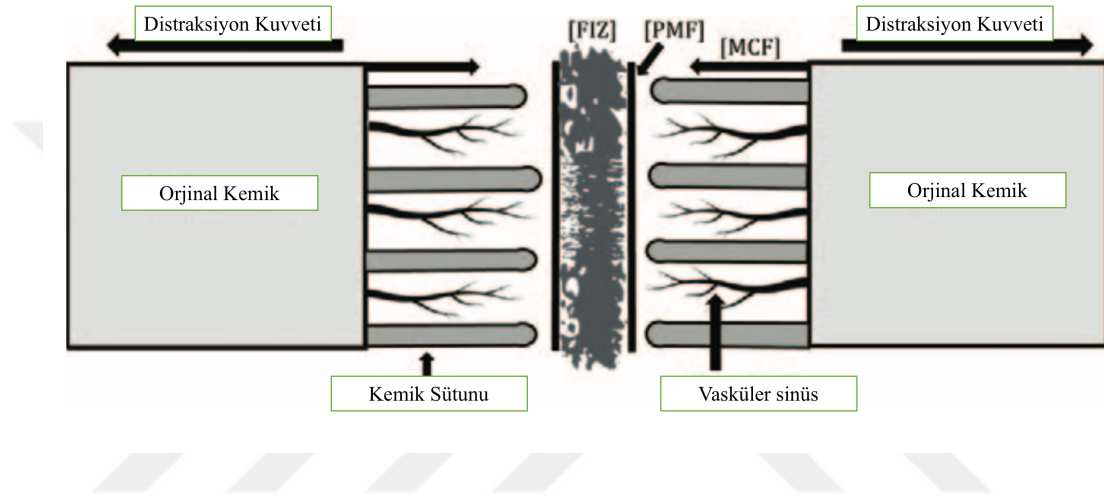
Uzun kemik kırıkları ile karşılaştırıldığında, iyileşen kraniyofasiyal kırıkların moleküler fizyolojisi konusundaki bilgiler oldukça azdır. Mandibula kırığı iyileşmesinin bir sıçan modelinde yapılan deneyler sonucunda, OB göçünde, farklılaşmasında ve çoğalmasında TGF- β 1, BMP-2, BMP-4 ve BMP-7 dahil olmak üzere TGF- β süper aile üyelerinin görev aldığını bulunmuştur (Spector ve ark. 2001).

1.5. KEMİK İYİLEŞMESİNDE DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİNİN FİZYOLOJİK ETKİLERİ

DO uygulanan kemikler, kraniyofasiyal veya apendiküler iskelet içinde olup olmadıklarına bakılmaksızın, kırık iyileşmesinin benzer histolojik özelliklerini paylaşır (Karp ve ark. 1992). Bununla birlikte, DO ve kırık iyileşmesi arasında önemli histolojik farklılıklar mevcuttur. Distraksiyonun latent dönemi, hematoma oluşumu ve inflamatuvar hücrelerin ve MSC'lerin çağırılması ile gerçekleşen erken kırık iyileşmesini andırır (McCarthy ve ark. 2001). Endokondral kemik, distraksiyon boşluğu içinde bulunmasa da endokondral kemik oluşumu, latent dönem sırasında ve distraktör aktivasyonun ilk aşamalarında gözlenebilir fakat periosteum yakınındaki alanlarla sınırlıdır. Jazrawi ve arkadaşları bu gözlemlerle, distraksiyon çevresinin kırıkta gelişimini baskılayabileceğini ileri sürmüştür (Jazrawi ve ark. 1998).

Epifizyal plağa benzer yapıdaki hücreler, distraksiyon boşluğu içinde bir kırıkta kallusu oluşturmak yerine, fibröz interzon (FIZ) adı verilen distraksiyon yönünde yönlendirilen fibrovasküler bir köprü halinde düzenlenir (Şekil 1.4) (Aronson 1994). FIZ, fibroblastlar ve kondrositler arasında morfolojik olarak aracılık yapan kondrosit benzeri hücreler, fibroblastlar ve oval hücreler bakımından zengindir (Aronson 1994, Sato ve ark. 1998). Distraksiyon boşluğu arttıkça FIZ 4 mm kalınlıkta kalır ve işlemin sonunda da kemikleşen son bölgedir. Yüksek yoğunlukta proliferatif OB içeren primer mineralizasyon cephesi (PMF), her iki taraftaki FIZ bitişiktir. Bu OB'lar, yeni oluşturulmuş kılcal damarlar ve vasküler sinüs bölgelerinde primer mineralizasyona uğrar, bu da mikrokolon oluşum bölgesi (MCF) olarak bilinen sarkit

ve dikitlere benzeyen kemik sütunlarının oluşumuna yol açar. Distraksiyon sona erdiğinde, PMF her iki uçtan merkeze doğru ilerleyerek FIZ ile birleşir. Osteoidin ardışık mineralizasyonu, aktivasyon sırasında ve özellikle çevredeki MCF' den başlayarak, daha sonra FIZ ile birleşene kadar devam eden konsolidasyon aşamasında gerçekleşir. Konsolidasyon döneminde yeni kemiğin mineralizasyonu tamamlanır ve kemik iliği ile olgun lameller kemiğinin oluşumuyla sonuçlanan yeniden şekillenme meydana gelir (Runyan ve Gabrick 2017).



Şekil 1.4. DO ile kemik iyileşmesinin neo-fiziği. FIZ, fibröz interzon; MCF, mikro kolon oluşumu; PMF, primer mineralizasyon cephesi (Runyan ve Gabrick 2017).

Kemik oluşumunun baskın mekanizmaları iki çeşittir. İlki, Yasui ve ark. tarafından tanımlanmıştır (Yasui ve ark. 1997). Sıçanda distrakte edilmiş femurların fibröz interzonlarının, kemikli bir matris içinde kondrosit-görünümlü hücreler içerdiğini, ancak endokondral ossifikasyonda bulunan kılcak büyümenin buralarda gerçekleşmediği gözlemlenmiştir. Kondrositlere benzer şekilde, bu kondroid hücreler tip II kollajen ekspres eder; bununla birlikte tip I kollajen ekspresyonu da gerçekleşir, bu da kondrosit benzeri hücrelerin OB' lara doğrudan dönüşümünü akla getirmiştir (Li ve ark. 2000). Yasui, bu olguya "transkondroid kemik formasyonu" adını vermiş ve yeni bir kemik formasyonu tipini temsil ettiğini öne sürmüştür. Bununla birlikte Yasui ve arkadaşları, DO sırasında kemik oluşumunun baskın mekanizmasının intramembranöz kemikleşme olduğunu ve kırıkdağın histolojik yokluğu ve sadece tip I kollajen ekspresyonu ile diğer mekanizmalardan ayırt edilebildiğini gözlemlemiştir

(Runyan 2017). Ultrastrüktürel düzeyde, tip I kollajenden oluşan düzensiz demetler latent döneminin sonunda ortaya çıkar (Hamanishi ve ark. 1994). Distraksiyon başladıkça, bu demetlerin boyutu artar ve distraksiyon kuvvetine paralel bir düzlemde oryante olurlar (Ilizarov 1992, Karp ve ark. 1992). Osteoid daha sonra bu kollajen demetleri boyunca kortikotomi kenarlarında ve distraksiyon boşluğu içinde yer alan OB' lar tarafından biriktirilir (Ilizarov 1992).

1.6. KEMİK İYİLEŞMESİNDE DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİNİN MOLEKÜLER ETKİLERİ

DO uygulanacak kemiğe başlangıçta osteotomi yapılır. Bu nedenle, immediyat postosteotomi (latent) evresi sırasındaki moleküler profil kırık iyileşmesine benzer (Ai-Aql ve ark. 2008). Proinflamatuvar sitokinlerde interlökin (IL)-1 ve IL-6, ilk aşamada upregüle edilerek ekstrasellüler matriks sentezi ve inflamatuvar hücrelerin çağırılmasını teşvik eder (Cho ve ark. 2007). Bu progenitörlerin osteojenik ve kondrojenik yönde farklılaşması, erken BMP-2 ekspresyonu ile benzer şekilde uyarılır. Ayrı bir proinflamatuvar marker olan tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) latent periyot sırasında eksprese edilmez, çünkü induksiyonu basit bir osteotomiden daha büyük travmatik bir etken gerektirir (Runyan ve Gabrick 2017).

Distraktör aktivasyonu ile moleküler ekspresyon profili, kırık iyileşmesinden çok farklıdır. IL-6, distraksiyon başladığında ve ikinci olarak kallusa mekanik kuvvet uygulandığında upregüle edilir. Bu sırada ekspresyonu OB' larda, kondrositlerde ve çekme geriliminin en yüksek olduğu (FIZ) içerisindeki oval hücrelerde yüksektir. IL-6'nın upregülasyonunun, osteojenik farklılaşmayı artırarak intramembranöz ossifikasyona katkıda bulunduğu ve IL-6'nın DO' da anabolik etkisi ve kırık onarımında katabolik etkisi olduğu düşünülmektedir (Cho ve ark. 2007).

TGF- β -süper aile üyeleri de, distraksiyonun aktivasyonu sırasında upregüle edilir. TGF- β 'nın, distraksiyon yapılmayan osteotomilere kıyasla, distraksiyon yapılan mandibulalar da arttığı (McCarthy ve ark. 2001), mandibular distraksiyondaki artış oranıyla TGF- β ekspresyonu arasında doğrudan bir korelasyon olduğu gözlenmiştir (Farhadieh ve ark. 1999). Distraksiyon sırasında TGF- β , OB proliferasyonunu desteklerken, OB olgunlaşmalarını bastırır ve farklılaşmalarını etkili bir şekilde geciktirir. Böylece yeni kemik oluşumunu teşvik eder (Lammens ve ark. 1998). BMP-2 ve BMP-4 ekspresyonu, hem osteotomiden hemen sonra başlar, hem de downregüle

edilerek daha sonra distraksiyon aktivasyonu sırasında yüksek oranda yeniden eksprese edilir. Bu BMP'ler özellikle PMF'deki kondrojenik hücrelerde ve fibröz interzondaki oval hücrelerde, mekanik kuvvetin uygulanmasına cevaben upregüle edilir (Sato ve ark. 1999). BMP'ler aktif distraksiyon boyunca korunurlar, ancak daha sonra konsolidasyon sırasında yavaş yavaş azalır ve ortadan kalkarlar, bu da kemik iyileşmesinin tamamlanması için gerekli hücrelerin çoğalmasında rol oynar. Buna paralel olarak, ekzojen BMP-2 uygulanması, konsolidasyon aşaması sırasında kemik oluşumunu hızlandırarak DO'da tedavi süresini kısaltır (Yonezawa ve ark. 2006). Diğer faktörlerin aksine BMP-6 ekspresyonu FIZ içindeki kondrositler ile sınırlıdır, latent periyot aşamasında başlar, ve daha sonra aktivasyon aşamasında azalır. BMP-6'nın down-regülasyonu, ossifikasyonun ilk şekli endokondralden intramembranöze geçiş sırasında meydana gelir ve endokondral kemik oluşumuna katkıda bulunur (Sato ve ark. 1999).

Distraktör aktivasyonu sırasında artan mekanik zorlamaya yanıt veren iki ek büyüme faktörü tanımlanmıştır. İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF)-1 ve FGF-2, PMF etrafında yüksek oranda eksprese edilir ve konsolidasyon sırasında sıralı down-regülasyondan önce OB farklılaşmasını destekleyebilir (Farhadieh ve ark. 1999).

Kırık iyileşmesinde olduğu gibi, DO'nun oluşturduğu kemiğin tekrar modellenmesine ve olgun lameller kemiğin oluşturmaya yardımcı olmak için osteoklastogenez gereklidir. NF- κ B ligandının reseptör aktivatörü (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) sisteminin, DO sırasında dengeli kemik döngüsü için ana regülatör olduğu düşünülmektedir (Pe'rez ve ark. 2010). Kırık iyileşmesinde olduğu gibi, yüksek bir RANKL / OPG ekspresyon oranı osteoklastogenezini desteklemektedir. RANKL / OPG oranı, latent periyot sırasında artar ve konsolidasyon aşamasında en üst düzeylere ulaşırken en büyük oran, konsolidasyonun 3 ila 4. haftalarında gerçekleşir (Pe'rez ve ark. 2010). Osteoklastların TNF- α ile aktivasyonu, kırık iyileşmesi sırasında meydana gelir; ancak DO'da konsolidasyonun geç aşamalarına kadar eksprese edilmez, bu da RANKL / OPG'nin kemik döngüsü ve olgunlaşması için birincil rolü oynadığını gösterir (Gerstenfeld ve ark., 2003). Osteokalsin, olgun OB' lar tarafından eksprese edilir ve mineralizasyonu teşvik eder. Latent döneminde normal kemikle karşılaştırıldığında osteokalsinin ekspresyonu belirgin şekilde azalır. Osteokalsin seviyeleri distraksiyon sırasında, konsolidasyonun sonuna doğru normal seviyelere ulaşana kadar kademeli olarak artar (Sato ve ark. 1998). Aksine,

distraksiyon ile uzamış mandibulalardaki osteokalsin, distraksiyondan 6 hafta sonra önemli ölçüde artmaz. Bu da kemik rejenerasyonundaki eksikliklerin, kemik iskelesi üretiminin azalmasına ek olarak, mineralizasyon/kemik dönüşümündeki bozukluklardan kaynaklandığını göstermektedir (Runyan ve Gabrick 2017).

1.7. DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİNDE ANJİYOGENEZ

Anjiyogenez, DO için temel bir süreçtir. Anjiyogenez kimyasal olarak inhibe edildiğinde, kemiğin iki kesik ucu arasında kan ve kan damarı eksikliği meydana gelir, bunun sonucunda fibröz kaynamamış bir bölge oluşur (Fang ve ark. 2005). Mekanik Distraksiyon, kırık iyileşmesine kıyasla çok daha büyük bir anjiyojenik tepkiye neden olur (Ai-Aql ve ark. 2008). Aktivasyon sırasındaki kan akışının, kantitatif teknetin sintigrafisi ile ölçüldüğünde normal kan akışının 10 katına kadar yükseldiği görülmüştür (Aronson 1994). Histolojik olarak, periost ve endosteal damarlar, yeni gelişen kemiğin yanında fibröz interzona doğru kolonlar oluşturur. FIZ içerisinde kapillerler, hem sinüzoidal hem de transport kapiller anjiyogeneziyle oluşturulur. Konsolidasyon sırasında, periosteal ve medüller vasküler ağları, FIZ da dahil olmak üzere distraksiyon bölgesinde bağlantılar kurar (Choi ve ark. 2002). Aktivasyon sırasında yeni damar oluşumu başlasa da, konsolidasyon sırasında azami damar hacmi artışı meydana gelir, bu da anjiyogenez ile kemik oluşumu arasında bir bağlantı olduğunu gösterir (Morgan ve ark. 2012).

Aktivasyon aşamasında VEGF ailesi üyeleri arasından sadece VEGF-A ve nöropilin (bir VEGF reseptörü) önemli ölçüde upregüle edilir. VEGF-D latent periyot süresi boyunca kısa bir süre upregüle edilir, daha sonra azalır (Carvalho ve ark. 2004). VEGF-A, PMF içindeki olgunlaşan OB' larda ve MCF bölgesindeki osteoklastlarda eksprese edilir ve distraksiyon boşluğunun bu bölgesinde anjiyogenezi yönlendirir. Bir tibial DO modelinde VEGF sinyalleşmesinin kısmi blokajı, intramembranöz ossifikasyonun blokajı ile sonuçlanmış, ancak kondrogenezi mümkün kılmıştır. Ancak VEGF'in tam blokajı hem osteogenezi, hem de kondrogenezi inhibe etmiştir (Jacobsen ve ark. 2008). DO sırasındaki primer VEGF-A kaynağı, çevre kaslar içindeki mezenkimal hücrelerdir. Daha sonra kan damarları distrikte kemikte kemik oluşumunu teşvik eden morfogjenleri (örneğin BMP-2) sentezler (Matsubara ve ark. 2012). VEGF-A'nın üst aktivatörü HIF-1 α , kemikte kırık iyileşmesi ile karşılaştırıldığında distraksiyonda belirgin şekilde upregüle edilir. Bu da HIF-1 α 'nın

hedefleri olan alt genlerin çoğunun (örneğin, VEGF-A), DO sırasında yeni kemik oluşumunu teşvik etmedeki ana rolünü gösterir (Pacicca ve ark. 2003). Morgan ve arkadaşları, aktif distraksiyon sürecinin öncelikle çevre kastaki arteriyojenez ile karakterize olduğunu, konsolidasyon sırasında, anjiyogenezin intraosteal bölgede baskın olduğunu, damar oluşumunun çevre kastan yenilenme bölgesine ilerlettiğini keşfetmiştir. Yoğun osteogenez dönemleri, anjiyogenez ile eş zamanlı gerçekleşir (Morgan ve ark. 2012).

1.8. KIRIK İYİLEŞMESİYLE KEMİK OLUŞUMUNU DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

DO, kırık iyileşmesinin bazı fizyolojik yollarının bir kısım yönlerini paylaşır ancak açıkça farklı bir süreçtir. Bu iki sürecin histolojik olarak karşılaştırılmasıyla kolayca anlaşılabilir (Ai-Aql ve ark. 2008). Apendiküler iskeletin kırılmasından kısa bir süre sonra kemik dışında sağlam bir kırıkta kallus oluşur ve kırığı dengeler. DO'da, çok daha az kırıkta kallus oluşur ve varlığı, distraksiyonun başlamasının ardından erken dönemlerle geçici olarak sınırlıdır, daha sonra hızlı bir şekilde ortadan kalkar. Distrakte kemik ayrıca distraksiyon boşluğunun merkezi bölgesinde büyük miktarlarda mineralize olmayan osteoid içerir, oysa endokondral kemiğin kırık kallusu, primer kemik iyileşmesine maruz kaldıkça hızla kalsifiye olur. Bragdon ve ark. distraksiyon sırasında kırıkta oluşum eksikliğinin endosteum içinde bulunan öncül hücrelerin popülasyonundan kaynaklandığını düşünmektedir (Bragdon ve ark. 2015). Endosteal hücreler osteojenik soy ile sınırlıdır, ancak hem kırık iyileşmesine hem de DO'ya katkıda bulunan periosteum, hem kondrositlere hem de OB'lara farklılaşabilen prekürsör hücrelere sahiptir (Colnot 2009).

Anjiyogenez, hem kırık iyileşmesi, hem de DO için kritiktir. VEGF'ler her iki işlem sırasında ekspresyon edilir, ancak kırık iyileşmesi sırasında daha fazla ekspresyon gösterirler. VEGF reseptörünün gen ifadesinin durdurulduğu çalışmalar, DO sırasında hem anjiyogenez hem de osteogenezin, VEGF reseptörleri 1 ve 2'nin aktivitesine bağlı olduğunu göstermiştir (Jacobsen ve ark. 2008). Aynı zamanda, bir kırık iyileşme modelinde VEGF'nin inhibisyonu, iyileşmenin gecikmesine neden olmuş ve kartilaginöz kallustan kemikli kallusa geçişte başarısızlık göstermiştir (Street ve ark. 2002). Kırık iyileşmesinde anjiyogenez, kondrojenik dokular rezorpsiyona uğradığı 7-14 günleri arasında başlar (Ai-Aql ve ark. 2008). Bununla birlikte, DO sırasında,

anjyogenez, yalnızca aktif distraksiyon başladıktan sonra başlar ve kondrositlerden salınan sinyallerden ziyade distraksiyon işlemi tarafından yönlendirildiği düşünülmektedir (Bragdon ve ark. 2015). Yeni damarların çoğunluğunun, distraksiyon rejenerasyon bölgesinde medüller boşluk içinde oluşması bu teoriyi desteklemektedir (Pacicca ve ark. 2003). Kırık iyileşmesinin aksine, eksternal kallus içerisinde yeni damar oluşumu meydana gelir ve bu da kırıkta kemiğe geçişle ilişkilidir (Duvall ve ark. 2006).

Bazı açılardan DO, embriyonik kemik gelişimine kırık iyileşmesinden çok daha fazla benzemektedir. DO sırasındaki kemik oluşum hızı, 200 ila 400 $\mu\text{M}/\text{d}$ 'dir, ergenlikte en hızlı fizyol büyümeden 4-8 kat daha hızlıdır ve fetal femur ile eşdeğerdir (Aronson ve ark. 1990). Ayrıca, kemik gelişimi için önemli olan yolakların DO sırasında farklı şekilde düzenlendiğine dair bazı kanıtlar mevcuttur. Shibazaki ve ark. distrikte mandibular kondiller içindeki paratiroid hormonla ilişkili peptid (PTHrP) aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir (Shibazaki ve ark. 2005). Kasaai ve arkadaşları, bir fare tibial distraksiyon modelinde Wnt sinyal faktörlerinde önemli artışlar bulmuşlardır (Kasaai ve ark. 2012). Hedgehog sinyalizasyonu, kalvaryal distraksiyonunun tavşan modelinde de değiştiği saptanmıştır (Nott ve ark. 2002).

DO, apendiküler ya da kraniyofasiyal iskelette gerçekleşmesine bakılmaksızın, intramembranöz ossifikasyon sırasındaki kemik oluşumu ve kırık iyileşmesine benzediği söylenebilir. DO sırasında intramembranöz kemik oluşumu, kraniyofasiyal kemik gelişimi veya iyileşmesi ile aynıdır, ancak anjyogenez yüksek oranda görülür (Runyan ve Gabrick 2017).

Kemik gelişimi, kırık iyileşmesi ve DO' nun kapsamlı bir şekilde anlaşılması, tekniğin endikasyonlarının iyileştirilmesi ve genişletilmesi için fırsatlar sağlayacaktır. DO, hızlı anjyogenez olan intramembranöz kemik oluşturmak için uygun osteoindüktif sinyaller kullanan doğal bir kemik mühendisliği şeklidir. Bu tekniğin zaten apendiküler ve kraniyofasiyal iskeletin kemiklerinin uzamasında klinik olarak etkinliği gösterilmiştir. Kritik büyüklükteki defektler ortopedik ve maksillofasiyal cerrahi için önemli zorluklar çıkarabilir. DO, standart osteotomilere ve greftlerle kemik uzamasına kıyasla daha güvenli ve daha az invaziv, alternatif bir tekniktir. Daha hızlı vaskülarizasyon ve düşük başarısızlık oranı ile ilişkilidir. Ek olarak, DO, üstteki yumuşak dokuyu aşamalı olarak genişletir ve aktivasyondan önce kemiğin dura veya

periosteumdan tam diseksiyonu gerektirmez. Bu avantajlar, bu tekniğin, apendiküler ve kraniyofasiyal iskeletteki doğuştan veya travmatik defektlerin tedavisi için geniş kabul görmesini sağlamıştır (Runyan ve Gabrick 2017).

1.9. DİSTRAKSİYON OSTEOGENEZİNDE ADJUVAN TEDAVİLER

DO, kemik rekonstrüksiyonu için tercih edilen bir yöntem olmasına rağmen ana dezavantajlarından biri uzun tedavi protokolüdür (Joss ve ark. 2013). Teknikteki gelişmelere ve cihazların teknolojik gelişmelerine rağmen, DO ile ciddi komplikasyonlar uzun tedavi protokolü ile ilişkilidir. Günlük distraksiyon oranını artırarak veya latent ve konsolidasyon periyodun süresini kısaltarak, genel tedavi süresi ve komplikasyonları azaltılabilmektedir (Zhu ve ark. 2011).

Adjuvan tedavilerin DO üzerindeki etkileri, bu alandaki ortak araştırma alanlarından biridir. Son yıllarda yapılan araştırmalar, DO'nun uzun tedavi protokolünü kontrol etmeye ve süresini azaltmaya odaklanmıştır. Geçmişte birçok çalışmada hormonlar, farmakolojik ajanlar, gen tedavileri ve kök hücreler ve farklı mekanik stimülasyon teknikleri bu tedaviler arasında yer almıştır (Alp ve ark. 2017). Ayrıca DO sırasında kemik üzerindeki anabolik etkinin artırılmasına odaklanan çeşitli çalışmalarda adjuvan tedavi olarak demineralize kemik matriksi (Hagino ve ark. 1999), osteoformin (Dayisoğlu ve ark. 2016), OB benzeri hücreler (Tsubota ve ark. 1999), büyüme faktörü (Okazaki ve ark. 1999), hormon (Raschke ve ark. 1999), sistemik ve lokal bisfosfonatlar (Alp ve ark. 2017, Tekin ve ark. 2008), düşük düzeyde lazer terapi (Kocuyigit ve ark. 2012), elektrik ve ultrasonik stimülasyon (Kawamoto ve ark. 2005), kalsiyum sülfat (Al Ruhaimi 2001) gibi pek çok yöntem kullanılmıştır. Bahsedilen adjuvan tedavi çalışmalarının sonucunda, yeni kemik oluşumunun hızlanması açısından bazı olumlu sonuçlar alınmasına rağmen, birçoğu rutin günlük uygulamaya girememiştir (Alp ve ark. 2017, Dayisoğlu ve ark. 2016).

DO'da nöropeptid hormonların adjuvan tedavi olarak kullanılması nadirdir. Umer ve arkadaşları DO'da insan paratiroid hormonunun sentetik formu olan teriparatidin, sıçan modelinde düşük dozda sistemik olarak uygulanmasının kemik oluşumundaki rolünü inceledikleri çalışmada, hormon tedavisinin yeni kemik oluşumunun boyutunda ve toplam mineral içeriğinde önemli bir artışa yol açtığını göstermiştir (Umer ve ark. 2014). Teriparatid tedavisinin DO'da yeni kemik oluşumu üzerindeki bilinen anabolik etkilerini doğrulamışlardır. Teriparatid ile yapılan başka

bir çalışmada ise sıçanların kırık femurlarına uygulanan tedavinin, kemik mineral yoğunluğunu ve içeriğini arttırdığı gösterilmiştir (Komatsubara ve ark. 2005). Düşük dozlu rekombinant insan paratiroid hormonu ile hızlı mandibular DO olan bir tavşan modelinde hormon uygulaması sadece yeni kemik oluşumunu arttırmakla kalmamış, aynı zamanda hızlı mandibular DO sonrasında çevre segmentlerin fiksatorle ilişkili osteoporozunu önleyebilmiştir (Ye ve ark. 2017). Wagner ve arkadaşları enfeksiyondan sonra tibial defekti olan ve DO uygulanan on altı hastada uzun dönem teriparatid tedavisinin, konsolidasyon aşamasındaki klinik etkilerini araştırdıkları çalışmada teriparatidin, tedavi uygulanmayan hastalarla karşılaştırıldığında rejeneratın mineralizasyon hızını ikiye katladığını ortaya koymuşlardır (Wagner ve ark. 2019).

Do'nun hayvan modellerinde bir sentetik trombin peptidi olan TP508'in kırık boşluğuna enjeksiyonu kemik oluşumu ve konsolidasyonun güçlendirilmesiyle sonuçlanmıştır (Cakarar ve ark. 2010). Benzer modellerde kemik OB sayısının yanı sıra kemik kalitesinde de artışlar görülmüştür (Wang ve ark. 2008). Osteoklastogenezi baskıladığı bilinen melatonin, sıçanlarda mandibular DO sırasında sistemik uygulamasının yeni kemik oluşumu üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada, histolojik ve histomorfometrik analizler, yüksek dozda melatonin alan sıçanlarda distrakte kemik bölgesinin en çok yeni kemik oluşumu sergilediği gösterilmiştir (Acikan ve ark. 2018). Melatonin gruplarında kontrole kıyasla daha fazla osteoklast ve OB' lara rastlanmış ve osteopontin ve VEGF seviyeleri daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışma sistemik melatonin uygulamasının DO'da yeni kemik oluşumunu artırabileceğini göstermektedir (Acikan ve ark. 2018).

Distraksiyon boşluğundaki kemik oluşumunun ameliyattan 18 ila 24 gün sonra en aktif olduğu göstermiştir. Kemik oluşumunu arttırıcı tedavilerin bu zaman dilimine odaklanması gerektiği ileri sürülmektedir. OB'lar nöropeptit hormon tedavileri için hedef hücrelerdir; distraksiyon fazı boyunca pluripotent hücreleri içeren immatür dokudaki varlıkları bilinmemektedir. Bir araştırma hem distraksiyon, hem de konsolidasyon aşamalarında hormon uygulanmasının sadece konsolidasyon aşamasında vermekten daha avantajlı olmadığını göstermiştir (Aleksyniene ve ark. 2009). İlacın tedavi süresi boyunca verilmesi çok uygun olmayabilir. Bu nedenle, düşük doz hormonların farklı distraksiyon ve konsolidasyon aşamalarındaki etkileri ileri çalışmalarda desteklenmelidir (Umer ve ark. 2014). Ayrıca bildiğimiz kadarıyla, DO'da OT'nin kemik rejenerasyonu üzerindeki etkilerini araştıran herhangi bir

deneysel çalışma yoktur ve OT'nin DO üzerindeki etkisi hala belirsizliğini korumaktadır.

1.10. OKSİTOSİN

Oksitosin (OT), dokuz amino asitten oluşan bir merkezi sinir sistemi nöropeptid hormonudur. OT sentezi hipotalamusta başlar, burada paraventricüler nükleus ve supra-optik nöronlar yüksek düzeyde OT eksprese eder ve posterior hipofiz bezinden salınır (Viero ve ark. 2010). OT, biyolojik olarak vazopressine benzer (aynı zamanda antidiüretik hormon olarak da bilinir) ve her iki hormon da bazı fonksiyonları paylaştığı için genellikle paralel olarak çalışır. Başlangıçta uterus ve süt salınımı ile sınırlı bir rol oynadığı düşünülen bu hormon Yunanca'da hızlı doğum anlamına gelen OT ile adlandırılmıştır (Grigor'eva ve Golubeva 2010). Ancak ileri araştırmalar cinsiyet ve organ sistemlerindeki işlevlerinin anlaşılmasını sağlamıştır. Fiziksel işlevine ek olarak OT'nin, stres ve güven, kaygı, sosyal etkileşim ve bağlanma ve ebeveyn bakımı gibi sosyal davranışlar üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu ve dolayısıyla bu sosyal davranışlara bağlı nöropsikiyatrik bozukluklar üzerinde de önemli bir etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. İlginç bir şekilde, ortaya çıkan kanıtlar OT'yi, kanserogenezdeki bazı çelişkili rollerle ilişkilendirmiştir; çünkü OT gelişimi teşvik ederken tersine, kanserle ilişkili hücresel fonksiyonel olayların engellenmesinde de rol oynamaktadır (Lerman ve ark. 2018).

OT, etkilerini temelde iyi karakterize edilmiş tek bir reseptör aracılığıyla uygular. OT reseptörü, yedi adet transmembran domainli, G proteine bağlı sınıf I reseptörüdür ve OT, OT agonistleri ve antagonistleri ve ayrıca vazopressin gibi birkaç ligand tarafından bağlanabilir (Gimpl ve Fahrenholz 2001). Bu reseptörler endometriyum, miyometriyum, trofoblast, OB'ar, reproduktif organlar ve tüm merkezi sinir sistemi'de bulunur. OT reseptörünün efektörleri değişebilir. Birincil sinyal mekanizmaları tam olarak açıklanmamasına rağmen, son çalışmalar OT reseptörünün ana mitojenik sinyal mekanizmasının Gq alfa alt ünite proteinini (Gαq) / fosfolipaz C (PLC) / inositol 1, 4, 5 trifosfat (InsP3) yolağını içerdiğini göstermektedir. Bu aktivasyon sayesinde G proteini, PLC-B'ye bağlanır ve hücre içi depolardan kalsiyum salınımına yol açar (Vrachnis ve ark. 2011), örneğin uterusu veya meme bezinin mioepitelyal hücrelerinde düz kas kasılmalarını tetikler (Arrowsmith ve Wray 2014).

Uterusun OT'ye duyarlılığı doğum başlangıcında artar ve doğum sonrası uyarımı daha etkili hale gelir. Bu nedenle, ekzojen OT uygulaması aynı zamanda doğumu indüklemek için klinik olarak kullanılır. Parturisyonun akabinde, OT reseptörlerinin yoğunluğu azalır. Laktasyonda, bebek emmeye başladığında OT yolu aktive olur (Zingg ve Lefebvre 1988). Meme ucundan omuriliğe duyuşsal bir impuls gönderilir ve oradan da hipotalamustaki oksitosinerjik nöronlara iletilir. Bu nöronlar, kan akışına önemli miktarda OT salınımına yol açan, sonradan miyoepitelyal hücrelerin kasılmasıyla süt atılmasını sağlayan aksiyon potansiyelleri oluşturur (Gimpl ve Fahrenholz 2001).

OT'nin üreme fonksiyonu kadınlarla sınırlı değildir, seminifer tübüller, epididim ve prostat bezinin kontraktilesini tetiklediği bilinmektedir (Thackare ve ark. 2006). Testislerde üretimi nedeniyle OT'nin, prostat bezinde özellikle büyüme ve kas kasılma durumunun parakrin düzenleyicisi olduğu kaydedilmiştir (Nicholson 1996). Erkeklerde OT'nin ereksiyona yol açtığı ve boşalmada rol oynadığı düşünülmektedir (Andersson 2011). Spesifik olarak prostatta, OT'nin prostatik düz kas hücre kasılmasını indüklediği öne sürülmüştür (Bodanszky ve ark. 1992). Ejakülasyonda tahmin edilen rolü, sperm salınımını teşvik etmek için üreme sisteminin uyarılmasını içerir (Thackare ve ark. 2006).

1.10.1. Oksitosin ve Kemik

Kalsiyumun hamilelik ve emzirme döneminde maternal iskeletten mobilize olması (Kovacs 2001), bu fonksiyonları düzenleyen aynı hormonun iskelet homeostazisini de kontrol edebileceği varsayımı, iskelet üzerinde OT'nin direkt anabolik etkisinin keşfedilmesine yol açmıştır. Ayrıca, intraserebroventriküler OT enjeksiyonlarının kemik anabolizminin arttırılmasındaki başarısızlığı, etkinin periferik fonksiyonundan kaynaklandığını göstermiştir (Tamma ve ark. 2009).

Endokrin iskelet düzenleyicileri olarak hipofiz hormonlarının üzerine yapılan geniş popülasyonlu büyük çalışmalar, menopoz geçişi boyunca hormon düzeylerini, kemik mikroyapısı ve kemik dönüşüm markerlarının ölçüleriyle fark edilmiştir (Sowers ve ark. 2006). Aslında, hipofiz-kemik ekseninin önemi iyi bilinmektedir. Büyüme hormonu (GH) (Menagh ve ark. 2010), folikül stimüle edici hormon (FSH) (Sun ve ark. 2006), tiroid-stimüle edici hormon (TSH) (Abe ve ark. 2003), prolaktin (PRL) (Seriwatanachai ve ark. 2008), OT (Tamma ve ark. 2009) ve vazopressin

(Tamma ve ark. 2013) gibi birçok hipofiz hormonunun iskelet homeostazisini düzenlediği gösterilmiştir. Ayrıca, hipofiz hormonları veya reseptörleri için haplo yetersiz farelerde yapılan deneyler, hormon seviyelerinin düşmesinin iskeleti ciddi şekilde etkilenirken, primer hedef organın hasarlanmadığını ortaya koymuştur. Bu da kemiğin hipofiz hormonu kontrolüne karşı daha fazla hassas olduğunu göstermiştir (Tamma ve ark. 2009, Tamma ve ark. 2013). Özellikle, iskelet sistemi memeye kıyasla OT etkisine karşı daha hassastır, çünkü OT ve reseptörü açısından haplo yetersiz farelerin normalde laktasyona devam ederken ciddi osteopeni gösterdiği kaydedilmiştir. Bu son bulgular, sadece hipofiz bezinin yeni işlevlerini güncellemekle kalmamış aynı zamanda bazı osteoporoz türlerinde yeterince anlaşılamayan mekanizmaları da açıklamıştır (Colaianni ve ark. 2014).

1.10.1.1. Oksitosinin İskelet Sisteminde Anabolik Etkileri

Deney hayvanları ile yapılan araştırmalarda OT geni veya OT reseptörü geni bozulmuş veya silinmiş farelerde her iki cinsiyette de yaşla birlikte osteoporozun arttığının görülmesi OT'nin iskelet sisteminde anabolik etkileri olduğunu ortaya koymuştur. Histomorfometrik ve mikro bilgisayarlı tomografi (mikro-BT) çalışmaları, kemik oluşum hızında belirgin bir azalma eşliğinde, heterozigot farelerde zaten belirgin olan vertebral ve femur trabeküler hacminde belirgin bir azalma olduğu görülmüştür. Hem OB'lar hem de osteoklastlar OT reseptörlerini eksprese edebilmektedir. OT ve reseptörü silinmiş ve farelerden alınan OB'larda, in vitro ortamda mineralize nodüllerin azaldığı ve OB farklılaşmasına katılan ana genlerin tümünün negatif şekilde düzenlendiği ortaya çıkmıştır. Rekombinant OT uygulanması, BMP-2 ve aktive edici transkripsiyon faktörü-4 (ATF-4) yollarının upregülasyonunu indükleyerek OB mineralleştirici bir fenotipe doğru gelişimini arttırmıştır (Tamma ve ark. 2009).

Kemik hücrelerinde OT etkisine aracılık eden sinyalleşme, hücre içi depolardan Ca^{+2} salımını ve ERK sinyalini tetiklenmesini içerir. Bu hücre içi kalsiyum artışı iki farklı şekilde gerçekleşir: OB' larda hemen başlangıç çizgisine geri dönen tek bir ani çıkış ve osteoklastlarda daha yavaş fakat uzun süreli bir artış. Kemik hücreleri arasındaki iletişim ile ilgili olarak OT tedavisi, olgun OB' larda OPG ekspresyonunu azaltırken, RANKL' yi arttırmış ve osteoklast farklılaşmasını uyarmıştır. OT'nin osteoklastlar üzerindeki ikili etkisi, NF- κ B ve MAPK sinyalini aktive ederek doğrudan veya

RANKL' nin regülasyonu yoluyla dolaylı olarak meydana gelir. Öte yandan OT, sitozolik Ca^{+2} salınımını ve nitrik oksit sentezini tetikleyerek kemik rezorpsiyonunu inhibe eder (Tamma ve ark. 2009). Kemik rezorpsiyonunda geçici düşüslere bağlı artmış osteoklastogenezin bu belirgin paradoksu, reseptörlerinin down-regülasyonuna bağlı OT' nin siklik aktivitesi ışığında açıklanabilir. Fizyolojik sebebi hamileliğin son evreleri ve doğum sonrası gibi dönemlerde fetal iskelet mineralizasyonu ve laktasyon için gerekli dolaşımdaki kalsiyumun döngüsel mevcudiyeti olabilir. Bu nedenle, hamilelik ve laktasyonun son evresinde, anne iskeletinden yaklaşık 120 g kalsiyum kaybettiği sırada, maksimum fetal ve postnatal kemik büyümeleri meydana gelir (Kovacs 2001). Laktasyon sırasındaki kemik yoğunluğunun analizi, trabeküler bölgelerdeki lomber omurga, kalça, femur ve distal radiusta kemik mineral içeriğinde %3-10'luk bir azalma olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca kortikal bölgelerde daha da küçük bir azalma gözlenmiştir (Kovacs ve Kronenberg 1997). Postmenopozal osteoporozu olan kadınlarda yılda % 1-3'ten daha fazla miktarda kemik kaybı görülür. Aynı zamanda laktasyon sırasında hormonal adaptasyonlara bağlı düşük östrojen ve PTHrP seviyeleri bu maternal hiperrezorpsiyonu ve nesiller arası kalsiyum transferini kolaylaştırır (VanHouten ve Wysolmerski 2003). Hamile ve emziren kadınlar bu nedenle, yaşam boyu en hızlı kemik kaybına maruz kaldıkları zaman ilk 6 aydır ve kemiğin özellikle trabeküler bölgelerde %10'a kadarını kaybederler (Ritchi ve ark. 1998). Bununla birlikte, çok kısa bir akut kemik kaybı döneminden sonra, annenin iskeleti hızlı bir şekilde iyileşir ve bu gerçekleşmezse, hamilelik ve emzirmeden kaynaklanan osteoporoz oluşabilir (Sowers ve ark. 1995). Hormonal adaptasyonlar, fetal iskeletin anne karnında mineralize olduğu bu önemli nesiller arası kalsiyum transferi sürecini düzenler (Colaianni ve ark. 2014).

OT' nin hamilelik ve emzirme döneminde iskelet sistemindeki doğrudan rolü ortaya çıkana kadar mekanizması, uzun süre bilinmemekteydi. Genetik olarak OT eksikliği olan hamile annelerde osteoklast oluşumunun azaldığı gösterilmiştir (Liu ve ark. 2009). OT' nin maternal iskeletin tekrar modellenmesinde olası rolünü ele alan bir çalışmada, embriyonik 20. gündeki yavrularının iskeletleri analiz edilmiş ve bu yavrular görünüşte kemik / kırıldak defekti olmadan normal iskelet sergilemiştir. Epifizdeki trabeküler kemiğin ölçümleri de total kemik hacmi yüzdesi (kemik hacmi/Total Hacim) (KH/TH) bir fark göstermemiştir. Ancak, trabeküler kalınlıkta (TbKa), herhangi bir değişiklik yapmadan ve dolayısıyla trabeküler boşlukta anlamlı

bir azalma olmadan trabeküler sayı (TbS) önemli ölçüde artmıştır. Değişmeyen KH/TH oranı, daha büyük trabeküler sayılarla bile olsa, her trabekülün OT geni olmayan yavrularda normal yavrulardakinden daha az mineralize olduğunu ya da aslında birim hacim başına toplam mineralin daha düşük olduğunu akla getirmiştir (Liu ve ark. 2009).

Özetle tüm bu sonuçlar OT'nin özellikle hamilelik ve emzirme döneminde, kemikte yüksek hücre aktivitesi oranını korumak için hem oluşan hücrelerin hem de rezorbe hücrelerin çoğalmasını stimüle eden, ancak rezorbe edilen kemik miktarını da kontrol eden kritik anabolik bir öneme sahip olduğunu göstermektedir (Colaianni ve ark. 2014).

OT'nin iskelet üzerinde doğrudan etkiye sahip olduğunu ve OB' lar tarafından lokal sentezinin östrojen aracılığında gerçekleştiğini gösteren bulgular (Colaianni ve ark. 2011, Tamma ve ark. 2009), östrojenin kemik oluşumunu OT aracılığıyla etkileyebileceği mekanizma hakkında daha fazla bilgi sağlamıştır. Son çalışmalar, 17β -estradiolün ovariektomize farelerde kemik kütlesi üzerindeki etkisinin aynı zamanda tam bir OT reseptörü eksenine de bağlı olduğunu göstermiştir (Colaianni ve ark. 2012). Yüksek rezorpsiyonun ve östrojen tarafından inhibe edilmesinin etkilerini azaltmak için, normal kemik rezorpsiyonu ve kemik oluşumuna sahip normal tip fareler kullanılmış ve farelerin OT reseptörlerinden yoksun olup olmadıklarına bakılmaksızın 17β -estradiolün osteoklast parametrelerini etkilemediği tespit edilmiştir. Buna karşılık bu normal tip farelerde OB sayıları, kemik oluşumu ve kortikal ve trabeküler kemik kütlesi, 17β -estradiol ile önemli ölçüde artmıştır. Bu anabolik etki, OT reseptörü silinmiş farelerde, östrojenin kemik kütlesi üzerindeki etkilerinin, en azından kısmen, OT reseptörüne bağlı olduğunu göstermektedir (Colaianni ve ark. 2012).

Östradiolün OT yoluyla kemik hücre aktivitesini düzenlediğini göstermek için, OT reseptörü susturulmuş OB' ar veya OT reseptör geni silinmiş farelerden elde edilen primer hücreler kullanılmıştır (Colaianni ve ark. 2012). Normal tipte ve OT reseptörü eksprese eden hücrelerde östrojen uygulamasından sonra, osteopontin, kemik sialoprotein, osteokalsin, Runx2, Osterix ve ATF4 gibi OB farklılaşma genleri upregüle edilmiştir. Bunun aksine, OT reseptör geni susturulmuş OB'larda ve geni

silinmiş farelerden elde edilen primer hücrelerde böyle bir cevap görülmemiştir (Colaianni ve ark. 2012).

Histomorfometrik çalışmalar, 17β -estradiol ile bir ay boyunca enjekte edilen, OT reseptörü silinmiş farelerde kemik oluşumu parametrelerinde herhangi bir değişiklik olmadığı, ancak normal tip farelerde trabeküler ve kortikal kemik parametrelerini anlamlı şekilde arttırdığını göstermiştir (Colaianni ve ark. 2012). Bu bulgu östrojenin, OT reseptörüne bağlı bir şekilde kemik kütlesini artırma kabiliyeti olduğunu doğrular. OT reseptörleri hem OB'lar hem de osteoklastlar tarafından eksprese edildiğinden, ileri çalışmalarda hangi hücrelerin (OB'lar, osteoklastlar veya her iki hücre), bu anabolik eylemi indüklemeye kritik öneme sahip olduğunu araştırılmıştır. Bu analiz, özellikle kemik oluşumu ve kemik rezorpsiyonunun birbirine bağlı olması nedeniyle önemlidir; bu nedenle kemik rezorpsiyonundaki değişiklikler kemik oluşumunu etkileyebilir ve bunun tersi de geçerlidir. Bu nedenle, OT reseptörü silinmiş farelerde iskelet üzerindeki östrojenin anabolik etkisinin ortadan kalkması nedeniyle, OT reseptörü taşıyan hücrenin OB veya osteoklast veya her ikisinin östrojen etkisine aracılık ettiğini incelemek çok önemlidir. OT'nin aynı zamanda OB ömrünün erken evresini de düzenleyip düzenlemediğini ve bunun iskeleti nasıl etkileyebileceğini anlamak için OT reseptör geninin pluripotent mezenkimal progenitörlerden veya OB progenitörlerinden silineceği farklı çalışmalara ihtiyaç vardır (Colaianni ve ark. 2014).

1.10.2. Oksitosin ve Osteoporoz

Deneyisel çalışmalarda farelerde kemik kütlesi üzerindeki dolaylı östrojen etkilerinin OT reseptörüne bağlı olduğu bildirilmiştir (Colaianni ve ark. 2012). Bununla birlikte, OT'nin kemik metabolizması üzerindeki östrojen aktivitesine eşlik ettiği rolünü gösteren klinik veriler de mevcuttur (Breuil ve ark. 2011, Lawson ve ark. 2011). Aslında, osteoporozu olan menopoz sonrası kadınlarda, osteoporotik olmayan kadınlara göre daha düşük OT seviyeleri bulunmuştur (Breuil ve ark. 2011). Atletlerde (Lawson ve ark. 2013) ve anoreksiya nervozalı kadınlarda da (Lawson ve ark. 2011) düşük OT seviyeleri gözlenmiştir. Lawson ve ark. hipo-östrojenik durumları ile karakterize edilen iki kadın tipinde OT'yi analiz etmişlerdir (Lawson ve ark. 2013, Lawson ve ark. 2011): Yüksek çözünürlüklü periferik kantitatif BT ile değerlendirilen amenoreik atletlerde, gece OT salgılanmasındaki düşüş, kemik yapısının değiştirilmesi

ile güçlü bir şekilde ilişkilidir; anoreksiya nervoza bulunan kadınlarda, gece OT seviyelerindeki düşüş ise düşük kemik mineral yoğunluğu ile ilişkilidir. Bu sonuçlar OT' nin, değişen östrojen düzeyleri ile ilişkili olarak osteoporozda rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir (Colaianni ve ark. 2014).

OT' nin dengeyi adipogenez yerine osteogenez lehine hareket ettiğini gösteren çalışmalar, OT-reseptörü-östrojen sisteminin adipoz doku fizyolojisinin düzenlenmesindeki rolünün anlaşılmasında son derece önemli olabilir. Bu nedenle, rekombinant OT ve analogları, osteoporozu tedavi etmek için iskelet anabolik ajanları olarak son derece yararlı olacaktır, fakat ayrıca adipoz doku ile ilgili patolojilerde de potansiyel faydası olabilir (Colaianni ve ark. 2014).

Bulguların klinikte hastalarla ilişkilendirilmesi süreci sıkıntılı olmasına rağmen insanlarda iskelet ve metabolik durumları tedavi etmek için OT'nin terapötik potansiyeli araştırılmaya devam edilmektedir. Osteoporotik ve genetik olarak obez kemirgen modellerinden elde edilen verilerin yanı sıra diğer araştırma alanlarındaki insanlarda bulunan OT, şimdiye kadar cesaret verici sonuçlar ortaya koymuştur (Colaianni ve ark. 2014).

Kemik dokusunda, OT sinyalleşmesinin yenilenmesi, OB defektlerinden kaynaklanan osteoporoz formları için kemik oluşumunu restore etmek için klinik olarak nonsteroid kaynağı olarak görev yapabilir. Ek olarak, OT hamilelik ve emzirme döneminde kalsiyum stresi sürecinde ilk mobilizasyondan ve daha sonra maternal iskeletin restorasyonundan sorumludur. Bu nedenle, OT analogları hamilelik ve emzirme sonrası oluşan iskelet kaybını ve osteoporozu gidermek için anabolik uyarıcı olarak kullanılabilir (Colaianni ve ark. 2014).

Wang ve arkadaşları ovariektomize sıçanlarda OT'nin distal femoral metafizde kemik metabolizmasını düzenleyebileceği ve daha sonra klinik bakış açısından, OT' nin sistemik uygulanmasıyla titanyum implantın tutma kuvvetini arttırmada etkili olabileceğini kaydetmiştir. OT proksimal tibia veya peri-implant kemik dokusu üzerindeki koruyucu etkisi, kemik oluşumuna veya rezorpsiyonuna veya her ikisindeki etkilerine bağlı olabileceği sonucuna varmışlardır (Wang ve ark. 2016). Tamma ve arkadaşları OT veya reseptörünün erkek veya dişi farelerde silinmesinin, azalmış kemik oluşumundan kaynaklanan osteoporozu yol açtığını bildirmiştir. OT, OB'larda BMP-2'nin yükselişine neden olarak bu hücrelerin mineralleştirici bir fenotip

kazanmasını sağlamıştır. Bununla birlikte, OT'nin osteoklast üzerinde çift etki yaptığı, osteoklast oluşumunu uyardığı ve olgun osteoklastlar üzerindeki etkisiyle kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (Tamma ve ark. 2009). Beranger ve arkadaşları OT uygulamasının farelerde ovariektominin indüklediği osteopeniyi ve kemik iliği adipozitesini, RANKL / OPG ekseninin reseptör aktivatörü aracılığıyla OB ile osteoklastın karşılıklı etkileşiminin restorasyonu ile normalize ettiğini göstermiştir (Beranger ve ark. 2014). Bu nedenle, OT nin kemik dokusu üzerindeki koruyucu etki mekanizmasının daha fazla araştırılması gerekmektedir.

OT'nin kemik metabolizmasına katkısı, yakın zamanda önemli ilerlemeler kaydedilmiş umut verici bir araştırma alanıdır. Bununla birlikte, insanlarla ilgili daha fazla araştırmayla, iskelet patolojilerinin tedavisinde terapötik bir ajan olarak OT'nin potansiyelinin daha yeterli bir şekilde anlaşılması sağlanmalıdır. OT fiziolojisi gerçekten de çok yönlüdür. Ek olarak, diğer sistemlere (örneğin cinsiyet steroidleri) bağımlılığı son zamanlarda ortaya çıkmıştır (Colaïanni ve ark. 2012), böylelikle kemik metabolizması üzerindeki OT etkilerinin tam olarak anlaşılması için bütünleştirici fiziolojisi üzerinde yapılan araştırmalar da gerekli olacaktır (Colaïanni ve ark. 2014).

1.10.3. Maksillofasiyal Bölgede Oksitosin

Son yıllarda, gittikçe daha fazla sayıda çalışmada insan OB'da ve osteoklastlarında OT reseptörleri keşfedilmiş ve ayrıca OT seviyesinin maksillofasiyal bölge ile ilgili patolojilerden veya fizyolojik süreçten etkilenebileceğini de bildirmiştir (Whyte ve ark. 2003). OT indüksiyonunda MSC' ler OB'a gelişebilir, böylece OB proliferasyonunu ve kemik oluşumunu destekleyebilir (Dursun ve ark. 2005). Elabd ve arkadaşları OT'nin MSC'nin osteojenik farklılaşmasını düzenleyen ana faktörlerden biri olduğunu doğrulamıştır (Elabd ve ark. 2008).

Maksillofasiyal bölgedeki kemikleri ilgilendiren patolojilerde dental implant osseointegrasyonuna yardımcı olmak için klinikte OT'nin uygulanması yararlı olabilir. Bununla birlikte, implantolojide osteoporoz gibi komorbiditeye sahip hastalarda dental implantı çevreleyen kemik hacmini arttırmak için OT uygulaması hakkında çok az çalışma vardır (Wang ve ark. 2016). Osteoporoz ve periodontal hastalıklar yaşla birlikte artmaktadır ve hormon replasman tedavisi olmayan postmenopozal kadınlar yüksek maksiller dental implant kaybı oranına sahiptir (Glowacki 2007). İnsanlarda yaşlanma ile birlikte, kemik metabolizma dengesi bozulmaktadır ve bu esasen östrojen

tarafından uygulanan yeniden şekillenme döngüsünün ciddi şekilde modülasyonu nedeniyle ovarian steroidlerinin salgılanmasındaki azalma ile ilgilidir (Fujita ve ark. 2002, Syed ve Khosla 2005). Bu nedenle, osteoporoz tedavilerinin amacı, kemik rezorpsiyonundaki azalmaya veya kemik oluşumundaki artışa etki ederek yoğunluğu arttırmaktır (Poole ve ark. 2011). Osteoporoz gelişen postmenopozal kadınlarda OT plazma seviyeleri, sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı derecede düşük bulunduğu için bu hastaların maksillofasiyal cerrahisinde OT uygulanması yararlı olabilir (Elabd ve ark. 2008). Colli ve arkadaşları yaşlı dişi ratlarda yaptıkları maksiller santral diş çekim modelinde OT'nin alveoler kemik onarımı sürecinde kemik oluşumunda artış ve kemik rezorpsiyonunda azalma sağladığını göstermişlerdir (Colli ve ark. 2012). OT uygulamasından sonra gözledikleri en yüksek alveoler kemik oluşumu, kemik hücrelerinde hormonun reseptörü ile etkileşimiyle gerçekleşen hücre içi olaylarla sonuçlandığını düşünmüş, böylece OT'nin hücre içi kalsiyum ve prostaglandin E2 sentezinin salınımını artırabildiği ve bunun sonucunda pozitif kemik dengesi oluşabildiği sonucuna varmışlardır (Jee ve Ma 1997).

OB'larda OT ve reseptörü arasındaki etkileşim, OT'nin diğer hedef hücrelerinde açıklandığı gibi başka hücre içi olayları da (MAP kinaz fosforilasyonu ve c-Fos ekspresyonu) kapsayabilir (Soloff ve ark. 2000). Bu hücre içi yollar, OB' lar ve osteoklastlar için önemlidir ancak bu hücrelerin yanıtlarında yer alan mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır. Dolayısıyla maksillofasiyal bölgedeki uygulamalarda OT'nin etkileri hala gizemini korumaktadır. Yine de deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda alveoler iyileşme sürecinde gözlenen pozitif kemik dengesi ve azalmış kemik rezorpsiyonu, OT'nin maksillofasiyal bölgede DO'da bir adjuvan olarak kullanılmak üzere çalışılabileceğini göstermektedir.

1.11. ÇALIŞMANIN HİPOTEZİ

Bu çalışmanın hipotezi, kemik üzerine anabolik etkisi ortaya konulmuş olan OT'nin, DO gibi kemiksel cerrahi girişimlerden sonra hem kemik iyileşmesini artırabileceği, hem de DO'nun tedavi protokolünün süresini azaltabileceğidir.

1.12. ÇALIŞMANIN AMACI

İnsanlarda oral ve maksillofasiyal bölgede oluşan kemik deformitelerinin, konjenital anomalilerin ya da uzun süreli kemik rezorbsiyonuna bağlı kemik yetersizliklerinin tedavisinde DO kullanılmaktadır. Daha önce yapılan bilimsel çalışmalarda, distraksiyon işlemi aşamasında distraktörün aktivasyon sınırı günlük 1mm olarak tanımlanmıştır. Distraksiyon işleminin günlük 1mm olması, işlemin oldukça uzun olmasına ve uzamış tedaviye bağlı oluşan birtakım komplikasyonlara neden olmaktadır (Joss ve ark. 2013). Son dönemde yapılan çalışmalar distraksiyon hızının artırılıp tedavinin daha hızlı olarak sonuçlanmasına odaklanmaktadır (Alp ve ark. 2017). Yapılan bu çalışmada amaç, son dönem hayvan deneylerinde kemik ve yumuşak dokularda iyileşmeyi hızlandırdığı ve kök hücre aktivasyonunu artırarak iyileşmeyi artırdığına dair bilgilerin mevcut olduğu OT'nin uygulamalarının distraksiyon işlemi üzerine etkilerini incelemektir. Bu güncel bilgiler ışığında çalışmamızda tavşanlarda sistemik OT uygulamasının günlük distraksiyon miktarındaki artışı ve distraksiyon boşluğunda oluşan yeni kemik üzerindeki etkilerini radyolojik ve histopatolojik olarak karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın başarılı olması halinde hastalar için zorlu bir süreç olan DO'nun günlük distraksiyon miktarının artırılarak daha kolay bir hale gelmesi ve başarının artışı adına yapılacak klinik çalışmalara zemin hazırlamasıdır.

1.13.ÇALIŞMADAN BEKLENEN FAYDA

Çalışmanın başarılı olması halinde hastalar için zorlu bir süreç olan DO nun günlük distraksiyon miktarının artırılarak daha kolay bir hale gelmesi ve başarının artışı adına yapılacak klinik çalışmalara zemin hazırlamasıdır.

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2016/013 numaralı proje ile desteklendi. Çalışmanın deneyleri kapsayan bölümü, Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27.12.2016 tarih ve 16-10/73 sayılı kararı ile Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Hayvan Deneyleri Laboratuvar' ında gerçekleştirildi.

Çalışmamız prospektif, karşılaştırmalı deney olarak tasarlandı. Çalışmada ortalama 2.6 kg ağırlığında, 20 haftalık, 28 adet erkek, Yeni Zelanda beyaz tavşanı (*Oryctolagus Cuniculus*) kullanıldı. Tavşanlar uygun kafeslerde, 22 ± 2 C⁰ sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamın sağlanacağı koşullarda barındırıldı. Tavşanlar yeterli sağlık şartlarının sağlanması, enfeksiyondan korunmaları, yeni yerlerine uyum sağlamaları ve sağlık durumlarının kontrolü için cerrahi öncesinde 10 gün süre ile bakıma tabi tutuldu. Tavşanlar standart laboratuvar yemi ve su verilerek beslendi. Tavşanların su ve yiyeceğe rahat ulaşabilmeleri, yeterli hareket alanına sahip olmaları ve stressiz ortam sağlanması açısından her biri ayrı kafeslerde barındırıldı. Deneklerin kafes temizliği, günlük bakımları, deneklerin ağırlıkları düzenli olarak kontrol edildi.

Çalışmada toplam 28 adet denegin sağ mandibular korpus bölgesinde tam kalınlıkta osteotomi hatları oluşturuldu ve çalışma kapsamında denekler 4 gruba ayrıldı;

Grup A: (n=7) Günde 1mm distraksiyon ve 1 ml/ kg serum fizyolojik uygulandı (kontrol grubu).

Grup B: (n=7) Günde 2mm distraksiyon ve intramuskular 1 ml/ kg serum fizyolojik uygulandı.

Grup C: (n=7) Günde 1mm distraksiyon ve intramuskular 10 µIU /kg OT uygulandı.

Grup D: (n=7) Günde 2mm distraksiyon ve intramuskular 10 µIU kg OT uygulandı.

2.1. CERRAHİ YÖNTEM

Cerrahi işlemler Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Hayvan Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Cerrahi işlem öncesinde denek hayvanları tartıldı ve tavşanlara operasyon öncesinde premedikasyon amaçlı 1ml methylparaben (Combelen Bayer, Leverkusen 10mg/ml) 1 saat öncesinde intramuskular uygulandı. Çalışmada kullanılan hayvanların kilolarına uygun genel anestezi sağlanması amacıyla IM %10'luk ketamin HCL (50 mg/kg Alfamine IM Ketalar, Eczacıbaşı, İst.) ve ksilazin HCL (2,5 MG/KG Roumpun IM, Bayer, Almanya) kullanıldı. Genel anestezi etki süresini takiben cerrahi işlem steril koşullarda aynı cerrah tarafından gerçekleştirildi.

Genel anestezi etki süresini takiben her deneğin mandibularının cerrahi sahayı kapsayan sağ bölgeleri tıraş edildi. Operasyon sahasını kapsayan cilt yüzeyi povidon iyot (Batticon, Adeka, Türkiye.) ile dezenfekte edildi. Yapılan operasyonların tamamında sterilizasyon, asepsi ve antisepsi kurallarına azami ölçüde dikkat edildi.

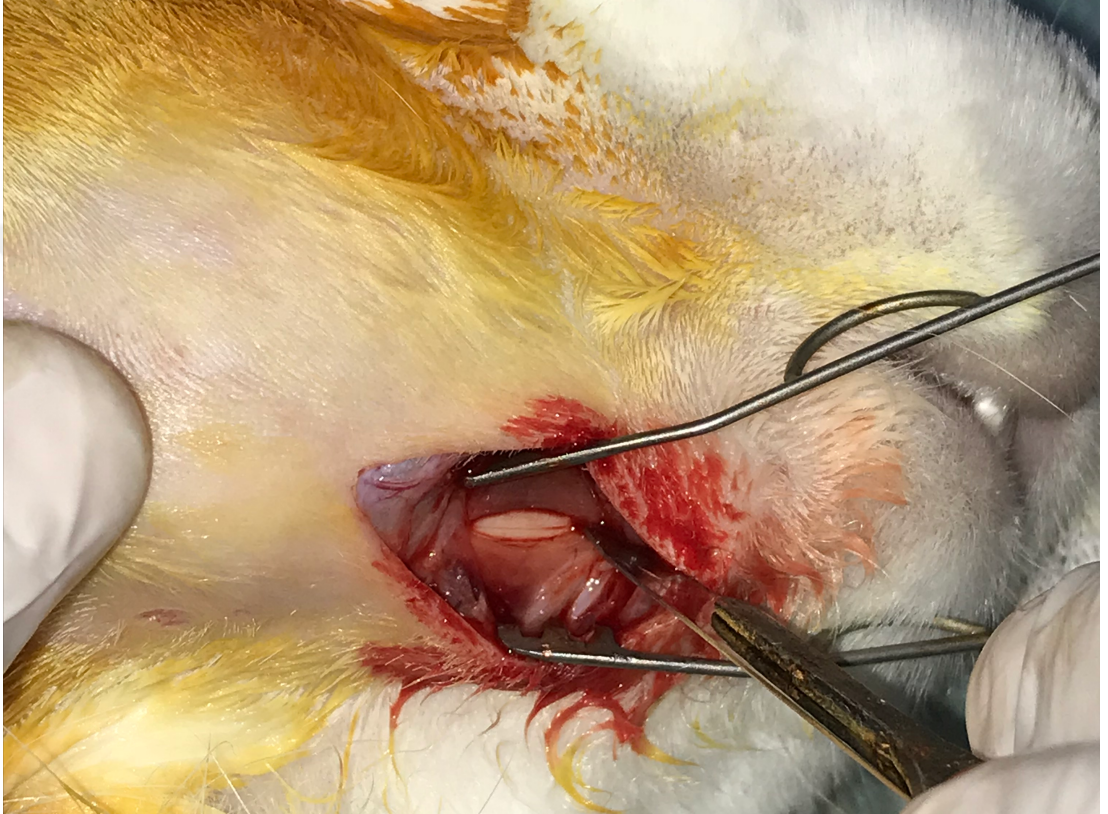
Kanama kontrolü için operasyon bölgesine 2 ml/100000' lik adrenalın içeren artikain HCI lokal anestezi (Ultracain DS, Aventis, Türkiye) uygulandı.

Mandibula alt kenarına paralel premolar diş bölgesini kapsayan 2.5 cm cilt insizyonunu takiben, subperiosteal diseksiyon yapılarak periosteal dokuya zarar vermeden elevasyon gerçekleştirilerek kemik doku açığa çıkarıldı. (Şekil 2.1) Diseksiyon esnasında mental sinir korundu. Osteotomi hattı premolar dişlerin ve mental sinirin mesialinde, mandibula ile dik açı oluşturacak şekilde, rond frezler ile işaretlendi. (Şekil 2.2) Rond frezler ile işaretlenen bölge fissür frezler ile birleştirildi. Frezle uygulanan kortikotomi işlemi steril serum fizyolojik soğutması altında gerçekleştirildi. (Şekil2.3)

Kortikotominin tamamlanmasının ardından, distraktörler kemik kesisinin mezial fragmanında iki, distal fragmanında iki olmak üzere toplamda 4 adet 1,8 mm çapında vidalar kullanılarak bölgeye uygulandı. Vidaların mandibulaya yerleştirilmesinde, fragman hattına ve birbirlerine eşit mesafede ve paralellikte olmalarına özen gösterildi. (Şekil 2.4)

Distraktörlerin yerleştirilmesinin ardından osteotomlar yardımı ile osteotomi yapıldı. Distraktörler aktive edilerek fragmanların yer değiştirmesinin tespiti için test edilmesinin ardından, yara bölgesi serum fizyolojik ile yıkanarak oluşan debrislerin uzaklaştırılması sağlandı. (Şekil 2.5)

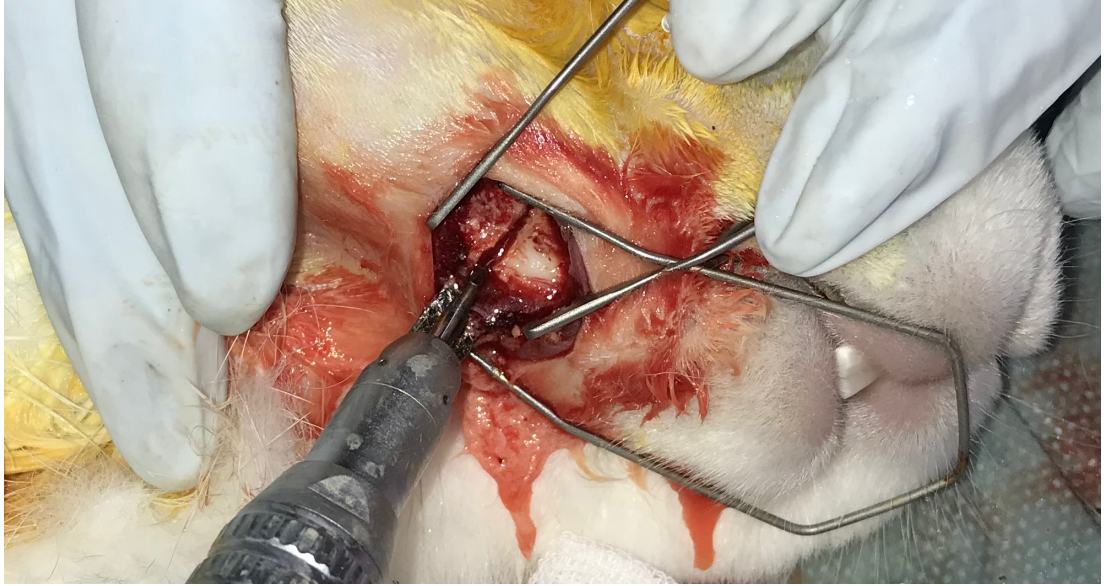
Yara bölgesinde, ‘poliglikolik asit içerikli eriyebilen 4.0 (Vicryl-Johnson and Johnson®) dikişler yardımı ile periost, kas tabakası ve cilt kapatıldı. (Şekil 2.6)



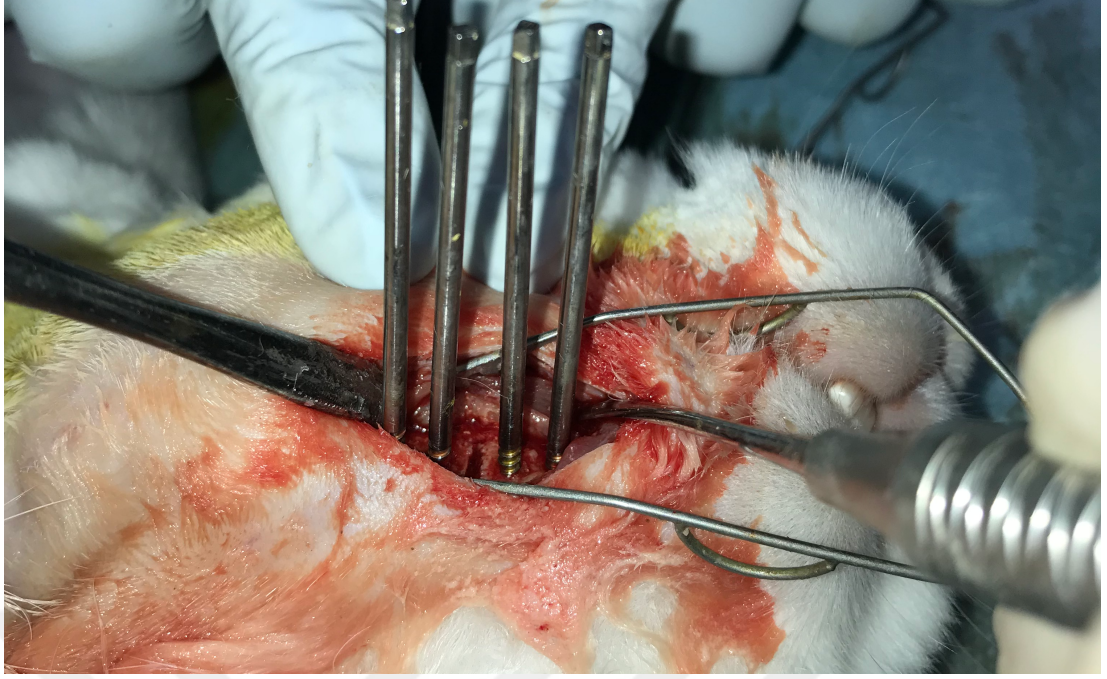
Şekil 2. 1. Subperiosteal diseksiyon sonrası kemik dokunun açığa çıkartılması.



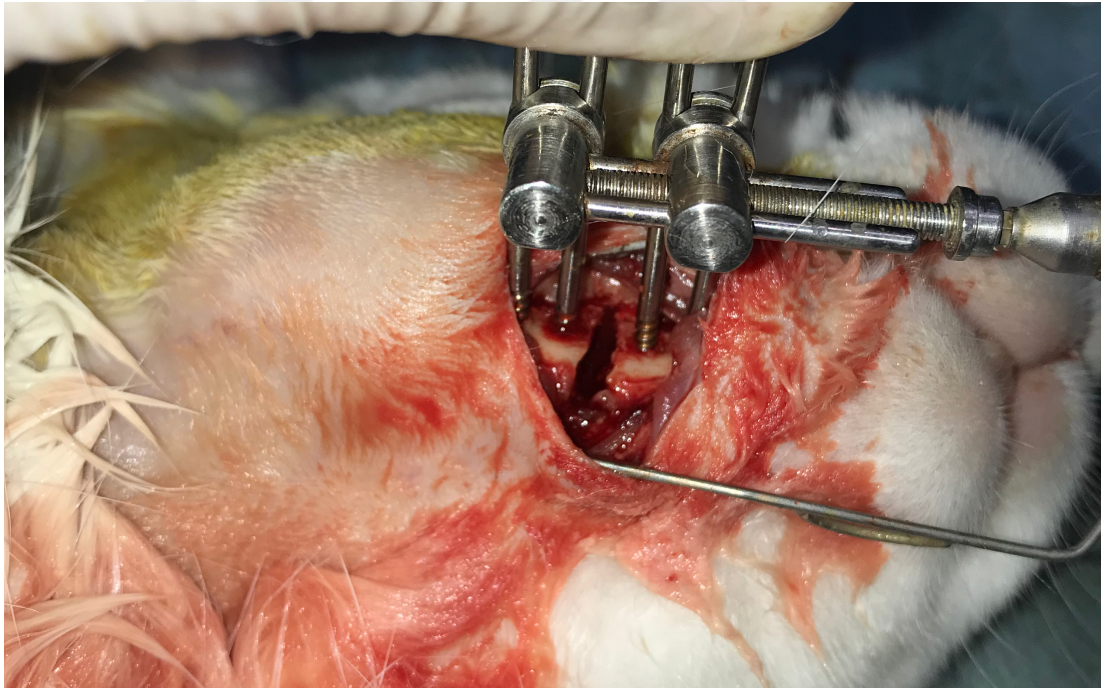
Şekil 2. 2. Osteotomi hattının ront frezlerle işaretlenmesi.



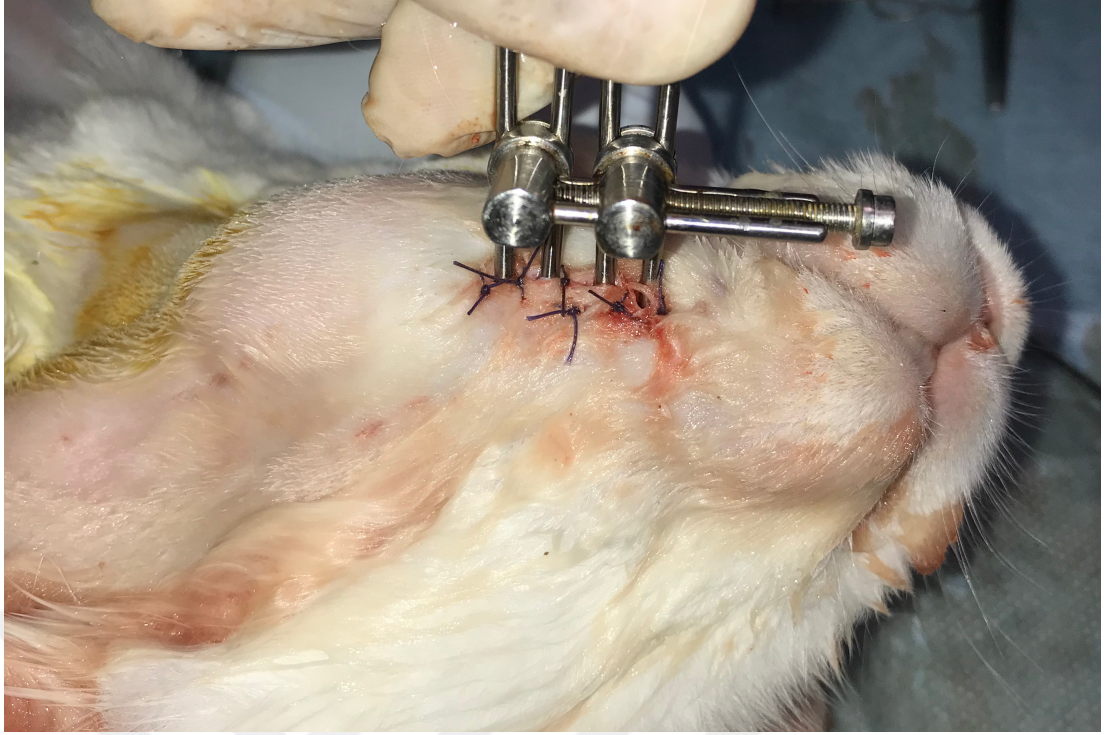
Şekil 2. 3. Ront frezlerle yapılan işaretlemelerin fissür frezle birleştirilmesi.



Şekil 2. 4. Distraktör vidalarının yerleştirilmesi.



Şekil 2. 5. Distraktörün aktive edilerek ayrılmanın gözlenmesi



Şekil 2. 6. Distraktorün aktive edilerek ayrılmanın gözlenmesi

2.2.1. GRUPLAR VE ENJEKSİYONLARIN UYGULANMASI

Kontrol grubu olarak seçilen (grup A), 1 mm/gün oranında distraksiyon uygulanan hayvanlardan oluşmaktadır. Birinci deney grubu ise (grup B), 2 mm/gün oranında distraksiyon uygulana hayvanlardan oluşuyordu. Bu 2 gruba, distraksiyon fazının başlaması ile birlikte 10 gün boyunca izotonik solüsyon (1ml/kg) intramusküler (i.m) olarak uygulandı. İkinci deney grubu (grup C), 1 mm/gün oranında distraksiyon uygulanan hayvanlardan ve üçüncü deney grubu ise (grup D), 2 mm/gün oranında distraksiyon uygulanan hayvanlardan oluşuyordu. Bu 2 gruba (Grup C ve D), distraksiyon fazının başlaması ile birlikte 10 gün boyunca OT i.m olarak (10 µIU/kg (Pituisan 50 ml, Ege-Vet, İzmir, Türkiye) uygulandı.

2.2.2. OPERASYON SONRASI BAKIM

Operasyon sonrasında deneklerin bakım ve korunmaları için 5 gün boyunca enrofloksasin (Enofilin® 2,5 mg/kg IM) ve meloksikam (Maxicam® 1 mg/kg) IM enjeksiyonu yapıldı.

Deneklerin günlük bakımları ve kafes temizliği kontrol edildi. Deneklerin ağırlıkları, yara bölgelerinin sağlığı düzenli olarak kontrol edilerek, yeterli yem ve su sağlandı.

Operasyon sonrası beş günlük latent dönemin ardından distraksiyon periyoduna geçildi. Günlük 1 mm uygulanan grupta distraksiyon sabah ve akşam 0,5 mm olacak şekilde toplamda 1 mm, günlük 2 mm distraksiyon uygulanan grupta sabah ve akşam 1 mm olacak şekilde toplam 2 mm distraksiyon uygulandı. Distraksiyon, toplamda 10 mm' lik distraksiyon tamamlandıktan sonra sonlandırıldı. (Şekil orta hat kayması) Günde 1mm distraksiyon uygulanan grupta distraksiyon periyodu 10 gün, 2 mm distraksiyon sağlanan grupta ise 5 gün olarak tamamlandı. Distraksiyon periyodunun ardından tüm gruplarda 30 günlük, konsolidasyon periyodunun tamamlanması sağlandı.

2.2.3 SAKRİFİKASYON İŞLEMİ

Sakrifikasyon işlemi konsolidasyon periyodunu tamamlamış deneklere intrakardiyak olarak letal dozda Ksilazin HCl (30 mg/kg Rompun® IM) ve % 10' luk Ketamin HCl (70 mg/kg Alfamine®) IM enjekte edilerek yapıldı. Sakrifikasyon işleminin ardından deneklerin distraksiyon uygulanmış olan mandibulaları subperiosteal olarak diseke edilerek, %10' luk formaldehit solüsyonunda korundu.

2.2. HİSTOMORFOMETRİ

Distraktörlerden ayrılarak fosfat tamponunda hazırlanmış oda ısısındaki %10'luk formalin çözeltilisinde (pH 7.0) tespit edildilmiş ve Mikro-BT taramaları yapılmış Doku örnekleri histomorfometri analizlerinin yapılması için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalına teslim edildi. Ardından örnekler, distraksiyon zonunu içine alacak şekilde küçültülerek 10 gün süresince 1:10 dH₂O ile dilüe edilmiş hızlı dekalsifikasyon ajanı (RDO-gold decalcifier, EMS, ABD) içinde, oda sıcaklığında dekalsifiye edilmiştir. Bu süreçte yumuşamaya başlamış örneklerdeki dişler uzaklaştırılmıştır. Örnekler fosfat tamponuna aktarılmış, sabit vakumlu doku takip cihazında (Leica, Almanya) dereceli alkollerden geçirilerek rutin yöntemle parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan kızaklı mikrotomda (Leica, Almanya) 3-4 mikrometre kalınlığında seri kesitler alınmıştır. Kesitler, genel morfoloji için hematoksilin eozin ve yeni kemik oluşunun

kantifikasyonu için Masson trikrom yöntemleri ile boyandıktan sonra, Leica DMR 6000 model ışık mikroskopunda değerlendirilmiş ve Leica DC500 dijital kamera ile bilgisayar ortamına aktarılarak görüntü analiz programı (LAS v3, Leica, Almanya) ile kantitatif olarak yeni oluşan trabeküler kemik alanı (TA) ve distraksiyon zonu (DZ) ölçülmüştür (Tekin ve ark. 2008). Doku örneklerinin, histomorfometri analizleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında yapıldı.

2.3. MİKROTOTOMOGRAFI

Doku örnekleri distraktörlerden ayrılarak fosfat tamponunda hazırlanmış oda ısısındaki %10'luk formalin çözeltisinde (pH 7.0) tespit edilmiş olarak mikro-bilgisayarlı tomografi analizlerinin yapılması için ilk olarak Ankara Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Ağız Dış ve Çene Radyolojisi Anabilim Dalına teslim edildi. Kemik morfometrik analizi için, örnekler, yüksek çözünürlüğe sahip, masaüstü mikro bilgisayarlı tomografi cihazı (micro-CT system- Bruker Skyscan 1275, Kontich, Belçika) ile taranmıştır. Tarama koşulları, 100 kVp, 100-mA, 0.5-mm Al/Cu filtre, 9.1 µm piksel boyutu, 0.2 adımda dönme olarak belirlenmiştir. Her örnek için 5 dakikalık 360° derece dönme ile ölçümler alınmıştır. Verilerin değerlendirmesi için NRecon (ver. 1.6.10.4, SkyScan, Kontich, Belçika) ve CTAn (ver. 1.16.1.0, SkyScan) programları kullanılmıştır. Toplamda 1023, yatay kesit bütün hacmi oluşturulmuştur. Ölçülen parametreler; toplam hacim (TH), kemik hacmi (KH), KH/TH, TbKa, trabeküler ayrılma (TbAy), TbS, ve bağlantı yoğunluğu (BY)'dur.

2.4. KORELASYON ANALİZLERİ

Mikro-BT verileri olan, BY ve KH/TH arasındaki korelasyonlar değerlendirilmiştir. Ayrıca Mikro-BT verisi olan KH/TH ve histomorfometrik analiz verisi olan TA/DZ değerleri arasındaki korelasyonlar, iki farklı merkezde elde edildiğinden dolayı çift kör olarak değerlendirilmiştir.

2.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

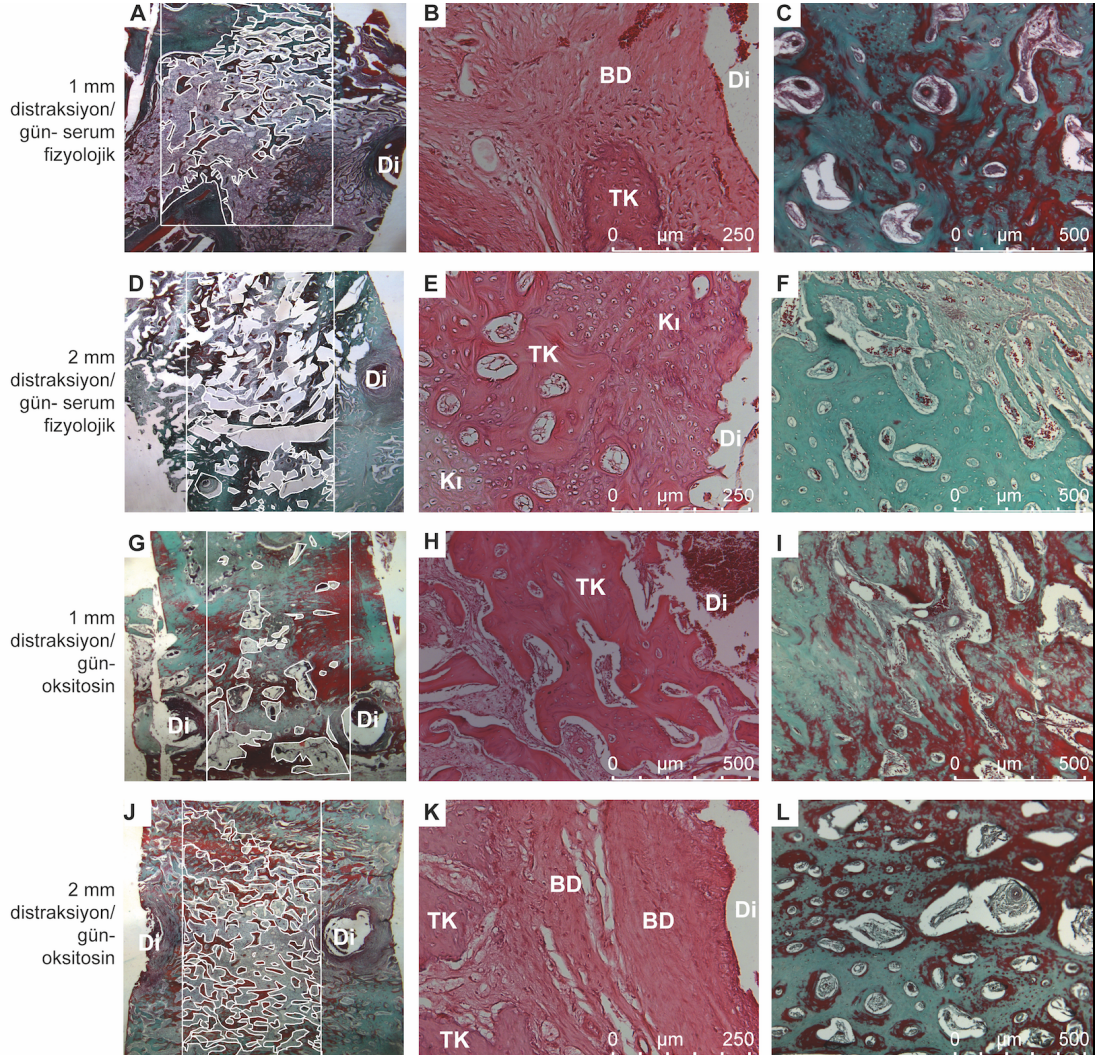
Bağımsız değişkenler gruplar ve bağımlı değişkenler histomorfometri ve Mikro-BT verileri olarak belirlenmiştir. Verilerin normal dağılıp dağılmadıkları Shapiro-Wilk testiyle değerlendirilmiştir. Parametrik olmayan datada Kruskal Wallis testi ile gruplar

arası ve Mann Whitney U testiyle ikili karşılaştırma yapılmıştır. İki farklı parametre arasındaki korelasyon Spearman testi ile analiz edilmiştir. İstatistiksel analizler %95 güven aralığında, SPSS (SPSS v23, IBM, ABD) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tanımsal istatistikler minimum, maksimum ve medyan değerleriyle gösterilmiştir.

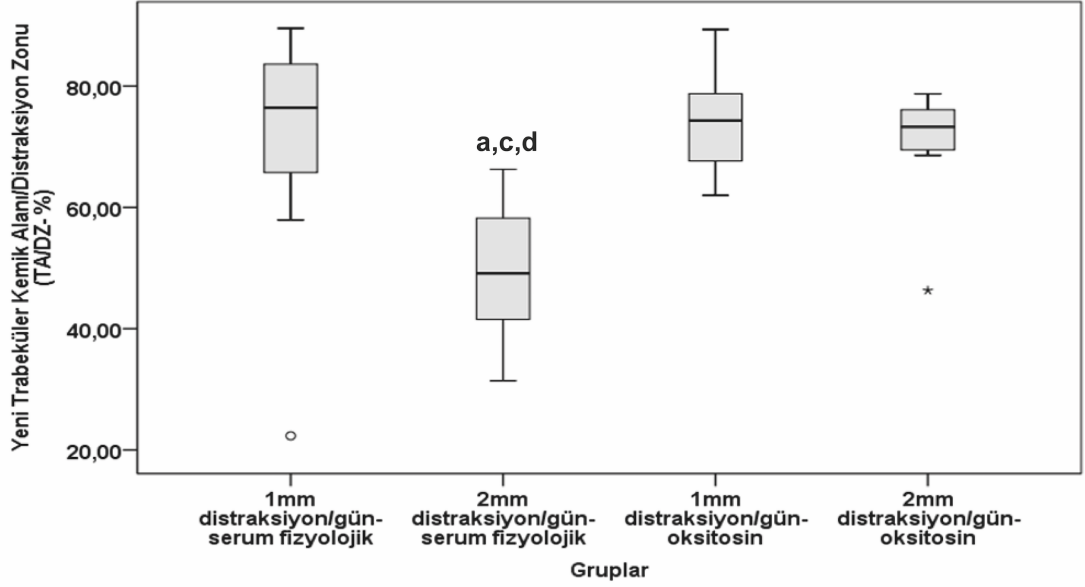
3. BULGULAR

3.1. HİSTOMORFOMETRİ

Tüm gruplarına ait örneklerde, DZ değişen miktarlarda, damardan zengin aktif trabeküler kemik dokusunun doldurduğu gözlenmiştir. Distraksiyon zonunda OT uygulanmayan gruplarda daha belirgin olmak üzere merkeze yakın alanlarda fibröz bağ dokusu ve kıkırdak adalarına rastlanmıştır (Şekil 3. 1- A, D, G, J). Kesitlerde distraktörün bıraktığı boşluklar rehber alınarak distraksiyon zonu hesaplanmıştır (Şekil 3. 1-A, D, G, J). Distraksiyon zonundaki yeni trabeküler kemik alanının, toplam distraksiyon zonuna oranı (TA/DZ), C ve D gruplarında, B grubuna göre anlamlı olarak yüksek hesaplanmıştır (sırasıyla $p=0,004$ ve $p=0,013$, Şekil 3.1, 2). C grubu, D ve A grupları, TA/DZ oranı açısından benzer sonuçlar göstermiştir (Şekil 3.2). Günde 1 mm distraksiyon ve serum fizyolojik uygulanmış A grubunun, B gruba göre TA/DZ oranının anlamlı olarak ($p=0,048$) yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3. 1, 2).



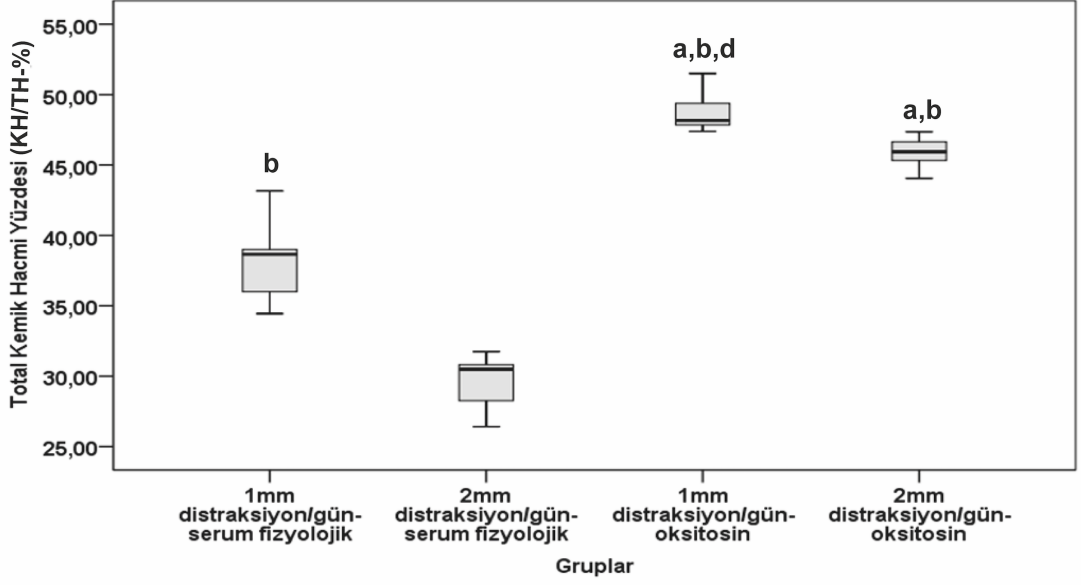
Şekil 3. 1. Kontrol ve deney gruplarına ait mikrograflarda sol kolonda küçük büyütmede Masson trikrom (MT) ile dikdörtgen içinde temsili olarak distraksiyon zonu izlenmektedir. Orta kolonda hematoksilen eozin (HE) ile orta büyütmede DZ’deki trabeküler kemik ağı (TK), fibröz bağ dokusu (BD) ve kıkırdak (K1) adaları; sağ kolonda büyük büyütmede MT ile yeşil renkte genç ve kırmızı renkte yeniden yapılanarak olgunlaşan damardan zengin, OB’lar ile çevrili kemik trabekülleri izlenmektedir. C, I ve L’de kemikleşmenin F’ye göre ileri düzeyde olduğuna dikkat ediniz. Di.: Distraktöre ait boşluk. A, D, G, J x1,25; B, E, H, K x10 ve C, F, I, L x20.



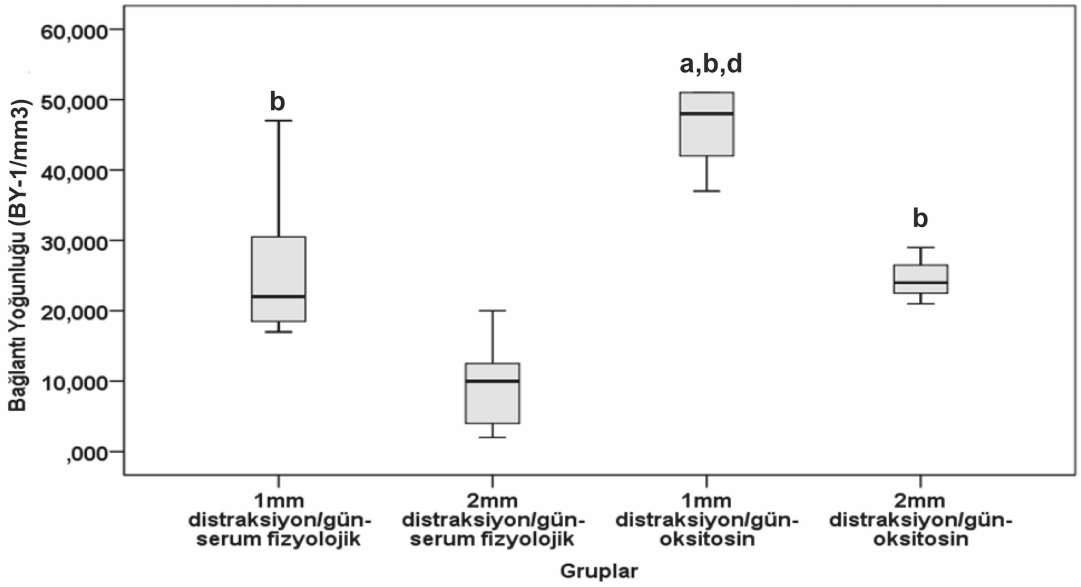
Şekil 3. 2. Kutu çizgi grafiğinde, histomorfometrik analiz sonuçları verilmektedir. Dikey ekseninde yeni trabeküler kemik alanının distraksiyon zonuna oranı (TA/DZ) yatay ekseninde ise gruplar görülmektedir. (a) 1mm distraksiyon/gün-serum fizyolojik grubuna göre $p<0,05$, (c) 1mm distraksiyon/gün- Ot grubuna göre $p<0,05$, (d) 2mm distraksiyon/gün- OT grubuna göre $p<0,05$.

3.2. MİKRO BİLGİSAYARLI TOMOGRAFİ

KH/TH ve BY OT uygulanan gruplarda, OT uygulanmayan gruplara göre değişen derecelerde artmış olarak izlendi (Şekil 3. 3, 4). C grubunun, diğer gruplara (A, B ve D grupları) göre KH/TH ve BY açısından anlamlı olarak (sırasıyla her gruptaki KH/TH için $p=0,002$, Şekil 3.3; sırasıyla BY için $p=0,006$, $p=0,002$, $p=0,002$, Şekil 3. 4) yüksek olduğu hesaplanmıştır. D grubunun KH/TH oranının ve BY' nun, A ve B gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu (sırasıyla her gruptaki KH/TH için $p=0,002$, Şekil 3; sırasıyla BY için $p=0,005$, $p=0,002$, Şekil 3. 4) tespit edilmiştir. A grubunun, B grubuna göre KH/TH' nin anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,002$, Şekil 3).



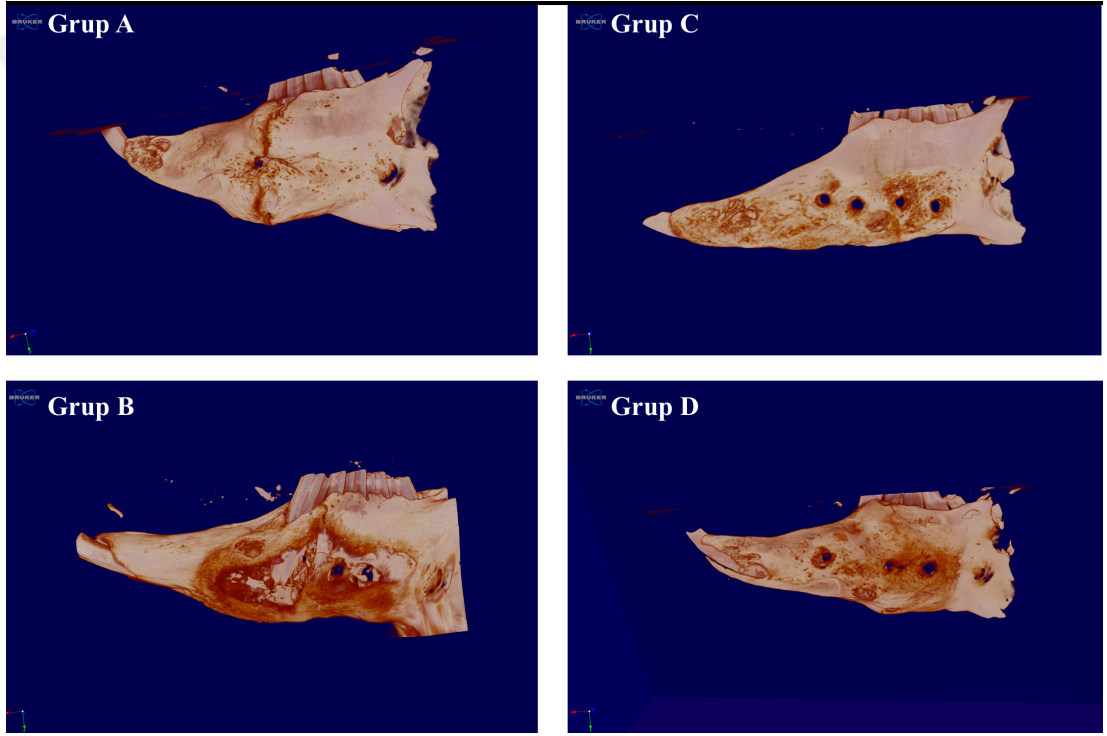
Şekil 3. 3. Kutu çizgi grafiğinde, Mikro-BT verisi olan KH/TH oranı analiz sonuçları verilmektedir. KH/TH yatay ekseninde ise gruplar görülmektedir. (a) 1mm distraksiyon/gün-serum fizyolojik grubuna göre $p < 0,05$, (b) 2mm distraksiyon/gün-serum fizyolojik grubuna göre $p < 0,05$, (d) 2mm distraksiyon/gün- OT grubuna göre $p < 0,05$.



Şekil 3. 4. Kutu çizgi grafiğinde, Mikro-BT verisi olan BY analiz sonuçları verilmektedir. Dikey ekseninde BY yatay ekseninde ise gruplar görülmektedir. (a) 1mm distraksiyon/gün-serum fizyolojik grubuna göre $p < 0,05$, (b) 2mm distraksiyon/gün-serum fizyolojik grubuna göre $p < 0,05$, (d) 2mm distraksiyon/gün- OT grubuna göre $p < 0,05$.

TbKa, TbS ve TbAy mikro-BT değerlendirmelerinde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür.

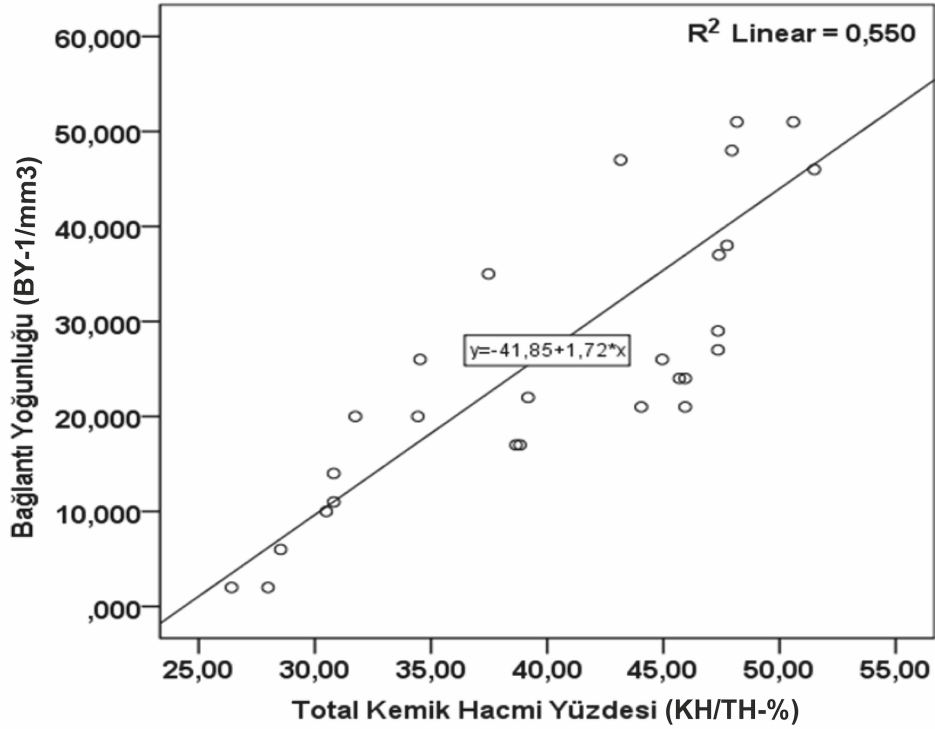
3 boyutlu mikro-BT görüntülerinde, A Grubunda, kemik iyileşmesi gözlenmiş olmasına rağmen, kortikal kemikte osteotomi çizgisi gözlemlendi. Grup B'de osteotomi hattında ve çevresinde kusurlu kemik bölgeleri gözlemlendi. Grup C'de osteotomi çizgisi iyileşmiş ve neredeyse görünmüyordu. Grup D'de osteotomi hattı neredeyse göze çarpmıyordu ve Grup A ve B'den daha iyi iyileşme gözlemlendi. OT uygulanan gruplarda distraksiyon hattının daha iyi kemikleştiği gözlemlendi (şekil 3.5).



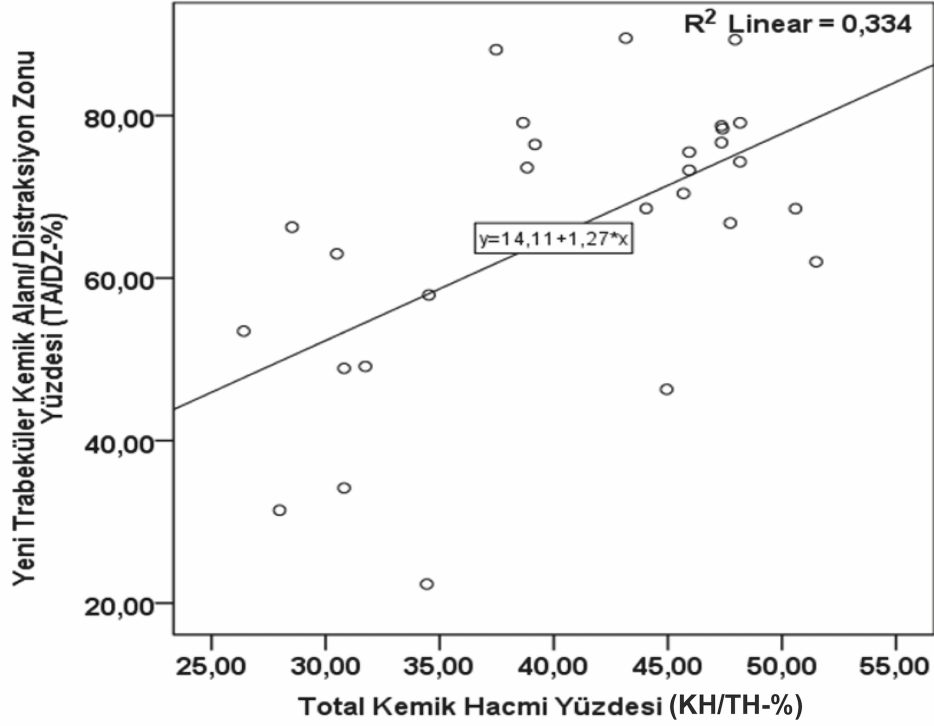
Şekil 3. 5. 3 boyutlu mikro-BT görüntüleri.

3.3. KORELASYON ANALİZLERİ

Mikro-BT verileri arasındaki korelasyon değerlerine bakıldığı zaman, BY ve KH/TH arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon olduğu ($p=0,01$, $r=0,742$) görülmüştür (Şekil 3. 6). Bununla beraber histomorfometrik analiz ve Mikro-BT değerlendirmeleri arasındaki korelasyona bakıldığında ise TA/DZ ile KH/TH değerlerinin anlamlı olarak birbirleri ile pozitif korelasyon ($p=0,01$, $r=0,578$) gösterdikleri tespit edilmiştir (Şekil 3. 7).



Şekil 3. 6. Korelasyon grafiğinde, (KH/TH) ve (BY) birbiriyle olumlu korelasyon göstermektedir ($r= 0,742$, $p=0.01$).



Şekil 3. 7. Korelasyon grafiğinde, histomorfometri TA/DZ ve Mikro-BT KH/TH verilerinin pozitif yöndeki korelasyonu görülmektedir ($r=0,578$, $p=0.01$)

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Oral ve maksillofasiyal bölgede olan defektlerin tedavisinde pek çok tedavi yöntemi mevcuttur. Ancak DO hem kemik hem de yumuşak dokuda kademeli artış sağlamasının yanı sıra istenen yükseklik ve genişlikte yeni kemik dokusunun oluşturulması sebebiyle tercih edilen tedavi yöntemi olmuştur (McCarthy, Williams ve ark. 1998, Isaksson, Comas ve ark. 2007, Tekin, Tuz ve ark. 2008, Joss, Triaca ve ark. 2013, Alp, Taskaldiran ve ark. 2017). DO ile kemik dokunun uzatılma tekniği ilk olarak Codivilla tarafından tanımlanmıştır (Codivilla 1994). Codivilla' nın femur üzerinde yaptığı çalışmanın yanı sıra farklı çalışmalar ve teknikler ortaya konya da Ilizarov' a kadar büyük ilerlemeler yaşanmamıştır. Ilizarov' un yaptığı çalışmalar neticesinde prensiplerini ortaya koyması ile DO, ortopedik cerrahi alanında popüler olmuştur. DO, uzun kemiklerin uzunluklarının artırılması, deformitelerinin düzeltilmesi, geniş defektlerin onarımı gibi pek çok ortopedik cerrahi işlemde kullanılır hale gelmiştir (Ilizarov 1989, Ilizarov 1989, Alp, Taskaldiran ve ark. 2017).

DO en önemli dezavantajı, tedavi protokolünün uzun sürmesidir (Alp, Taskaldiran e ve ark. 2017). Kullanılmakta olan distraksiyon protokolleri, Ilizarov tarafından ilk açıklanan protokolle oldukça benzerlik göstermektedir. Ilizarov, çalışmalarında, ideal uzatma miktarının 1 mm/gün olduğunu ve daha fazla kemik uzatma miktarının fibröz birleşme veya birleşmeme ile sonuçlandığını bildirmiştir (Ilizarov 1989, Ilizarov 1989).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, DO'da uzun tedavi protokolünü kontrol etmeye ve süresini azaltmaya odaklanmıştır. Bu amaçla, DO'ı sırasında kemik üzerindeki anabolik etkinin artırılmasına odaklanılmıştır. Demineralize kemik matrisi (Hagino and Hamada 1999), osteoformin (Dayisoğlu, Pampu ve ark. 2016), OB benzeri hücreler (Tsubota, Tsuchiya ve ark. 1999), büyüme faktörü (Okazaki, Kurokawa ve ark. 1999), hormon (Raschke, Bail ve ark. 1999), sistemik ve lokal bifosfonat (Tekin, Tuz ve ark. 2008, Alp, Taskaldiran ve ark. 2017), low-level lazer terapi (Kocyigit, Coskunes ve ark. 2012), elektrik ve ultrasonik stimülasyon (Eberson, Hogan ve ark. 2003, Kawamoto, Kim ve ark. 2005) ve kalsiyum sülfat (al Ruhaimi 2001) gibi pek çok yöntem kullanılmıştır. Bahsedilen adjuvan tedavi çalışmalarının sonucunda, yeni kemik oluşumunun hızlanması açısından bazı olumlu sonuçlar alınmasına rağmen, hiçbir tanesi rutin günlük uygulamaya girememiştir (Tekin ve ark. 2008, Dayisoğlu, Pampu ve ark. 2016, Alp, Taskaldiran ve ark. 2017).

Mandibular distraksiyon çalışmalarında tavşan, sıçan, kedi, köpek, domuz, koyun ve maymun gibi pek çok hayvan modeli kullanılmaktadır. Büyük hayvanların anatomik yapıları ve kemik turnover miktarları insana daha çok benzedikleri için biyomekanik çalışmalarda daha çok tercih edilirler. Bununla birlikte küçük hayvanlar düşük maliyetli olmaları, hızlı iyileşme süreleri ve bakımlarının kolay olmaları sebebiyle biyolojik mekanizmaların incelenmesi için tercih edilirler (Liebschner 2004). Sonuç olarak; insanlardakine benzer kemik büyümesi ve peak bone mass profilleri olmasının yanı sıra bakım maliyetlerinin düşük olması sebebiyle tavşanlar bu tip deneyler için mükemmel seçenektir (Norris, Pettifor ve ark. 2001). Çalışmamızda hayvan modeli olarak Beyaz Yeni Zelanda tavşanı kullanılmış, gerekli hayvan etik kurul raporları alınmıştır.

Deneyel hayvan çalışmalarında deneylerin uygulanması sırasında pek çok güçlük karşılaşılmaktadır. Uygulanan deneysel yöntem, deney hayvanlarının anatomileri, gibi faktörler bu durumu etkilemektedir. Çalışmamızda, tavşan

mandibulaları DO amacı ile kullanılmıştır. Operasyon sahasının küçüklüğü, ağız dışı distraktör kullanılması sebebiyle yara bölgesinin temizliğinin sağlanmasında zorluklar yaşanmış olması nedeni ve yara bölgesinde enfeksiyon oluşum riskini artırması gibi bazı güçlüklerle karşılaşmıştır. Ağız dışı distraktör kullanımı, uygulamasının ve distraksiyon periyodunda aktivasyon işleminin kolay olması gibi avantajları nedeniyle deneysel aşamada kolaylık sağlamıştır. Bu çalışmanın da deneysel aşamasında ve sonrasında karşılaşılan güçlükler, avantaj ve dezavantajların paylaşılmasının bu tip çalışmaları daha sonra yapacak olan araştırmacılara rehber olacağını düşünmekteyiz.

Swennen ve ark. yaptığı derleme çalışmasında çene ve yüz bölgesinin farklı bölgelerinde uygulama sıklığını belirlemek için 109 adet klinik çalışmayı incelemiştir. Çalışmaya göre maksillofasiyal bölgede DO uygulamaları bölgeler açısından değerlendirildiğinde 74 makalenin mandibular DO (%67,9), 16 makalenin maksiller DO (%14,7), 3'ünün mandibula ve maksillanın eşzamanlı DO (%2,8), 23 makalenin ise orta yüz ve kranial DO (%21,1) ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Çalışmanın sonuçları DO uygulamalarının en fazla mandibulada uygulandığını göstermiştir (Swennen ve ark. 2001). Çalışmamızda DO uygulamasının mandibulada gerçekleştirilmesi ile bu çalışmalara bir katkıda bulunulduğu düşünülmektedir.

Literatür incelendiğinde çalışmalarda tavşan mandibularına farklı tiplerde distraktörlerin kullanıldığı gözlemlenmektedir (Stewart ve ark. 1998, al Ruhaimi 2001, Tekin ve ark. 2008, Kocyigit ve ark. 2012). Çalışmada, ortopedide kullanılan parmak distraktörlerin modifiye edilmiş formları kullanılmıştır (Tekin ve ark. 2008, Alp ve ark. 2017). Bu tip distraktörlerin, uygulamasının ve elde edilmesinin kolay ve maliyetinin düşük olması gibi avantajları vardır. Tavşan mandibulasının anatomisi göz önüne alındığında, mandibuladaki hacimsel ve kompakt kemik miktarının en yoğun olduğu bölgenin premolar ve molar dişler bölgesidir. Bu bilgi ışığında, çalışmamızda da distraktörler, tavşan mandibulasında premolar ve molar dişler bölgesine yerleştirilmiştir. Distraktörlerin bu bölgeye yerleştirilirken distrikte segmentin beslenmesi kesilmemesine dikkat edilerek distrikte segmentin beslenmesi kesilmemiştir. Uygulanan bölgede kortikal tabakanın kalın olmasının yanı sıra kemik hacminin yüksek olması sebebiyle, distraktörün stabilitesini de artırmıştır.

Kraniyofasiyal iskeletin intramembranöz kemikleri iyi kanlanmaya sahiptir (Farhadieh ve ark. 2000). DO'de normal kırık iyileşmesinden farklı olarak epifizyal plağa benzer yapıdaki hücreler, distraksiyon boşluğu içinde bir kırıkta kallusu

oluşturmak yerine, FIZ adı verilen yapı distraksiyon yönünde yönlendirilen fibrovasküler bir köprü halinde düzenlenir (Aronson 1994). Yüksek yoğunlukta proliferatif OB içeren PMF, her iki taraftaki FIZ'a bitişiktir. Bu OB'lar, yeni oluşturulmuş kılcal damarlar ve vasküler sinüs bölgelerinde primer mineralizasyona uğrar, bu da mikrokolon oluşum bölgesi (MCF) olarak bilinen sarkit ve diktillere benzeyen kemik sütunlarının oluşumu gerçekleştirir. Distraksiyon sona erdiğinde, PMF her iki uçtan merkeze doğru ilerleyerek FIZ ile birleşir. Oluşan bu osteoid yapının mineralizasyonu, aktivasyon sırasında çevredeki MCF' den başlamakla birlikte esas olarak konsolidasyon aşamasında fibröz interzonla birleşene kadar gerçekleşir (Runyan and Gabrick 2017). Bu sebeple çalışmamızın histolojik incelemelerinde tüm gruplarda gözlenen damardan zengin aktif trabeküler kemik dokusu beklenen bir sonuçtur. Petersson ve ark. (1998) (Petersson, Lundeberg ve ark. 1998) yaptıkları çalışmada sistemik OT uygulamasının muskulokütanöz fleplerin sağ kalımını artırdığını bulmuşlardır. Ancak bu artışın OT plazmadaki çeşitli büyüme faktörlerinin arışı sebebiyle olduğunu ve OT'nin periferik kan akışını veya kan basıncını arttırmadığını ifade etmişlerdir (Petersson, Lundeberg ve ark. 1998). Çalışmamızda tüm gruplarda gözlenen damardan zengin aktif trabeküler kemik dokusunun OT damarlanma üzerinde etkisi olmadığını göstermektedir.

Distraksiyon zonunda oluşan kemikte; kırıklar, fibröz birleşme veya birleşmeme iyileşmeler DO uygulamasında karşılaşılan komplikasyonlardır (Long ve ark. 2009, Dayisoğlu ve ark. 2016). Bu komplikasyonlar, günlük kemik uzatma miktarının artması ile daha fazla görülmektedirler (Ilizarov 1989, Ilizarov 1989, Dayisoğlu ve ark. 2016). Uzun kemiklerle karşılaştırıldığında, kraniyofasiyal kemiklerin daha iyi kanlanması ve hızlı kemik iyileşmesine sahip olmalarından dolayı kraniyofasiyal DO' da hızlı bir distraksiyon oranının kullanılabileceği düşünülmekteydi (Long ve ark. 2009). Long ve ark. yaptığı çalışmada; hızlı distraksiyon oranının, kraniyofasiyal kemiklerin bol miktarda kanlanmasına rağmen, mandibular DO sırasında yeni oluşan kemiğin düşük kaliteli olabileceğini bulmuşlardır (Long ve ark. 2009). Tavşan mandibulasında farklı distraksiyon oranlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada; 2mm/gün distraksiyon uygulanan deneklerin distraksiyon boşluğunun histolojik incelemelerinde, fibröz dokunun lameller kemikten fazla olduğu ifade edilmiştir. DO uygulanan kemikler, kırık iyileşmesinin benzer histolojik özellikleri taşır (Aronson 1994). Distraksiyonun latent dönemi, hematoma oluşumu ve inflamatuvar

hücrelerin ve MSC çağırılması ile gerçekleşen erken kırık iyileşmesini andırır (Runyan ve Gabrick 2017). DO süreci boyunca, MSC'in yeterli mekanik stimülasyon altında kemik oluşturucu hücelere farklılaşması, distraksiyon bölgesinde yeni kemik rejenerasyonu için kilit adımlardır (Li, ve ark. 1997). Ancak, MSC'lerin farklılaşması, distraksiyon oranından etkilenir (Li, Viridi ve ark. 2000). Hızlı bir distraksiyon oranı altında, MSC'ler, bir fibrotik matris salgılayan ve böylece etkili kemik rejenerasyonunu bozan fibroblastlara farklılaşabilir (Ye ve ark. 2017).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, OT'nin kemik metabolizmasındaki pek çok farklı mekanizmayı etkileyerek, anabolik etki oluşturduğunu ortaya koymuştur (Elabd ve ark. 2007, Elabd ve ark. 2008, Tamma ve ark. 2009). Bu mekanizmalardan bir tanesi, OT'nin, c-fos ekspresyonunu ve MAP-kinaz fosforilasyonunu indükleyerek, MSC'lerden OB farklılaşmasını indüklemesidir (Elabd ve ark. 2008, Tamma ve ark. 2009). Rekombinant OT uygulaması, BMP-2 ve ATF-4 yollarını yeniden düzenlenmesini ve OB diferensiyasyonunun mineralize fenotipte olmasını sağlar (Tamma ve ark. 2009). OT, hücre içi depolardan Ca^{2+} salınımını indükler. OB' lardaki hücre içi Ca^{2+} artışı bazı hücrel kaskatları (JNK, P38, ERK, PKA ve PI3K) provoke ederek, prostaglandin E2 sentezinde artışa neden olur (Copland ve ark. 1999, Elabd ve ark. 2007, Elabd ve ark. 2008). Prostaglandin E2 sentezinde artış kemik döngüsünün kemik oluşumu lehine dönmesine neden olur. Ayrıca kemik iliği kökenli MSC'ler den adiposit oluşumunu inhibe eder ve farklılaşmanın OB yönünde olmasına yardımcı olur (Elabd ve ark. 2008). OT olgun OB'larda OPG ekspresyonunu azaltırken, RANKL'ı arttırmış ve osteoklast farklılaşmasını uyarmıştır. OT'nin osteoklastlar üzerindeki ikili etkisi, NF- κ B ve MAPK sinyalini aktive ederek doğrudan veya RANKL'nin regülasyonu yoluyla dolaylı olarak meydana gelir. Öte yandan OT, sitozolik Ca^{+2} salınımını ve nitrik oksit sentezini tetikleyerek kemik rezorpsiyonunu inhibe eder (Tamma ve ark. 2009). Özetle tüm bu sonuçlar OT' nin kemikte yüksek hücre aktivitesi oranını korumak için; hem oluşan hücrelerin hem de rezorbe hücrelerin çoğalmasını stimüle eden, ancak rezorbe edilen kemik miktarını da kontrol eden kritik anabolik bir öneme sahip olduğunu göstermektedir (Colaianni ve ark. 2014).

Maksillofasial bölgeyi ilgilendirecek çalışmaları inceleyecek olursak; Colli ve ark. asiklik yaşlı dişi ratlar üzerinde diş çekimi sonrası OT uygulamasının etkilerinin değerlendirmiştir (Colli ve ark. 2012). Plazma biyokimyasal kemik oluşumları markerleri, alkalın fosfataz (ALP) ve osteokalsin, OT uygulanan grupta anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. Histomorfometrik analizde OT uygulanan grupta

çekim soketlerinde kemik oluşum miktarının daha fazla olduğu ifade edilmiştir. Tartrate-dirençli asit fosfataz (TRAP), OT uygulanan grupta, OT'nin bir anti-rezorptif etkisi olduğunu gösterecek şekilde önemli ölçüde azalmış olarak bulunmuştur. Çekim soketini dolduran kemik hücrelerinde osteokalsin ve TRAP varlığını tanımlamak için yapılan immünohistokimya analizleri bu sonuçları doğrulamıştır. Sonuçta OT'nin alveoler iyileşme sürecinde yaşlı asiklik dişi sıçanlarda kemik oluşumunu teşvik ettiği ve kemik rezorpsiyonunu önlediği bulunmuştur (Colli ve ark. 2012). Ovariektomize sıçanlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada; sistemik OT uygulamasının, titanyum implantların osseointegrasyonunu ve histolojik değerlendirmede implant etrafındaki kemik miktarını arttırdığı ifade edilmiştir (Wang ve ark. 2016). Park ve ark. yaptığı çalışmada sıçanların kalvaryumlarında kritik boyutta defet oluşturulmuş ve bu defetlere OT yüklü mikro gözenekli b-trikalsiyum fosfat (TCP) uygulanmıştır ve yeni kemik oluşumunun arttığı ve fibrozis dokusunun azaldığı tespit edilmiştir (Park ve ark. 2014).

Çalışmamızda, OT uygulanan gruplarının distraksiyon zonunda daha az fibröz bağ dokusu ve kıkırdak adalarına rastlanmıştır. Ayrıca OT uygulanan gruplarda (grup C ve D) grup B'ye göre TA/DZ oranı daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar daha önce anlatılan maksillofasiyal bölge ile ilgili çalışmalarla uyumludur. Çalışmadan elde edilen bu bulgular, latent periyodun ardından başlayan sistemik OT uygulamasının, distraksiyon zonunda biriken MSC'in OB yönünde farklılaşmasına ve OB'ların proliferasyonunu artırdığını düşüncesi ile uyumlu olsa da bu durumun tam olarak açıklanması için başka çalışmalar gerekmektedir.

Kemik dokusunun mikro-BT analizi, histomorfometri analizinde olduğu gibi; hücre popülasyonu, mineral ayrılma oranı ve kemik remodelingi hakkında bir fikir vermez. Müller ve ark. 63 iliaak silindirik biyopsi üzerinde histomorfometrik ve mikro-BT incelemesi yapmıştır. İncelemeler sonucunda konvansiyonel histomorfometrik ve mikro-BT analizleri arasındaki yüksek korelasyonlar ve mutlak sayılar arasındaki düşük farklar bulmuşlardır. Müller ve ark. 3 boyutlu analizinden elde edilen sonuçların, geleneksel histomorfometriden değerlendirilen endekslerle mükemmel uyum içinde olduğunu ifade etmişlerdir. Bunun yanı sıra mikro-BT görüntüleme, kemik yoğunluğunun daha iyi bir belirleyicisi olarak kemik kalitesinin tanımlanmasında kemik yoğunluğunun, kemik mimarisinin ve kemik mineralizasyonunun göreceli değerlendirilmesine yardımcı olabileceğini ifade etmişlerdir (Muller ve ark. 1998).

Çalışmamızda, mikro-BT analizlerinde OT uygulanan gruplarda KH/TH oranındaki anlamlı artış bulunmuş ve histomofometri analizinde bulunan TA/DZ oranı ile korele olduğu bulunmuştur.

Kinney ve ark. yaptığı çalışmada, mekanik fonksiyonun geri kazanılmasının trabeküler bağlantıların korunmasına veya restore edilmesine bağlı olduğunu; dolayısıyla matematiksel olarak dayanıklılık ile ilgili olmasa da bağlantının önemli olduğunu belirtmişlerdir (Kinney ve Ladd 1998). Bu çalışma, küçük trabeküler kemik örneklerinin sonlu eleman modellemesine ile yapılmasına rağmen, bu sonuçları destekleyen klinik kanıtlar mevcuttur (Thomas ve ark. 1999). Bunun yanı sıra Kabel ve ark. yaptığı çalışmada normal süngerimsi kemikte, elastik özelliklerin morfolojik değişkenlerle değerlendirilmesinde bağlantı yoğunluğunun çok sınırlı bir değere sahip olduğunu, ancak bir ilişki varsa, sertliğin artan bağlantı ile azaldığını bulmuşlardır (Kabel, Odgaard ve ark. 1999). Nitekim, Kinney ve ark. idda ettiği gibi süngerimsi kemikte meydana gelen atrofinin ardından restore edilmesiyle birlikte kaybedilen trabeküler bağlantıların tekrar ortaya çıkmayabilir ve geri dönüşü olmayan dejenerasyonlar meydana gelebilir (Kinney 1999). Sonuçta, BY indeksinin biyomekanik özellikleri ve kemik kalitesi ile korele olup olmadığı tartışmalıdır (Kinney ve Ladd 1998, Kabel ve ark. 1999, Kinney 1999). Bununla birlikte Kontogiorgos ve ark. yaptığı çalışmada BY değerlerinin rejenere kemik için belirgin olarak daha yüksek olduğunu bulmuştur (Kontogiorgos ve ark. 2011). Çalışmamızda mikro-BT analizlerinde BY değerlerinin OT uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu ve KH/TH değerleri ile korele olduğu bulunmuştur. OT, DO'da kemik oluşumunu teşvik edebileceğini ve distraksiyon oranını arttırabileceğini göstermiştir.

Trabeküler kemik mikro yapısı, kemik mekanik özelliklerinin değerlendirilmesinde önemli bir unsurdur (Dalle Carbonare ve Giannini 2004). TbS ve TbKa artmasının ve TbAy azalmasının kemik mekanik özelliklerini iyileştirdiği öne sürülmüştür (Weinstein ve Hutson 1987). Çalışmamızda, TbKa, TbS ve TbAy değerlerinin gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Bu durum OT uygulamasının yeni kemik oluşumunu arttırmakla birlikte oluşan yeni kemiğin mekanik özelliklerini arttırmadığını göstermektedir. Bu durumun, oluşan yeni kemiğin

yük almamasına ve konsolidasyon fazından sonra yeterli bir süre beklenmemesi nedenleri ile oluştuğu düşünülmüştür.

Çalışmamızın limitasyonlarından bir tanesi, farklı gruplar için farklı konsolidasyon sürelerine bakılmamasıdır. Bunun nedeni, deney protokolünün oldukça uzun olması ve çok sayıda deney hayvanı kullanılması gerekliliğidir. Halbuki, uzun konsolidasyon sürelerinde mineralizasyonun devam ettiği, TbKa arttığı ve TbAy azaldığı bilinmektedir (Kontogiorgos ve ark. 2011). Bununla birlikte, rejenere kemiğin kortikal tabakası normal kemikten daha ince olduğundan, çiğneme kuvvetleri uygulanması ile birlikte mekanik özelliklerine katkıda bulunması için TbKa artışı meydana gelir (Kontogiorgos ve ark. 2011). Bu bilgiler eşliğinde, farklı konsolidasyon süreleri ve distraksiyon zonunda oluşan yeni kemiğe fonksiyonel kuvvetlerin etkisi başka çalışmalar ile değerlendirilmelidir. Çalışmamızın ikinci limitasyonu ise, OT uygulamasının DO'ın farklı aşamalarında ve farklı OT dozlarının yeni kemik oluşumuna etkisinin araştırılmamış olmasıdır. Bu parametrelerin de, çok daha fazla sayıda deney hayvanının kullanılabilmesi ve uzun süreli farklı çalışmalar ile değerlendirilmesi gerekmektedir.

Sonuçlar;

- Çalışmamız da, hem histomorfometri hem de mikro-BT verileri değerlendirildiğinde, sistemik OT uygulamasının DO'de yeni kemik oluşumunu ve kemik iyileşmesini artırdığı bulunmuştur.
- Bunun yanı sıra sistemik OT uygulaması, standart uygulama olan günlük 1 mm/gün yerine 2 mm/gün uzamaya izin verebileceğini de destekleyebileceği ortaya konulmuştur.
- Daha önce OT, kemik metabolizması ile ilgili yapılan çalışmalar, menopoz sonrası OT düşüşüne bağlı osteoporoz tedavisi ve osteoporozlu canlılarda kemik iyileşmesi üzerine odaklanmış, bu amaçla overleri alınmış hayvanlar üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Ancak bizim çalışmamızda deneyler sağlıklı erkek tavşanlar üzerinde gerçekleştirilmiş olup; sağlıklı canlılar üzerinde DO gibi cerrahi işlemten sonra OT'nin kemik iyileşmesinde etkili olduğunu gösteren tek çalışmadır.

- Gelecekte kemiği ilgilendiren farklı cerrahi işlemler ve travma sonrası sistemik OT nin etkilerinin incelenmesinin yanı sıra; farklı OT dozlarının kemik iyileşmesi üzerindeki etkisinin incelenmesi için çalışmalar yapılmalıdır



5. KAYNAKLAR

- Abe E, Mariani RC, Yu W, Wu XB, Ando T, Li Y, Iqbal J, Eldeiry L, Rajendren G, Blair HC, Davies TF, Zaidi M. (2003). *TSH is a negative regulator of skeletal remodelling*. Cell 115: 151–162.
- Abzhanov A, Rodda SJ, McMahon AP, et al. (2007). Regulation of skeletogenic differentiation in cranial dermal bone. Development;134:3133–3144.
- Acikan I, Mehmet G, Artas G, Yaman F, Deniz G, Bulmus O, Kom M, Kirtay M, Dundar S. (2018). Systemic melatonin application increases bone formation in mandibular distraction osteogenesis. Braz Oral Res. Sep 21;32:e85.
- Ai-Aql ZS, Alagl AS, Graves DT, et al. (2008). Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. J Dent Res;87:107–118.
- Akiyama H, Chaboissier MC, Martin JF, et al. (2002). The transcription factor Sox9 has essential roles in successive steps of the chondrocyte differentiation pathway and is required for expression of Sox5 and Sox6. Genes Dev;16:2813–2828.
- Al Ruhaimi KA. (2001). Effect of calcium sulphate on the rate of osteogenesis in distracted bone. Int J Oral Maxillofac Surg. Jun;30(3):228-33.
- Al Ruhaimi, K. A. (2001). Comparison of different distraction rates in the mandible: an experimental investigation. Int J Oral Maxillofac Surg.;30(3): 220-227.
- Aleksyniene R, Thomsen JS, Eckardt H, Bundgaard KG, Lind M, Hvid I. (2009). Parathyroid hormone PTH(1-34) increases the volume, mineral content, and mechanical properties of regenerated mineralizing tissue after distraction osteogenesis in rabbits. Acta Orthop;80:716-23
- Alp YE, Taskaldiran A, Onder ME, Karahan S, Kocyigit ID, Atil F, et al. (2017). Effects of Local Low-Dose Alendronate Injections Into the Distraction Gap on

New Bone Formation and Distraction Rate on Distraction Osteogenesis. *J Craniofac Surg*;28(8):2174-8.

Andersson KE. (2011). Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. *Pharmacol Rev*; 63: 811-859.

Aronson J, Good B, Stewart C, et al. (1990). Preliminary studies of mineralization during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res*:43–49.

Aronson J. (1994). Temporal and spatial increases in blood flow during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res*:124–131.

Arrowsmith S, Wray S. (2014). Oxytocin: its mechanism of action and receptor signalling in the myometrium. *J Neuroendocrinol*; 26: 356-369.

Beranger GE, Pisani DF, Castel J, Djedaini M, Battaglia S, Amiaud J, Boukhechba F, Ailhaud G, Michiels JF, Heymann D, Luquet S, Amri EZ. (2014). Oxytocin reverses ovariectomy-induced osteopenia and body fat gain. *Endocrinology*;155:1340–52.

Bhatt S, Diaz R, Trainor PA, et al. (2013). Signals and switches in mammalian neural crest cell differentiation signals and switches in mammalian neural crest cell differentiation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*;5:a008326.

Bodanszky M, Sharaf H, Roy JB, Said SI. (1992). Contractile activity of vasotocin, oxytocin, and vasopressin on mammalian prostate. *Eur J Pharmacol*; 216: 311-313.

Bragdon B, Lybrand K, Gerstenfeld L. (2015). Overview of biological mechanisms and applications of three murine models of bone repair: closed fracture with intramedullary fixation, distraction osteogenesis, and marrow ablation by reaming. *Curr Protoc Mouse Biol*;5:21–34.

Breuil V, Amri EZ, Panaia-Ferrari P, Testa J, Elabd C, Albert-Sabonnadière C, Roux CH, Ailhaud G, Dani C, Carle GF, Euller-Ziegler L. (2011). Oxytocin and bone remodelling: relationships with neuropituitary hormones, bone status and body composition. *Joint Bone Spine* 78: 611–615.

- Cakarer S, Olgac V, Aksakalli N, Tang A, Keskin C. (2010). Acceleration of consolidation period by thrombin peptide 508 in tibial distraction osteogenesis in rats. *Br J Oral Maxillofac Surg*;48(8):633–6.
- Carvalho RS, Einhorn TA, Lehmann W, et al. (2004). The role of angiogenesis in a murine tibial model of distraction osteogenesis. *Bone*;34:849–861.
- Cho T-J, Kim JA, Chung CY, et al. (2007). Expression and role of interleukin-6 in distraction osteogenesis. *Calcif Tissue Int*;80:192–200.
- Choi IH, Chung CY, Cho TJ, et al. (2002). Angiogenesis and mineralization during distraction osteogenesis. *J Korean Med Sci*;17:435–447.
- Codivilla, A. (1994). "On the means of lengthening, in the lower limbs, the muscles and tissues which are shortened through deformity. 1904." *Clin Orthop Relat Res*(301): 4-9.
- Colaianni G, Di Benedetto A, Zhu LL, Tamma R, Li J, Greco G, Peng Y, Dell'Endice S, Zhu G, Cuscito C, Grano M, Colucci S, Iqbal J, Yuen T, Sun L, Zaidi M, Zallone A. (2011). Regulated production of the pituitary hormone oxytocin from human and murine osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 411: 512–515.
- Colaianni G, Sun L, Di Benedetto A, Tamma R, Zhu LL, Cao J, Grano M, Yuen T, Colucci S, Cuscito C, Mancini L, Li J, Nishimori K, Bab I, Lee HJ, Iqbal J, Young WS, 3rd, Rosen C, Zallone A, Zaidi M. (2012). Bone marrow oxytocin mediates the anabolic action of estrogen on the skeleton. *J Biol Chem* 287: 29,159-29,167.
- Colaianni G, Sun L, Zaidi M, Zallone A. (2014). Oxytocin and bone. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. Oct 15;307(8):R970-7.
- Colli VC, Okamoto R, Spritzer PM, Dornelles RC. (2012). Oxytocin promotes bone formation during the alveolar healing process in old acyclic female rats. *Arch Oral Biol*. Sep;57(9):1290-7.
- Colnot C. (2009). Skeletal cell fate decisions within periosteum and bone marrow during bone regeneration. *J Bone Miner Res*;24:274–282.

- Copland, J. A., K. L. Ives, D. J. (1999). Simmons and M. S. Soloff. Functional oxytocin receptors discovered in human osteoblasts. *Endocrinology*.;140(9): 4371-4374.
- Craft PD, Mani MM, Pazel J, et al. (1974). Experimental study of healing in fractures of membranous bone. *Plast Reconstr Surg*.;55:321–325.
- Dalle Carbonare, L. and S. Giannini. (2004). Bone microarchitecture as an important determinant of bone strength. *J Endocrinol Invest*.;27(1): 99-105.
- Dayisoğlu EH, Pampu A, Senel FC, Onder E, Dolanmaz D, Altıntaş NY, et al. (2016). Effects of osteoformin in the rapid distraction osteogenesis of rabbit mandibles. *J Pak Med Assoc*.;66(2):135-9.
- Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. (2005). Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury*;36:1392–1404.
- Ducy P, Karsenty G. (1998). Genetic control of cell differentiation in the skeleton. *Curr Opin Cell Biol*;10:614–619.
- Dursun P, Yuce K, Gunalp S. Oxytocin and osteoporosis: is there any relationship? *Med Hypotheses*;64:1060–1.
- Duvall CL, Taylor WR, Weiss D, et al. (2005). Impaired angiogenesis, early callus formation, and late stage remodeling in fracture healing of osteopontin-deficient mice. *J Bone Miner Res* 2006;22:286–297.
- Ebersson, C. P., K. A. Hogan, D. C. Moore and M. G. Ehrlich. (2003). Effect of low-intensity ultrasound stimulation on consolidation of the regenerate zone in a rat model of distraction osteogenesis. *J Pediatr Orthop*.;23(1): 46-51.
- Elabd C, Basillais A, Beaupied H. (2008). Oxytocin controls differentiation of human mesenchymal stem cells and reverses osteoporosis. *Stem Cells*;26:2399–405.
- Elabd, S. K., I. Sabry, W. B. Hassan, H. Nour and K. Zaky. (2007). Possible neuroendocrine role for oxytocin in bone remodeling. *Endocr Regul*.;41(4): 131-141.

- Fang TD, Salim A, Xia W, et al. (2005). Angiogenesis is required for successful bone induction during distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res*;20:1114–1124.
- Farhadieh RD, Dickinson R, Yu Y, et al. (1999). The role of transforming growth factor-beta, insulin-like growth factor I, and basic fibroblast growth factor in distraction osteogenesis of the mandible. *J Craniofac Surg*;10:80–86.
- Farhadieh, R. D., M. P. Gianoutsos, R. Dickinson and W. R. Walsh. (2000). Effect of distraction rate on biomechanical, mineralization, and histologic properties of an ovine mandible model. *Plast Reconstr Surg*;105(3): 889-895.
- Ferguson C, Alpern E, Miclau T, et al. (1999). Does adult fracture repair recapitulate embryonic skeletal formation? *Mech Dev*;87:57–66.
- Fujita M, Urano T, Horie K, Ikeda K, Tsukui T, Fukuoka H, et al. (2002). Estrogen activates cyclin-dependent kinases 4 and 6 through induction of cyclin D in rat primary osteoblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*;299:222–8.
- Gerstenfeld LC, Alkhiary YM, Krall EA, et al. (2006). Three-dimensional reconstruction of fracture callus morphogenesis. *J Histochem Cytochem*;54:1215–1228.
- Gimpl G, Fahrenholz F. (2001). The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol Rev*; 81: 629-683.
- Glass GE, Chan JK, Freidin A, et al. (2011). TNF-alpha promotes fracture repair by augmenting the recruitment and differentiation of muscle derived stromal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*;108:1585–1590
- Glowacki J. (2007). Impact of postmenopausal osteoporosis on the oral and maxillofacial surgery patient. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*;19:187–98.
- Grigor'eva ME, Golubeva MG. (2010). Oxytocin: Structure, synthesis, receptors, and basic effects. *Neurochem J*; 4: 75-83.

- Hagino T, Hamada Y. (1999). Accelerating bone formation and earlier healing after using demineralized bone matrix for limb lengthening in rabbits. *J Orthop Res.*;17(2):232-7.
- Hagino, T. and Y. Hamada. Accelerating bone formation and earlier healing after using demineralized bone matrix for limb lengthening in rabbits. *J Orthop Res.* 1999;17(2): 232-237.
- Hamanishi C, Yoshii T, Totani Y, et al. (1994). Lengthened callus activated by axial shortening. *Clin Orthop Relat Res*;307:250–254.
- Hasegawa T, Miwa M, Sakai Y, et al. (2012). Mandibular hematoma cells as a potential reservoir for osteoprogenitor cells in fractures. *J Oral Maxillofac Surg*;70:599–607.
- Hiltunen A, Vuorio E, Aro HT. (1993). A standardized experimental fracture in the mouse tibia. *J Orthop Res*;11:305–312.
- Ikeda T, Kawaguchi H, Kamekura S, et al. (2005). Distinct roles of Sox5, Sox6, and Sox9 in different stages of chondrogenic differentiation. *J Bone Miner Metab*;23:337–340.
- Ilizarov GA. (1992). *Transosseous Osteosynthesis. Vol 1.* (Green SA, ed.). Berlin: Springer-Verlag.
- Ilizarov, GA. (1989). The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. *Clin Orthop Relat Res.*;(239): 263-285.
- Isaksson, H., O. Comas, C. C. van Donkelaar, J. Mediavilla, W. Wilson, R. Huiskes and K. (2007). Ito. Bone regeneration during distraction osteogenesis: mechano-regulation by shear strain and fluid velocity. *J Biomech.*;40(9): 2002-2011.
- Ishii M, Sun J, Ting M-C, et al. (2015). The development of the calvarial bones and sutures and the pathophysiology of craniosynostosis. *Curr Top Dev Biol*;115:131–156.

- Jacobsen KA, Al-Aql ZS, Wan C, et al. (2008). Bone formation during distraction osteogenesis is dependent on both VEGFR1 and VEGFR2 signaling. *J Bone Miner Res*;23:596–609.
- Jazrawi LM, Majeska RJ, Klein ML, et al. (1998). Bone and cartilage formation in an experimental model of distraction osteogenesis. *J Orthop Trauma*;12:111–116.
- Jee WS, Ma YF. (1997). The in vivo anabolic actions of prostaglandins in bone. *Bone*;21:297–304.
- Jordan CJ, Goldstein RY, Mclaurin TM, et al. (2013). The evolution of the ilizarov technique: part 1: the history of limb lengthening. *Bull NYU Hosp Jt Dis*;71:89–95.
- Joss CU, Triaca A, Antonini M, et al. (2013). Soft tissue stability after segmental distraction of the anterior mandibular alveolar process: a 5.5 year follow-up. *Int J Oral Maxillofac Surg*;42:345–351.
- Kabel, J., A. Odgaard, B. van Rietbergen and R. Huiskes. (1999). Connectivity and the elastic properties of cancellous bone. *Bone*;24(2): 115-120.
- Karaplis AC. (2008). Embryonic development of bone and regulation of intramembranous and endochondral bone formation. In: *Principles of Bone Biology, Two-Volume Set. Vol 1*. Cambridge, MA: Academic Press;:53–84.
- Karp NS, McCarthy JG, Schreiber JS, et al. (1992). Membranous bone lengthening: a serial histological study. *Ann Plast Surg*;29:2–7.
- Kasaai B, Moffatt P, Al-Salmi L, et al. (2012). Spatial and temporal localization of WNT signaling proteins in a mouse model of distraction osteogenesis. *J Histochem Cytochem*;60:219–228.
- Kawamoto K, Kim WC, Tsuchida Y, Tsuji Y, Fujioka M, Horii M, et al. (2005). Effects of alternating current electrical stimulation on lengthening callus. *J Pediatr Orthop B*;14(4):299-302.

- Kawamoto, K., W. C. Kim, Y. Tsuchida, Y. Tsuji, M. Fujioka, M. Horii, Y. Mikami, D. Tokunaga and T. Kubo. (2005). Effects of alternating current electrical stimulation on lengthening callus. *J Pediatr Orthop B*.;14(4): 299-302.
- Kinney, J.H. (1999). Connectivity and the elastic properties of cancellous bone. *Bone*.;25(6): 741-742.
- Kinney, J. H. and A. J. Ladd. (1998). The relationship between three-dimensional connectivity and the elastic properties of trabecular bone. *J Bone Miner Res*.;13(5): 839-845.
- Kocyyigit ID, Coskunes FM, Pala E, Tugcu F, Onder E, Mocan A. (2012). A comparison of the low-level laser versus low intensity pulsed ultrasound on new bone formed through distraction osteogenesis. *Photomed Laser Surg*.;30(8):438-43.
- Komatsubara S, Mori S, Mashiba T, Nonaka K, Seki A, Akiyama T, et al. (2005). Human parathyroid hormone (1-34) accelerates the fracture healing process of woven to lamellar bone replacement and new cortical shell formation in rat femora. *Bone*.;36:678-87.
- Kontogiorgos, E., M. E. Elsalanty, U. Zapata, I. Zakhary, W. W. Nagy, P. C. Dechow and L. A. Opperman. (2011). Three-dimensional evaluation of mandibular bone regenerated by bone transport distraction osteogenesis. *Calcif Tissue Int*.;89(1): 43-52.
- Kovacs CS, Kronenberg HM. (1997). Maternal-fetal calcium and bone metabolism during pregnancy, puerperium and lactation. *Endocr Rev* 18: 832–872.
- Kovacs CS. (2001). Calcium and bone metabolism in pregnancy and lactation. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 2344–2348.
- Kwok C, Weller PA, Guioli S, et al. (1995). Mutations in SOX9, the gene responsible for Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal. *Am J Hum Genet*.;57:1028–1036.
- Lammens J, Liu Z, Aerssens J, et al. (1998). Distraction bone healing versus osteotomy healing: a comparative biochemical analysis. *J Bone Miner Res*.;13:279–286.

- Lawson EA, Ackerman KE, Estella NM, Guereca G, Pierce L, Sluss PM, Bouxsein ML, Klibanski A, Misra M. (2013). Nocturnal oxytocin secretion is lower in amenorrheic athletes than nonathletes and associated with bone microarchitecture and finite element analysis parameters. *Eur J Endocrinol* 168: 457–464.
- Lawson EA, Donoho DA, Blum JJ, Meenaghan EM, Misra M, Herzog DB, Sluss PM, Miller KK, Klibanski A. (2011). Decreased nocturnal oxytocin levels in anorexia nervosa are associated with low bone mineral density and fat mass. *J Clin Psychiatry* 72: 1546–1551.
- Lenton K, James AW, Manu A, et al. (2011). Indian hedgehog positively regulates calvarial ossification and modulates bone morphogenetic protein signaling. *Genesis*;49:784–796.
- Lerman B, Harricharran T, Ogunwobi OO. (2018). Oxytocin and cancer: An emerging link. *World J Clin Oncol.*;9(5):74–82.
- Li, G., A. H. Simpson, J. Kenwright and J. T. Triffitt. (1997). Assessment of cell proliferation in regenerating bone during distraction osteogenesis at different distraction rates. *J Orthop Res.*;15(5): 765-772.
- Li, G., A. S. Viridi, D. E. Ashhurst, A. H. Simpson and J. T. Triffitt (2000). "Tissues formed during distraction osteogenesis in the rabbit are determined by the distraction rate: localization of the cells that express the mRNAs and the distribution of types I and II collagens. *Cell Biol Int.*;24(1): 25-33.
- Liebschner, M.A. (2004). Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials.*;25(9): 1697-1714.
- Liu X, Shimono K, Zhu LL, Li J, Peng Y, Imam A, Iqbal J, Moonga S, Colaianni G, Su C, Lu Z, Iwamoto M, Pacifici M, Zallone A, Sun L, Zaidi M. (2009). Oxytocin deficiency impairs maternal skeletal remodeling. *Biochem Biophys Res Commun* 388: 161–166.
- Long F, Chung U, Ohba S, et al. (2004). Ihh signaling is directly required for the osteoblast lineage in the endochondral skeleton. *Development*; 131:1309–1318.

- Long, J., W. Tang, Y. B. Fan, W. D. Tian, F. Feng, L. Liu, X. H. Zheng, W. Jing and L. Wu. (2009). Effects of rapid distraction rate on new bone formation during mandibular distraction osteogenesis in goats. *Injury*;40(8): 831-834.
- Mak KK, Chen M-H, Day TF, et al. (2006). Wnt/beta-catenin signaling interacts differentially with Ihh signaling in controlling endochondral bone and synovial joint formation. *Development*;133:3695–3707
- Marsell R, Einhorn TA. (2011) The biology of fracture healing. *Injury*;42:551–555.
- Matsubara H, Hogan DE, Morgan EF, et al. (2012). Vascular tissues are a primary source of BMP2 expression during bone formation induced by distraction osteogenesis. *Bone*;51:168–180.
- McCarthy JG, Stelnicki EJ, Mehrara BJ, et al. (2001). Distraction osteogenesis of the craniofacial skeleton. *Plast Reconstr Surg*;107:1812–1827.
- McCarthy, J. G., J. K. Williams, B. H. Grayson and J. S. Crombie. (1998). Controlled multiplanar distraction of the mandible: device development and clinical application. *J Craniofac Surg*;9(4): 322-329.
- Menagh PJ, Turner RT, Jump DB, Wong CP, Lowry MB, Yakar S, Rosen CJ, Iwaniec UT. (2010). Growth hormone regulates the balance between bone formation and bone marrow adiposity. *J Bone Miner Res* 25: 757–768.
- Miner S, Leucht P, Jiang J, et al. (2010). Wnt proteins promote bone regeneration. *Sci Transl Med*;2:29ra30.
- Morgan EF, Hussein AI, Al-Awadhi BA, et al. (2012). Vascular development during distraction osteogenesis proceeds by sequential intramuscular arteriogenesis followed by intraosteal angiogenesis. *Bone*;51:535–545.
- Muller, R., H. Van Campenhout, B. Van Damme, G. Van Der Perre, J. Dequeker, T. Hildebrand and P. Ruegsegger. (1998). Morphometric analysis of human bone biopsies: a quantitative structural comparison of histological sections and micro-computed tomography. *Bone*. 23(1): 59-66.

- Mundlos S, Otto F, Mundlos C, et al. (1997). Mutations involving the transcription factor CBFA1 cause cleidocranial dysplasia. *Cell*;89:773–779.
- Murakami S, Balmes G, McKinney S, et al. (2004). Constitutive activation of MEK1 in chondrocytes causes Stat1-independent achondroplasia-like dwarfism and rescues the Fgfr3-deficient mouse phenotype. *Genes Dev*;18:290–305.
- Nicholson HD. (1996). Oxytocin: a paracrine regulator of prostatic function. *Rev Reprod*; 1: 69-72.
- Norris, S. A., J. M. Pettifor, D. A. (2001). Gray and R. Buffenstein. Calcium metabolism and bone mass in female rabbits during skeletal maturation: effects of dietary calcium intake. *Bone*. 29(1): 62-69.
- Nott RL, Stelnicki EJ, Mack JA, et al. (2002). Changes in the protein expression of hedgehog and patched-1 in perisutural tissues induced by cranial distraction. *Plast Reconstr Surg*. 110:523–532.
- Oe K, Miwa M, Sakai Y, et al. (2007). An in vitro study demonstrating that haematomas found at the site of human fractures contain progenitor cells with multilineage capacity. *J Bone Jt Surg Br* ;89-B:133–138.
- Okazaki H, Kurokawa T, Nakamura K, Matsushita T, Mamada K, Kawaguchi H. (1999). Stimulation of bone formation by recombinant fibroblast growth factor-2 in callotasis bone lengthening of rabbits. *Calcif Tissue Int.*;64(6):542-6.
- Paccione MF, Warren SM, Spector JA, et al. (2001). A mouse model of mandibular osteotomy healing. *J Craniofac Surg* ;12:444–450.
- Pacicca DM, Patel N, Lee C, et al. (2003). Expression of angiogenic factors during distraction osteogenesis. *Bone* ;33:889–898.
- Park, J. W., J. M. Kim, H. J. Lee, S. H. Jeong, J. Y. Suh and T. Hanawa . (2014). Bone healing with oxytocin-loaded microporous beta-TCP bone substitute in ectopic bone formation model and critical-sized osseous defect of rat. *J Clin Periodontol*;41(2): 181-190.

- Petersson, M., T. Lundeberg, A. Sohlstrom, U. Wiberg and K. Uvnas-Moberg. (1998). Oxytocin increases the survival of musculocutaneous flaps. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*;357(6): 701-704.
- Poole KE, Treece GM, Ridgway GR, Mayhew PM, Borggreffe J, Gee AH. (2011). Targeted regeneration of bone in the osteoporotic human femur. *PLoS One*;6(1):e16190.
- Raschke MJ, Bail H, Windhagen HJ, Kolbeck SF, Weiler A, Raun K, et al. (1999). Recombinant growth hormone accelerates bone regenerate consolidation in distraction osteogenesis. *Bone*.;24(2):81-8.
- Ren Y, Liu B, Feng Y, et al. (2011). Endogenous PTH deficiency impairs fracture healing and impedes the fracture-healing efficacy of exogenous PTH(1–34). *PLoS One*;6:e23060.
- Ritchi LD, Fung EB, Halloran BP, Turnland JR, VanLoan MD, Cann CE, King JC. (1998). A longitudinal study of calcium homeostasis during human pregnancy and lactation and after resumption of menses. *Am J Clin Nutr* 76: 693–701.
- Runyan CM, Gabrick KS. (2017). Biology of Bone Formation, Fracture Healing, and Distraction Osteogenesis. *J Craniofac Surg*. Jul;28(5):1380-1389.
- Sasaki T. (2005). TGF-mediated FGF signaling is crucial for regulating cranial neural crest cell proliferation during frontal bone development. *Development*;133:371–381.
- Sato M, Ochi T, Nakase T, et al. (1999). Mechanical tension-stress induces expression of bone morphogenetic protein (BMP)-2 and BMP-4, but not BMP-6, BMP-7, and GDF-5 mRNA, during distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res*;14:1084–1095.
- Sato M, Yasui N, Nakase T, et al. (1998). Expression of bone matrix proteins mRNA during distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res*;13:1221–1231.
- Seriwatanachai D, Thongchote K, Charoenphandhu N, Pandaranandaka J, Tudpor K, Teerapornpuntakit J, Suthiphongchai T, Krishnamra N. (2008). Prolactin

- directly enhances bone turnover by raising osteoblast-expressed receptor activator of nuclear factor- κ B ligand/osteoprotegerin ratio. *Bone* 42: 535–546.
- Shibazaki R, Maki K, Tachikawa T, et al. (2005). Changes in parathyroid hormone-related protein and 3-dimensional trabecular bone structure of the mandibular condyle following mandibular distraction osteogenesis in growing rats. *J Oral Maxillofac Surg*;63:505–512.
- Snyder CC, Levine GA, Swanson HM, et al. (1973). Mandibular lengthening by gradual distraction. *Plast Reconstr Surg*;51:506–508.
- Soloff MS, Jeng YJ, Copland JA, Strakova Z, Hoare S. (2000). Signal pathways mediating oxytocin stimulation of prostaglandin synthesis in select target cells. *Experimental Physiology*;85:51S–8S.
- Sowers M, Eyre D, Hollis DW, Randolph JF, Shapiro B, Jannausch ML, Crutchfield M. (1995). Biochemical markers of bone turnover in lactating and nonlactating postpartum women. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 2210–2216.
- Sowers M, Jannausch M, McConnell D, Little R, Greendale GA, Finkelstein JS, Neer RM, Johnston J, Ettinger B. (2006). Hormone predictors of bone mineral density changes during the menopausal transition. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 1261–1267.
- Spector JA, Luchs JS, Mehrara BJ, et al. (2001). Expression of bone morphogenetic proteins during membranous bone healing. *Plast Reconstr Surg*;107:124–134.
- St-Jacques B, Hammerschmidt M, McMahon AP. (1999). Indian hedgehog signaling regulates proliferation and differentiation of chondrocytes and is essential for bone formation. *Genes Dev*;13:2072–2086.
- Stewart, K. J., G. O. Loeff, S. A. White, S. F. Bonar, W. R. Walsh, R. C. Smart and M. D. Poole. (1998). Mandibular distraction osteogenesis: a comparison of distraction rates in the rabbit model. *J Craniomaxillofac Surg*;26(1): 43-49.
- Street J, Bao M, deGuzman L, et al. (2002). Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. *Proc Natl Acad Sci*;99:9656–9661.

- Sun L, Peng Y, Sharrow AC, Iqbal J, Zhang Z, Papachristou DJ, Zaidi S, Zhu LL, Yaroslavskiy BB, Zhou H, Zallone A, Sairam MR, Kumar TR, Bo W, Braun J, Cardoso-Landa L, Schaffler MB, Moonga BS, Blair HC, Zaidi M. (2006). FSH directly regulates bone mass. *Cell* 125: 247–260.
- Swennen, G., H. Schliephake, R. Dempf, H. Schierle and C. Malevez. (2001). Craniofacial distraction osteogenesis: a review of the literature: Part 1: clinical studies. *Int J Oral Maxillofac Surg*;30(2): 89-103.
- Syed F, Khosla S. (2005). Mechanisms of sex steroid effects on bone. *Biochemical and Biophysical Research Communications*;328:688–96.
- Tamma R, Colaianni G, Zhu LL, DiBenedetto A, Greco G, Montemurro G, Patano N, Strippoli M, Vergari R, Mancini L, Colucci S, Grano M, Faccio R, Liu X, Li J, Usmani S, Bachar M, Bab I, Nishimori K, Young LJ, Buettner C, Iqbal J, Sun L, Zaidi M, Zallone A. (2009). Oxytocin is an anabolic bone hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 7149–7154.
- Tamma R, Sun L, Cuscito C, Lu P, Corcelli M, Li J, Colaianni G, Moonga SS, Di Benedetto A, Grano M, Colucci S, Yuen T, New MI, Zallone A, Zaidi M. (2013). Regulation of bone remodeling by vasopressin explains the bone loss in hyponatremia. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 18644–18649.
- Tekin U., H. H. Tuz, E. Onder, O. Ozkaynak and P. Korkusuz . (2008). Effects of alendronate on rate of distraction in rabbit mandibles. *J Oral Maxillofac Surg*;66(10): 2042-2049.
- Thackare H, Nicholson HD, Whittington K. (2006). Oxytocin--its role in male reproduction and new potential therapeutic uses. *Hum Reprod Update*; 12: 437-448.
- Thomas T., O. Barou L. Vico, C. Alexandre and M. H. Lafage-Proust . (1999). Recurrence of vertebral fracture with cyclical etidronate therapy in osteoporosis: histomorphometry and X-Ray microanalysis evaluation. *J Bone Miner Res*;14(2): 198-205.

- Thorogood PV, Hinchliffe JR. (1975). An analysis of the condensation process during chondrogenesis in the embryonic chick hind limb. *J Embryol Exp Morphol*;33:581–606.
- Tsubota S, Tsuchiya H, Shinokawa Y, Tomita K, Minato H. (1999). Transplantation of osteoblast-like cells to the distracted callus in rabbits. *J Bone Joint Surg Br.*;81(1):125-9.
- Umer M, Ahmad T, Habib S, Rehman R, Qadir I, Ahmed M. (2014). Effect of teriparatide on bone regenerate after distraction osteogenesis. *J Pak Med Assoc. Dec*;64(12 Suppl 2):S3-7.
- VanHouten JN, Wysolmerski JJ. (2003). Low estrogen and high parathyroid hormone-related peptide levels contribute to accelerated bone resorption and bone loss in lactating mice. *Endocrinology* 144: 5521–5529.
- Viero C, Shibuya I, Kitamura N, Verkhatsky A, Fujihara H, Katoh A, Ueta Y, Zingg HH, Chvatal A, Sykova E, Dayanithi G. (2010). Oxytocin: Crossing the bridge between basic science and pharmacotherapy. *CNS Neurosci Ther*; 16: e138-e156.
- Vrachnis N, Malamas FM, Sifakis S, Deligeoroglou E, Iliodromiti Z. (2011). The oxytocin-oxytocin receptor system and its antagonists as tocolytic agents. *Int J Endocrinol* 2011;: 350546 .
- Vu TH, Werb Z. (2000). Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev*;14:2123–2133.
- Wagner F, Vach W, Augat P, Varady PA, Panzer S, Keiser S, Eckardt H. Daily (2019). subcutaneous Teriparatide injection increased bone mineral density of newly formed bone after tibia distraction osteogenesis, a randomized study. *Injury. Aug*;50(8):1478-1482.
- Wang M, Lan L, Li T, Li J, Li Y. (2016). The effect of oxytocin on osseointegration of titanium implant in ovariectomized rats. *Connect Tissue Res. May*;57(3):220-5.

- Wang X, Yu YY, Lieu S, et al. (2013). MMP9 regulates the cellular response to inflammation after skeletal Injury. *Bone*;52:111–119.
- Wang Y, Wan C, Szoke G, Ryaby JT, Li G. (2008). Local injection of thrombin-related peptide (TP508) in PPF/PLGA microparticles-enhanced bone formation during distraction osteogenesis. *J Orthop Res.*;26(4):539–46.
- Wang M., L. Lan T. Li, J. Li and Y. Li. (2016). The effect of oxytocin on osseointegration of titanium implant in ovariectomized rats. *Connect Tissue Res*;57(3): 220-225.
- Weinstein, R. S. and M. S. Hutson. (1987). Decreased trabecular width and increased trabecular spacing contribute to bone loss with aging. *Bone*;8(3): 137-142.
- Whyte MP, Wenkert D, Clements KL. (2003). Bisphosphonate-induced osteopetrosis. *N Engl J Med*;349:457–62.
- Yang J, Andre P, Ye L, et al. (2015). The Hedgehog signalling pathway in bone formation. *Int J Oral Sci*;7:73–79.
- Yasui N, Sato M, Ochi T, et al. (1997). Three modes of ossification during distraction osteogenesis in the rat. *J Bone Joint Surg Br*;79:824– 830.
- Ye B, Li Y, Zhu S, Sun S, Hu J, Zou S. (2017). Effects of Intermittent Low-Dose Parathyroid Hormone Treatment on Rapid Mandibular Distraction Osteogenesis in Rabbits. *J Oral Maxillofac Surg. Aug*;75(8):1722-1731.
- Yonezawa H, Harada K, Ikebe T, et al. (2006). Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) on bone consolidation on distraction osteogenesis: a preliminary study in rabbit mandibles. *J Craniomaxillofac Surg*;34:270–276.
- Yoshida T, Vivatbutsiri P, Morriss-Kay G, et al. (2008). Cell lineage in mammalian craniofacial mesenchyme. *Mech Dev*;125:797–808.
- Zelzer E, Mamluk R, Ferrara N, et al. (2004). VEGFA is necessary for chondrocyte survival during bone development. *Development*;131:2161–2171.

Zhu S, Song D, Jiang X, et al. (2011). Combined effects of recombinant human BMP-2 and Nell-1 on bone regeneration in rapid distraction osteogenesis of rabbit tibia. *Injury*;42:1467–1473.

Zingg HH, Lefebvre DL. (1988). Oxytocin and vasopressin gene expression during gestation and lactation. *Brain Res*; 464: 1-6.



6. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Ad-Soyadı : Berkan Altay

Doğum yeri : Çankaya/ ANKARA

Doğum tarihi : 16.09.1991

Uyruğu : TC

Medeni hali : Bekar

Öğrenim Bilgileri:

İlkokul : 1998 /2005 Atakent İlköğretim Okulu

Ortaokul : : 2002/2005 Atakent İlköğretim Okulu

Lise : 2005/2009 Ankara Anadolu Lisesi

Üniversite : 2010-2015 Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Uzmanlık : 2016/- Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız,Diş Ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Rotasyonlar:

2017- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon A.D

2017- Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti A.D

2018- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp A.D

2018- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi A.D

2019- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak-Burun-Boğaz A.D

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Ağız ve Çene-Yüz Cerrahisi Birliği Derneği (AÇBİD)

International Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (IOAMS)

European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery (EACMFS)

SCI, SCI-E ve AHCI, kapsamında taranan dergilerde yayınlanan araştırma, derleme

1-Ozkan Ozgul, Berkan Altay, Fethi Atıl, M. Ercüment Önder, Umut Tekin, Seda Yılmaz, and Ismail Doruk Koçyigit. Allogenic versus Autogenous Bone Rings in Dental Implant Surgery: Guidance of Stress Analysis-Part II. Journal of Biomaterials and Tissue Engineering Vol. 8, 448–453, 2018

SCI, SCI-E ve AHCI kapsamı dışındaki dergilerde yayınlanan olgu sunumu, editöre mektup

1-M. Ercüment Önder, Berkan Altay, Fethi Atıl, Umut TEKİN, DDS, İ.Doruk Koçyigit and Özkan Özgül. Unusual Radicular Cyst Formation Derived From Primary Teeth in Hyper Immunoglobulin E Syndrome. Eurasia J Oral Maxillofac Surg 2019 Sep;1(1):30-32

KABUL EDİLMİŞ YAYIN SÜRECİNDEKİ MAKALELERİ

1- Elif Sanli, Berkan Altay. Pediatric Dog Bite Injuries of Head and Neck: An Algorithm for the Treatment of Our Clinic. Turkish Journal of Plastic Surgery.

Sözlü Bildiriler:

1. Berkan Altay, İsmail Doruk Koçyigit, Mustafa Ercüment Önder, Umut Tekin, Fethi Atıl, Özkan Özgül, Seda Yılmaz. RESISTANCE OF ALLOGENIC AND AUTOGENOUS BONE-RINGS TO THE LOADING FORCES AFTER IMPLANTATION (OP-098) AÇBİD 11. International Congress 19-23 April, Antalya, Turkey, 2017
2. Berkan Altay, Kaan Orhan, Mustafa Ercüment Önder, Umut Tekin, Fethi Atıl, Ismail Doruk Koçyigit, Özkan Özgül. Effect of systemic oxytocin application on new bone

formation and distraction rate on rabbit mandible: first results (OP-030) AÇBİD 13. International Congress with EACMFS Enorcement 24-28 April, Antalya, Turkey, 2019

Ulusal, Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiri ve Posterler:

1. Berkan Altay, Nihal Özcan, Ali Özcan CAD/CAM CUT-BACK TEKNİKLE ÜRETİLEN ESTETİK RESTORASYONLAR: OLGU SUNUMU (P016) Turkish Dental Association 20. International Dental Congress May 29-31, 2014, Kuşadası-Aydın, TURKEY
2. Selmi Yılmaz, Berkan Altay, Alime Okkesim, Mehmet Zahit Adışen LOCALİSED PERIPHERAL ODONTOGENİC FİBROMA (P-91) Oral Diagnosis And Maxillofacial Radiology society 2. Internationsl Congress 7. Scintific Meeting April 13-15, 2017 ESKİSEHIR, TURKEY
3. Şahin Necibe Damla, Altay Berkan, Erkmn Almaz Merve, Özgül Özkan. Çocuk Hastada Büyük Boyutlu Kist: Vaka Raporu. Türk Diş Hekimleri Birliği 23. Uluslararası Kongresi 21-24 Eylül, İstanbul, Türkiye, 2017.
4. Mustafa Ercüment Önder, Berkan Altay, Fethi Atıl, Umut Tekin, İsmail Doruk Koçyiğit, Özkan Özgül. UNUSUAL RADİCULAR CYST FORMATION DERİVERD FROM PRİMERY TEETH HYPER IMMUNOGLOBULIN E SYNDROME (PP-098) AÇBİD 11. International Congress 19-23 April, Antalya, Turkey, 2017
5. Mustafa Ercüment Önder, Umut Tekin, Fethi Atıl, İsmail Doruk Koçyiğit, Özkan Özgül, Berkan Altay. SURGERY FİRSİ IN ORTHOGNATHİC SURGERY: A CASE REPORT (PP-021) IAOMS-AÇBİD joint Congress in Conjunction With AÇBİD 12. Congress, may 9-13, Antalya, Turkey,2018
6. Berkan Altay, Umut Tekin, Mustafa Ercüment Önder, Fethi Atıl, İsmail Doruk Koçyiğit, Özkan Özgül. Reduction of bone fragments with gray intravenous catheter guidance in displaced low-condylar neck fractures: An alternative tool usage. (PP-080) AÇBİD 13. International Congress with EACMFS Enorcement 24-28 April, Antalya, Turkey, 2019

Sunulan Seminerler:

1. Devamlı Distraksiyon Osteogenezisi ve Kesintili Distraksiyon Osteogenezisi ile Kıyaslanması. Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı
2. Temporomandibular Eklem Kondiler Hiperlazisi (Sınıflandırılması ve Tedavi Yaklaşımı). Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Katıldığı Konferans ve Sempozyumlar:

1. Türk Diş Hekimleri Birliği 5. Ulusal Öğrenci kongresi (16-17 Nisan 2011/Antalya)
2. Türk Diş Hekimleri Birliği 6. Ulusal Öğrenci kongresi (13-14 Ekim 2012/Samsun)
3. FDI 101. Annual World Dental Congress (28-31 August 2013/Istanbul-Turkey)
4. Turkish Dental Association 20th International Dental Congress (29-31 May 2014/Kuşadası-Aydın) TDB 20. Uluslararası Dişhekimliği Kongresi (29-31 Mayıs 2014/Kuşadası-Aydın-Turkey)
5. Temporomandibular Eklem Sempozyumu “Teşhis ve Tedavi Seçenekleri” (20 Kasım 2014/ Kırıkkale Üniversitesi Diş Hek.)
6. TDB 9. Ulusal Öğrenci Kongresi (28-29 Mart 2015/ Zonguldak)
7. Estetik Diş Hekimliği Akademisi Derneği Adana Semineri (09 Nisan 2016/Adana)
8. İmmediat İmplantasyon, İmmediat restorasyon, İmmediat Yükleme Semineri (7 Mayıs 2016/Samsun)
9. Temel Epidemiyoloji ve Biyoistatistik Kursu 09-11 Mayıs 2016/Kırıkkale üniversitesi Diş Hek.)
10. AÇBİD 11th International Congress (19-23 April 2017/Antalya-Turkey)
11. Nobel Biocare User Day “İmplant Dişhekimliğinde Pradigma değişimi: Yumuşak Doku Kavramının Önemi” (4 Kasım 2017/Ankara)
12. Ağız ve Çene Yüz Cerrahisi Birliği Derneği 3 .Asistan Okulu (20-21 Ekim 2018/ Ankara-Türkiye)
13. AÇBİD 13. International Congress with EACMFS Enorcement 24-28 April, Antalya, Turkey, 2019

Diğer Akademik Faliyetler :

2018/013 nolu, Tavşanlarda Sistemik Olarak Verilen Oksitosinin,, Distraksiyon İşleminin Hızına ve Yeni Kemik Oluşumuna Etkisinin İncelenmesi isimli projede araştırmacı (2018/2010) Berkan ALTAY