



T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA DENEYSEL DİŞ HAREKETİ SONRASI
SİSTEMİK OSTEOPROTEGERİN UYGULAMASININ
RETANSİYON SIRASINDA KEMİK REMODELİNGİNE
ETKİSİNİN HİSTOMORFOMETRİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

DİŞ HEKİMİ
SİNE ERDEM

DANIŞMAN
PROF. DR. TÜLİN ARUN

İSTANBUL - 2010



T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA DENEYSEL DİŞ HAREKETİ SONRASI
SİSTEMİK OSTEOPROTEGERİN UYGULAMASININ
RETANSİYON SIRASINDA KEMİK REMODELİNGİNE
ETKİSİNİN HİSTOMORFOMETRİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

DİŞ HEKİMİ
SİNE ERDEM

DANIŞMAN
PROF. DR. TÜLİN ARUN

İSTANBUL - 2010

TEŞEKKÜR

Diş hekimliği ve ortodonti eğitimim sırasında sunmuş olduğu olanaklar ve bana olan inancı için Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı Sayın **Prof. Dr. Türker Sandallı**'ya,

Ortodonti eğitimim boyunca bana büyük emeği geçen, yolumu aydınlatan, değerli tez danışmanım Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Tülin Arun**'a,

Tezimin hazırlanmasındaki içten yardımları, sonsuz sabrı ve ortodonti eğitimime olan katkılarından dolayı, bilime olan sevgisine hayran olduğum Sayın **Doç. Dr. Fulya Işık Özdemir**'e,

Doktora eğitimime yaptığı minnet duyduğum katkıları, sonsuz sabrı, bana olan desteği için, ufkumu açan, mesleğine olan saygısını örnek aldığım Sayın **Doç. Dr. Korkmaz Sayınsu**'ya,

Ortodonti eğitimim boyunca bana destek ve yardımcı olan **Yrd. Doç. Dr. Didem Nalbantgil**'e, **Yrd. Doç. Dr. Derya Germeç Çakan**'a ve **Yrd. Doç. Dr. Göksu Trakyalı**'ya,

Tezimin hazırlanması konusundaki yardımları için Sayın **Yrd. Doç. Dr. Ünal Uslu**'ya, eksik etmediği içten desteği ve ilgisi için Sayın **Dr. Alev Cumbul**'a ve **Araş. Gör. E. Çiğdem Kaspar**'a,

Dört yıl süren doktora eğitimim boyunca yanımda olan sevgili çalışma arkadaşlarıma ve tüm ortodonti bölümü çalışanlarına,

Hayatıma ışık tutan babam **Dr. Cihat Erdem** ve ilk öğretmenim olan annem **Sema Erdem**'e, her anımda yanımda ve en büyük desteğim olan kardeşlerim, sevgili meslektaşım **Dt. Sinem Erdem** ve gelecekteki meslektaşım **Aytek Erdem**'e sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

SIÇANLARDA DENEYSEL DİŞ HAREKETİ SONRASI SİSTEMİK OSTEOPROTEGERİN UYGULAMASININ RETANSİYON SIRASINDA KEMİK REMODELİNGİNE ETKİSİNİN HİSTOMORFOMETRİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmanın amacı, deneysel diş hareketi sonrasında uygulanan osteoprotegerinin kemik remodelingi üzerindeki etkisinin histomorfometrik olarak incelenmesidir.

Bu amaçla, 20 adet, Sprague-Dawley sıçanının üst sağ birinci ve ikinci azı dişleri arasına 0,5 mm kalınlığında ortodontik elastikler yerleştirilmiştir. Üçüncü günün sonunda, sıçanlar 10'arlı iki gruba ayrılmış, gruplardan birine 5 mg/kg osteoprotegerin (OPG) değerine aynı miktarda serum fizyolojik haftada iki defa, subkutan olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyonlara başlanmasından 2 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Deneyin sonunda, sakrifiye edilen hayvanların üst çeneleri diseke edilmiş, histomorfometrik inceleme için gerekli kesitler hazırlanmıştır.

Yapılan histomorfometrik incelemede, ortodontik kuvvet uygulanan dişlerin kökleri arasındaki alveolar kemiğin hacmi, kontrol grubunda $0,347\pm 0,035$ mm³, OPG grubunda ise $0,737\pm 0,039$ mm³ olarak bulunmuştur. OPG grubunda köklerarasındaki alveolar kemik hacminin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görülmüştür ($p<0,001$). Diş kökleri arasındaki alveolar kemiğin dokuya oranı, kontrol grubunda % $43\pm 1,8$, OPG grubunda % $55\pm 3,3$ olarak bulunmuştur. Diş kökleri arasındaki dokuda bulunan alveolar kemik oranının, OPG grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Çalışmamızda, osteoklastik aktiviteyi inhibe etme özelliği gösteren osteoprotegerinin ortodontik diş hareketi sonrasında uygulanması durumunda, kemik remodelingi sırasında kemik yapımına olumlu bir katkı sağlayacağı ve buna bağlı olarak da nüksü azaltabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Ortodontik diş hareketi, nüks, remodeling, osteoprotegerin, pekiştirme

SUMMARY

HISTOMORPHOMETRIC EVALUATION OF THE EFFECT OF SYSTEMIC OSTEOPROTEGERIN ADMINISTRATION ON BONE REMODELING DURING RETENTION AFTER EXPERIMENTAL TOOTH MOVEMENT IN RATS

The aim of this study was to histomorphometrically evaluate the effect of osteoprotegerin administered following experimental tooth movement, on bone remodeling during retention in rats.

Twenty Sprague-Dawley rats were used for this purpose. Orthodontic elastics, 0,5 mm thick, were inserted between the maxillary right first and second molars to achieve orthodontic tooth movement. At the end of the third day the rats were divided into two groups including 10 animals each. One of the groups received 5 mg/kg subcutaneous osteoprotegerin (OPG) twice a week, while the other received volume-matched saline solution. Animals were sacrificed two weeks after the onset of injections. At the end of the experiment, the maxillae of the animals were excised and required sections were prepared for the histomorphometric evaluation.

In the histomorphometric evaluation, the volume of alveolar bone between the roots of the teeth that underwent orthodontic force were found to be $0,347 \pm 0,035 \text{ mm}^3$ in the control group and $0,737 \pm 0,039 \text{ mm}^3$ in the OPG group. In the OPG group, the volume of alveolar bone between the roots was significantly higher than the control group ($p < 0,001$). The volume fractions of alveolar bone in the interradicular area, were found to be $43 \pm 1,8 \%$ in the control group and $55 \pm 3,3 \%$ in the OPG group. In the OPG group the volume fraction of alveolar bone in the interradicular area was significantly higher than the control group ($p < 0,05$).

In this study, it was concluded that administration of osteoprotegerin, which inhibits osteoclastic activity, following orthodontic tooth movement may have a positive effect on bone formation during bone remodeling and thus reduce relapse potential.

Key Words: Orthodontic tooth movement, relapse, remodeling, osteoprotegerin, retention

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
ÖZET	III
SUMMARY	V
İÇİNDEKİLER	VII
ETİK KURUL ONAYI	IX
KISALTMALAR VE SİMGELER	X
RESİM LİSTESİ	XI
TABLO LİSTESİ	XII
ŞEKİL LİSTESİ	XIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ortodontik Tedavi Sonrası Görülen Nüks	3
2.1.1. Ortodontik Tedavi Sonrası Görülen Nüksün Nedenleri	3
2.1.1.1. Peridontal ve Gingival Dokulardan Kaynaklanan Kuvvetler	3
2.1.1.2. Orofasyal Yumuşak Dokulardan Kaynaklanan Kuvvetler	4
2.1.1.3. Oklüzal Faktörler ve Oklüzal Kuvvetler	4
2.1.1.4. Tedavi Sonrası Yüz Büyüme ve Gelişimi	5
2.1.1.5. Ark Formunun Değiştirilmesi	5
2.1.1.6. Gelişmekte Olan Üçüncü Azı Büyük Dişleri	6
2.1.1.7. Alt Keser Boyutları	6
2.1.1.8. Başlangıçtaki Maloklüzyonun Tipi	7
2.2. Pekiştirme Dönemi	7
2.2.1. Pekiştirmenin Tanımı	7
2.2.2. Pekiştirmenin Amacı	8
2.2.3. Pekiştirmenin Tarihçesi	8
2.2.4. Pekiştirme Aygıtları	9
2.2.5. Pekiştirmenin Gerekliliği	10
2.2.6. Pekiştirmenin Planlanması	12
2.2.7. Pekiştirmenin Süresi	13

2.3. Kemik Dokusu	14
2.3.1. Kemik Dokusunun Özellikleri	14
2.3.2. Kemiğin Gerilme ve Sıkışma Direnci	17
2.3.3. Kemik Hücreleri	18
2.3.3.1. Osteoblast	18
2.3.3.2. Osteosit	19
2.3.3.3. Osteoklast	20
2.3.4. Kemiği Yapan ve Rezorbe Eden Hücreler Arasındaki Etkileşim	21
2.3.5. Kemik Remodelingi	22
2.4. Kemik Metabolizmasında RANKL/RANK/Osteoprotegerin Sistemi	24
2.4.1. RANKL	25
2.4.2. RANK	26
2.4.3. Osteoprotegerin	27
2.4.3.1. Osteoprotegerinin Farmakolojik Etkisi ve Terapötik Kullanımı	29
2.5. Deney Hayvanı Olarak Sıçan ve Deneysel Ortodontik Diş Hareketi	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Gereç	34
3.2. Yöntem	35
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	42
4. BULGULAR	43
4.1. Takip Bulguları	43
4.2. Histomorfometrik Bulgular	43
4.3. Histopatolojik Bulgular	45
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ	61
7. KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	86

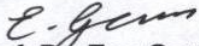
ETİK KURUL ONAYI

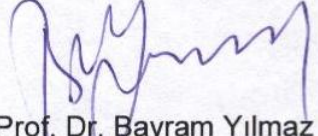
T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU

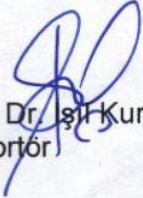
Prof. Dr. Tülin Arun, Y. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi

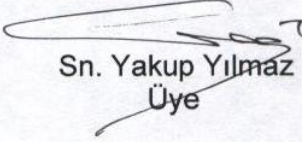
İlgi: 15.04. 2009 tarihli yazınız.

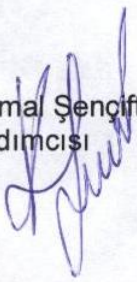
Sorumluluğunu üstlendiğiniz "Sıçanlarda deneysel diş hareketi sonrası osteoprotegerin uygulanmasının retansiyon sırasında kemik remodelinge etkisinin histomorfometrik olarak değerlendirilmesi" isimli projenin Etik Kurul İlkelerine uygun olduğu, kurulun 8 Mayıs 2009 tarihli toplantısında onaylanmıştır.

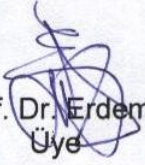

Prof. Dr. Ece Genç
Y.Ü.D.H.E.K Başkanı


Prof. Dr. Bayram Yılmaz
Üye


Doç. Dr. Şif Kurnaz
Raportör


Sn. Yakup Yılmaz
Üye


Prof. Dr. Kemal Şencift
Başkan Yardımcısı


Prof. Dr. Erdem Yeşilada
Üye

Sn Arif Sarıkaya
Üye
katilmedi

KISALTMALAR VE SİMGELER

OPG: Osteoprotegerin

RANKL: Nükleer Faktör Kappa β Reseptör Aktivatörü Ligandı

RANK: Nükleer Faktör Kappa β Reseptör Aktivatörü

TNF: Tümör Nekroz Faktörü

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Sıçanların yerleştirildiği kafesler	35
Resim 2: Sıçanların numaralandırılması	35
Resim 3: Anestezi uygulaması	36
Resim 4: Ortodontik elastiğin uygulanması sırasında ağız içi görüntüsü	36
Resim 5: Ortodontik elastiğin çıkartılması	37
Resim 6: Sıçanların ağırlıklarının tespit edilmesi	38
Resim 7: Çalışmada kullanılan osteoprotegerin	38
Resim 8: Subkutan enjeksiyon uygulaması	39
Resim 9: Enjeksiyon programı	39

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Deney gruplarının ortalama alveolar kemik hacimleri	44
Tablo 2: Deney gruplarının ortalama alveolar kemik oranları	45

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Kemik metabolizmasında RANKL/RANK/Osteoprotegerin etkileşimi	22
Şekil 2: Deney gruplarının ortalama alveolar kemik hacimleri	44
Şekil 3: Deney gruplarının ortalama alveolar kemik oranları	45
Şekil 4: Ortodontik kuvvet uygulanmış kontrol grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü	46
Şekil 5: Ortodontik kuvvet uygulanmış OPG grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü	46
Şekil 6: Ortodontik kuvvet uygulanmış kontrol grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü	47
Şekil 7: Ortodontik kuvvet uygulanmış OPG grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü	47
Şekil 8: Ortodontik kuvvet uygulanmış kontrol grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü	48
Şekil 9: Ortodontik kuvvet uygulanmış OPG grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü	48
Şekil 10: Ortodontik kuvvet uygulanmış kontrol grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü	49
Şekil 11: Ortodontik kuvvet uygulanmış OPG grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü	49
Şekil 12: Ortodontik kuvvet uygulanmış kontrol grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü	50
Şekil 13: Ortodontik kuvvet uygulanmış OPG grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü	50

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ortodontik tedavinin temel hedeflerinden biri, elde edilen sağlıklı ve kendi içerisinde uyumlu yapının fonksiyonel ve estetik açıdan stabilitesinin korunmasıdır.

Ortodontik tedavinin bitimini takiben dişler tedavi öncesi pozisyonlarına dönme eğilimi gösterir. Bu durum 'nüks' olarak tanımlanır. Etyolojisi tam olarak anlaşılamamakla birlikte, nüks, periodontal ve oklüzal faktörleri, yumuşak dokuların neden olduğu basınçları ve devam eden büyümeyi de içeren çeşitli faktörlerle ilişkilendirilir (1).

Dişlerin eski konumlarına dönmesine engel olmak için tedavinin bitimini takiben pekiştirme dönemine ihtiyaç duyulmaktadır (2,3). Pekiştirme, ortodontik tedavinin, aktif diş hareketi sonrasında dişlerin düzeltilmiş konumlarının korunmasını sağlayan dönemidir (4).

Pekiştirme süresi boyunca periodontal ve gingival dokunun reorganizasyonu, büyümeden kaynaklanan değişikliklerin en aza indirilmesi, nöromusküler adaptasyonun sağlanması amaçlanır (5).

Pekiştirme döneminde kullanılan aygıtlar hareketli veya sabit olabilir (6). Hareketli aygıtların kullanımı için hasta kooperasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır. Sabit pekiştirme aygıtları ise bu ihtiyacı azaltarak, daha güvenilir bir pekiştirme sağlar. Bu aygıtlara diastemaların ve çekim boşluklarının kapatıldığı, şiddetli rotasyonların düzeltildiği olgularda özellikle ihtiyaç duyulmaktadır (6,7). Sabit pekiştirme aygıtları, sağladıkları avantajların yanında bir takım dezavantajlara da sahiptir. Bu aygıtların uygulanacağı hastaların iyi bir oral hijyene sahip olmaları zorunludur (8). Aygıtın yapıştırılması sırasında telin pasif olmaması durumunda istenmeyen

diş hareketleri gerçekleşebilmektedir (9,10). Ayrıca bu aygıtlar, mekanik streslere maruz kalmaları muhtemel olduğundan, derin kapanış vakalarında, oklüzyon dışında tutulmaları mümkün olmayacağından endike değildir (11). Pekiştirme amacıyla kullanılan aygıtların çeşitli dezavantajları olması, özellikle de hastalar tarafından kolay kabul edilir olmamaları, pekiştirme döneminin herhangi bir aygıt olmaksızın geçirilebilmesi hedefini doğurmaktadır. Bunun gerçekleşmesi için aktif ortodontik tedavi sonrası, dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin remodelingi üzerinde kemik dokuda rezorpsiyonu engelleyerek etki gösteren çeşitli maddelerin kullanılabileceği önerilmiştir (12,13).

Bu çalışmanın amacı, deneysel diş hareketi sonrasında uygulanan osteoprotegerinin kemik remodelingi üzerindeki etkisinin histomorfometrik olarak incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ortodontik Tedavi Sonrası Görülen Nüks

Ortodontik tedaviden sonra dişlerin tedavi öncesi pozisyonlarına dönme eğilimi 'nüks' olarak tanımlanmaktadır. Nüksün etyolojisinde, periodontal ve okluzal faktörler, yumuşak dokuların neden olduğu basınçlar ve devam eden büyüme gibi çeşitli etkenlerin rol oynadığı düşünülmektedir (1).

2.1.1. Ortodontik Tedavi Sonrası Görülen Nüksün Nedenleri

2.1.1.1. Peridontal ve Gingival Dokulardan Kaynaklanan Kuvvetler

Ortodontik diş hareketinden sonra periodonsiyumda önemli miktarda rezidüel kuvvet kalmaktadır (3,14-16). Periodontal ligamentin reorganizasyonu, tedaviden sonraki 3-4 aylık süre içerisinde tamamlanırken (3,17,18), dişetindeki kollajen fibrillerden oluşan ağın tekrar organize olması için 4-6 aya, elastik özellik gösteren suprakrestal fibriller için ise 232 günden daha uzun bir süreye ihtiyaç duyulmaktadır (17). Bu durum özellikle rotasyonların düzeltildiği ve boşlukların kapatıldığı olgularda, başlangıçtaki konumlarına dönme eğilimi gösteren alt keser, kanin, ikinci küçük azı dişleri için önemlidir (18). Özellikle alt çenede tedavi sonrası çapraşıklığın tekrar oluşmasında, transseptal fibrillerin kontakt noktalarında kompresif kuvvetler uygulamasının muhtemel bir neden olduğu düşünülmektedir (19).

2.1.1.2. Orofasyal Yumuşak Dokulardan Kaynaklanan Kuvvetler

Bazı ortodontik tedavi yaklaşımlarının kasların çalışma paternlerini değiştirdiğini gösteren kanıtlara (14) ve kas fonksiyonlarının değiştirilmesinin stabilite üzerinde olumlu etkilerinin olduğuna yönelik iddialara (20) rağmen, ortodontik tedaviyi çevre yumuşak dokuların belirlediği limitasyonlar dahilinde gerçekleştirmek akılcı bir yaklaşımdır (21). Yanak (22,23), dudak (23-25) veya dilin (26-29), yutkunma, konuşma veya çiğneme fonksiyonları sırasında uyguladıkları basınç, ortodontik diş hareketinin gerçekleşmesi için yeterli düzeyde olsa da (30-32), bunların neden olduğu kuvvetlerin uygulama süreleri ark formunu değiştirmek için yeterli değildir (33), ancak, tedavi sonundaki diş pozisyonlarını (30) ve tedavinin stabilitesini yumuşak dokuların istirahat halindeki basınçlarının belirlediği dikkate alınmalıdır.

2.1.1.3. Oklüzal Faktörler ve Oklüzal Kuvvetler

Oklüzal faktörlerin tedavi sonrası stabilite ile ilişkisi 1900'lü yılların başında Angle tarafından farkedilmiştir (34). İdeal bir oklüzyon sağlandığında, çapraz kapanış tedavisinin pekiştirme döneminde olduğu gibi, pekiştirme aygıtına ihtiyaç duyulmamaktadır. İyi bir interdijitasyonun dişlerin istenmeyen hareketlerine engel olduğu bilinmektedir (35,36). Benzer şekilde, Sınıf I molar ilişkisinin sağlanması da stabiliteye olumlu etki etmektedir (37). Örtülü kapanış tedavisinin kalıcı olması için, uygun bir interinsizal açığa ihtiyaç duyulmaktadır (38).

Çapraşıklık oluşması ve oklüzal kuvvetlerin anterior bileşeni arasında da pozitif bir korelasyon saptanmıştır (39,40). Tedavinin fonksiyonel oklüzyonun gnatolojik kurallarına uygun bir şekilde bitirilmesinin, stabilite üzerindeki olumlu etkisi olduğu ve çok yönlü çiğneme paterninin istenmeyen diş hareketlerini en aza indirdiği bildirilmiştir (41,42).

2.1.1.4. Tedavi Sonrası Yüz Büyüme ve Gelişimi

Yüzün büyümesi, erişkinlik dönemi boyunca, çocukluk dönemindeki kadar hızlı ve belirgin olmamakla birlikte, ergenlik dönemindekine benzer şekilde devam etmektedir (43). Büyüme miktarı bireyler arasında değişiklik gösterirken, kimi zaman kayda değer oranlardadır (43,44). Bu nedenle ortodontik tedavi sonrası kraniyofasyal iskelette ve dentisyonda tam anlamıyla bir stabiliteden bahsedilememektedir (45). Uygulanan tedaviden çok, hastanın tedavi sonrası dönemdeki büyüme paternine bağlı olarak ön-arka, yan ve dik yönde nüks gerçekleşebilmektedir (46-48). İnterdijitasyonun iyi olduğu durumlarda, oklüzyon, büyümeden kaynaklanan değişikliklere dentoalveolar adaptasyonla cevap vermektedir (44,45,50-53). Bu adaptasyona rağmen, üst çenenin belirgin şekilde öne büyümediği durumlarda, alt ön bölgede çapraşıklık ortaya çıkmaktadır (45).

2.1.1.5. Ark Formunun Değiştirilmesi

Kanin-kanin arası ve büyük azı dişleri arası transvers genişliğin, özellikle tedavi sırasında arttırıldığı durumlarda, pekiştirme sonrası dönemde azaldığı bildirilmiştir (54-57). Ortodontik tedavi süresince ark formu ve genişliğinin korunması gerektiği düşünülmektedir (58-59).

Ark gelişiminin çevresel koşulların etkisiyle şekillendiği bazı olgularda, arkın genişletilmesi, bir tedavi hedefi olabilmektedir. Artmış iskeletsel örtülü kapanış olgularında ve parmak veya dudak emme alışkanlığına bağlı olarak kesici açılarının azaldığı olgularda, keser proklinasyonunun arttırılmasının da stabil olacağı söylenmiştir (60).

2.2.1.6. Gelişmekte Olan Üçüncü Büyük Azı Dişleri

Üçüncü azı dişlerinin alt keser çapraşıklığındaki rolü uzun yıllardır tartışılmaktadır. Bu konuda savunulan yaygın bir görüş, üçüncü azı dişlerinin sürmek için kendilerine yer açarken, ön dişlerde çapraşıklık oluşmasına neden oldukları şeklindedir (61-65).

Konuyla ilgili karşıt görüş üçüncü azı dişlerinin, geç dönem alt keser çapraşıklığında rol oynamadığıdır (66-69). Üçüncü azı dişlerinin gömük, eksik, sürmüş ya da çekilmiş olduğu durumlarda, alt keserler bölgesindeki çapraşıklık açısından bir değişiklik gözlemlenmediği de literatürde yer almıştır (67,70-73).

Konuyla ilgili birbiriyle uyumsuzluk gösteren bulgular değerlendirildiğinde, üçüncü azı dişleri, geç dönem alt keser çapraşıklığının oluşmasında rol oynuyorsa bile, bu dişlerin etkilerinin minimal düzeyde olduğu düşünülmektedir (5).

2.1.1.7. Alt Keser Boyutları

Alt keser boyutları, alt keser çapraşıklığı ile ilişkilendirilmiş, alt keserlerin genişliklerinin, belirli bir labiolingual/mesiodistal oran sağlanacak şekilde azaltıldığı takdirde, stabilite oranının artacağı bildirilmiştir (74). Ancak, daha sonra yapılan çalışmalarda, diş şeklinin, alt keser çapraşıklığının etyolojisinde oldukça az rol oynadığı sonucuna ulaşılmıştır (75-79).

Diş konturlarının, daha geniş kontak alanları oluşturacak şekilde yeniden şekillendirilmesinin de stabiliteyi arttırdığı bildirilmiştir (80).

2.1.1.8. Başlangıçtaki Maloklüzyonun Tipi

Pekiştirmeden sonraki dönemde, örtülü kapanış, tedavi sırasında ne kadar azaltıldığına da bağlı olarak, artmakta, elde edilen düzeltimin sadece % 30 ila %50'si korunmaktadır (81-84). Nüksün ilk iki senede gerçekleştiği ve bu sırada kanin-kanin arası genişliğin korunması durumunda stabilitenin artacağı bildirilmiştir (85).

Sınıf II Bölüm 1 maloklüzyonların, diğer maloklüzyonlarla karşılaştırıldığı çalışmalarda, bu olgularda daha fazla oranda nüks görüldüğüne dair bir sonuca ulaşılmamıştır (78,86-88).

Dişler ortodontik tedavi ile sıralandığında, orijinal maloklüzyon paternlerine geri dönme eğilimi göstermektedir (89,90). Tedavi sırasında yapılan rotasyonel düzeltim miktarı arttıkça, rotasyonel nüksün de arttığı bildirilmiştir (91). Bu nedenle rotasyonlu dişlerde aşırı düzeltme yapılması önerilmiştir.

2.2. Pekiştirme Dönemi

2.2.1. Pekiştirmenin Tanımı

Pekiştirme, Moyers (92) tarafından 'ortodontik tedavi sonrasında dişlerin, elde edilen sonucun korunabilmesi için gereken süre boyunca, yeni konumlarında tutuldukları süre' olarak tanımlanmıştır. Riedel'in (93) pekiştirme için yaptığı tanımlama ise 'dişlerin ideal estetik ve fonksiyonel konumda tutulması' şeklindedir. Dişlerin ortodontik tedavi ile elde edilen yeni konumlarının korunması için önerilen esaslar ise periodontal ve gingival dokunun reorganizasyonu için gereken zamanı sağlamak, büyümeyle ortaya çıkan değişiklikleri en aza indirmek, elde edilen yeni diş konumlarına

nöromusküler adaptasyonun gerçekleşmesine izin vermek, estetik veya başka bir nedenle dişlerin stabil olmayan bir konuma getirilmesi gerekiyorsa, bu konumun korunması olarak sıralanabilir (5).

2.2.2. Pekiştirmenin Amacı

Aktif ortodontik diş hareketinden sonra, dişlerin ideal estetik ve fonksiyonel ilişkilerini korumak için pekiştirme dönemine ihtiyaç duyulmaktadır (2). Pekiştirme dönemi uygulanmadığı takdirde, dişler önceki konumlarına dönme eğilimi gösterir (4). Ortodontik tedavinin temel hedeflerinden biri olan stabilite, ancak periodontal ve gingival dokulardan, orofasyal yumuşak dokulardan, oklüzyondan ve tedavi sonrasında gerçekleşen yüz büyüme ve gelişiminden kaynaklanan kuvvetler arasında bir denge oluşması durumunda sağlanmaktadır (14,94). Pekiştirme dönemi bu dengenin kurulması için gerekli zaman ve koşulları hazırlayarak hedeflenen stabilitenin elde edilmesini sağlar.

2.2.3. Pekiştirmenin Tarihçesi

Pekiştirme konusunda klinisyenler arasında uzun süre bir fikir birliğine varılamamış, ortodontik tedavi ile elde edilen yeni diş konumlarının korunması konusunda farklı görüşler ortaya çıkmıştır (2): Kingsley, pekiştirmede en önemli etkenin oklüzyon olduğunu ifade etmiştir. Bu görüşe göre düzgün bir oklüzyon dişlerin yeni konumlarının korunması için büyük önem taşımaktadır. 1920'lerin ortalarında Axel Lundström, maloklüzyonun düzeltilmesinde ve elde edilen ideal oklüzyonun korunmasında en önemli faktörlerden birinin apikal kaide olduğunu ileri sürmüştür. McCauley ise kanin-kanin arası ve büyük azı dişleri arası genişliğin arttırılmaması koşuluyla pekiştirme problemlerinin çözülebileceğine işaret etmiştir. Bu teori Strang tarafından doğrulanmıştır. Ark genişliğinin korunmasının gerekliliği konusuna değinen diğer bir isim de Nance'dir. Grieve ve Tweed ise alt keserlerin bazal

kemik üzerinde ve dik konumda tutulmalarının önemini vurgulamışlardır. Rogers stabilitenin sağlanması için düzgün fonksiyon gören kassal bir dengenin kurulması gerektiğini belirtmiştir.

Zaman içerisinde, pekiştirme döneminin ortodontik tedavinin bir parçası olduğu ve tedavi planlamasının içinde yer alması gerektiği görüşü klinisyenler tarafından kabul edilmiştir. Bu konuda, Hellman, pekiştirmenin ortodontik tedavi sırasında yapılan işlemlerin bir devamı olduğunu, pekiştirme sırasında uygulanacak aygıtın uygulama süresi veya tipi değiştirilerek dokulardan gelecek gerilim ve streslerin azaltılabileceğini ve pekiştirme uygulanmadığı takdirde tam olarak başarılı bir sonuca ulaşılamayacağını belirtmiştir (93).

Günümüzde pekiştirme sağlamak amacıyla uygulanan konseptler ise farklı görüşleri içermekte ve birleştirmektedir (93).

2.2.4. Pekiştirme Aygıtları

Ortodonti pratiğinde, hareketli, sabit, pasif ve aktif pekiştirme aygıtları kullanılmaktadır (6). Ortodonti kliniklerinde pekiştirme amacıyla kullanılan ilk aygıtlar sabit bantlı aygıtlardır (34). Bunu hareketli aygıtların kullanımı izlerken (95), günümüzde ortodonti pratiğinde sıklıkla, yapıştırılan sabit pekiştirme aygıtları kullanılmaktadır.

Ortodontik tedavinin son aşamalarında kullanılan *positioner* da, daha sonra pekiştirme aygıtı olarak kullanılabilir, ancak düzeltilen keser rotasyonlarının pekiştirilmesinde bir Hawley aygıtı kadar etkili olamamaktadır (6).

Sınıf II ve Sınıf III maloklüzyonların nüks eğilimini önlemek için fonksiyonel pekiştirme aygıtları kullanılabilir. Bu sırada keserlerde çapraşıklık görülüyorsa, bu dişlerden aşındırma yapılarak ve üzerinde modifikasyon yapılmış bir aygıt kullanılarak bu problem de giderilebilir.

Minor diş hareketi sağlamanın bir başka yolu da polyester (Essix) (96) veya dişleri tamamen kaplayan polikarbonat (97) pekiştirme aygıtlarının çeşitli modifikasyonlar yapılarak kullanılmasıdır. Aynı aygıtlar daha sonra pasif olarak pekiştirme amaçlı kullanılabilir (6).

Erişkin bir hastada çekim boşluğunun veya median diastemanın kapatılmasından ve şiddetli rotasyonların düzeltilmesinden sonra uygulanacak pekiştirme aygıtı ise sabit olmalıdır (6,7). Uygulanan aygıt dişlerin fizyolojik hareketlerine izin verecek şekilde planlanmalıdır (10,98,99).

2.2.5. Pekiştirmenin Gerekliliği

Aktif ortodontik tedavi aygıtları çıkartıldığında, hasta tedavisinin bittiğini düşünse de ortodontik tedavinin önemli bir parçası olan pekiştirme dönemi başlamaktadır (100). Oppenheim (101) tarafından pekiştirme, ortodontide çözümü en zor problemlerden biri, hatta problemin kendisi olarak tanımlanmıştır.

Ortodontik tedavi ile elde edilen sonuçların uzun dönem stabilizasyonunun sağlanması için, dişlerin konumlarının ve oklüzal ilişkilerin ortodontik kontrolüne, kademeli olarak son verilmelidir. Daha sonra uygulanacak pekiştirme aygıtının tipine, tedavi planlaması yapılırken karar verilmelidir (100).

Pekiştirme 3 temel sebepten dolayı gereklidir (100):

1. Ortodontik tedavi sırasında organizasyonu değişen dişeti ve periodontal dokuların reorganizasyonu için zamana ihtiyaç vardır.
2. Tedavi sonunda, stabil olmayan diş pozisyonları varlığında, yumuşak dokuların etkisiyle nüks gerçekleşebilir.
3. Ortodontik tedavi sonuçları, büyümeyle ortaya çıkan değişikliklerden etkilenebilir.

Ortodontik tedaviye cevap olarak, dişi destekleyen periodontal ligament aralığı genişler, kollajen fibrillerin organizasyonu bozulur. Bu değişiklikler, ortodontik diş hareketinin gerçekleşmesi için gereklidir. Dişlerin konumlarını kontrol eden dengeye, periodonsiyum da katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle periodontal ligamentin reorganizasyonu önemlidir. Periodontal sistem, dişlere gelen darbeleri absorbe ederek, dişlerin oklüzal kuvvetlere karşı koymasını sağlar. Periodontal ligament metabolizmasının 'aktif stabilizasyonu', dil-dudak-yanaklardan gelen küçük ama uzun süreli dengesizliklere ve gingival fibrillerden gelen basınçlara karşı destek sağlar. Ortodontik diş hareketi sonucunda, periodontal ligamentteki bozulma, aktif stabilizasyonu azaltır ya da elimine eder. Bu nedenle konumları değişen dişler, ortodontik aygıtlar çıkartıldığında oklüzal ve yumuşak doku basınçları karşısında stabil olmayan bir pozisyondadır. Bu durum göz önüne alındığında, her hastanın en az bir kaç ay pekiştirme aygıtı kullanması gerekmektedir (100).

Pekiştirme sırasında kullanılacak aygıt seçimi ve aygıtın kullanım süresi, hareket ettirilen diş sayısına, hareket ettirilen mesafe miktarına, oklüzyonun durumuna, hastanın yaşına, maloklüzyonun etyolojisine, düzelmenin hızına, tüberkül yükseklikleri ve eğimlerine, ilgili dokuların sağlık

durumuna, arkların genişliğine ve birbirleriyle uyumuna, kasların uyguladığı basınçlara, kontakt noktalarına ve hücre metabolizmasına göre belirlenir (2).

İyi bir kas yapısına sahip, burun solunumu yapan, dişlerin bir arada olduğu yutkunma paterni gösteren, oklüzal anatomisi düzgün olan, sağlıklı bireylerde pekiştirme daha kolaydır (102). Zayıf kas yapısına sahip, ağız solunumu yapan (102), dil itimi bulunan, tüberküllerin düzleştiği bir oklüzal anatomiye sahip olan bireylerde ise pekiştirme döneminde, aktif ortodontik tedavi sırasında olduğu gibi zorluklar ortaya çıkabilir (103). Daha kolay bir tedavi ve stabil sonuçlar için, bu problemlerin erken dönemde çözülmesi gerekmektedir (103).

İdeal bir fonksiyon ve estetik için elde edilen sonuçların da stabil olması gerekmektedir (101).

2.2.6. Pekiştirmenin Planlanması

Ortodontik tedavi sonrasında görülen nüksün etyolojisi tam olarak anlaşılmasa da (4), nüksün önlenmesi için uygulanacak pekiştirme aygıtlarının seçimine büyük önem verilmiş, bu seçimin tedavi planlamasının bir parçası olması gerektiği bildirilmiştir (100).

Melrose ve Millett (1), pekiştirme aygıtının tipi planlanırken göz önünde bulundurulması gereken faktörleri sıralamıştır:

1. Başlangıçtaki maloklüzyon ve hastanın büyüme paterni
2. Uygulanan aktif tedavi tekniğinin tipi
3. Stabilitayı arttırmak için ek prosedüre ihtiyaç duyulup duyulmaması
4. Pekiştirme aygıtının tipi
5. Pekiştirmenin süresi

Hastalar ortodontik tedavinin başlangıcında, pekiştirme dönemi ile ilgili bilgilendirilmeli, hastalara bu dönemin tedavinin önemli bir parçası olduğu belirtilmelidir (1). Nüksün potansiyel nedenleri de anlatılarak, pekiştirmenin gerekliliği ve sonucun korunmasında en büyük görevin hastaya düştüğü vurgulanmalıdır (104).

2.2.7. Pekiştirmenin Süresi

Oklüzyon, elde edilen tedavi sonucunu koruduğu takdirde, pekiştirmeye ihtiyaç duyulmamaktadır. Kısa süreli pekiştirme, ilk üç ay tüm gün, izleyen 3 ay sadece geceleri kullanılan hareketli aygıtlarla yapılmaktadır (105). Orta süreli pekiştirme, yaklaşık 1 ila 5 sene sürmekte, çoğunlukla sabit bir pekiştirme aygıtıyla veya başlangıçtaki maloklüzyona bağlı olarak, fonksiyonel bir aygıt ya da ağız dışı aygıt ile birlikte kullanılan hareketli bir aygıt ile uygulanmaktadır (6,106). Daimi pekiştirme ise, protetik restorasyonun pekiştirme aygıtı olarak kullanıldığı, dudak veya damak yarığı olan hastalarda tercih edilmektedir (6,7,106).

Her vaka için, hangi pekiştirme periyodu uzunluğunun uygun olduğu ile ilgili bir bilgi bulunmamaktadır (1). Pekiştirme planlanırken, konu ile ilgili olarak bilgilendirilen hasta ile birlikte, ileride devam edebilecek büyüme de göz önüne alınarak karar verilmelidir (107,108).

Ortodontik olarak tedavi edilen birçok vakada uygulanması gereken en uygun pekiştirme süresi hala tanımlanmadığı için, bu süre klinisyenler arasında çeşitlilik gösterir (109). Pekiştirme döneminde toplanan dişeti oluşu sıvısının glikozaminoglikan içeriğinin izlenmesi, doku *turnover* hakkında bilgi vererek, klinisyenin kişiye özel pekiştirme yöntemi oluşturmasına yardımcı olacaktır (110,111). Transseptal fibrillerin remodelingi sırasında, fibroblastların verdiği proliferatif yanıtın kontrol edilmesi de pekiştirme süresinin azaltılmasında yardımcı olacaktır (112). Dişlerin etrafındaki alveol

kemiğinin yeniden düzenlenmesi sırasında, alveol kemiğinde görülen rezorpsiyonu inhibe eden çeşitli maddelerin kullanılması da istenmeyen diş hareketlerinin gerçekleşmesini önleyecektir (12,13).

Kawakami ve Takano-Yamamoto (12) 2004 senesinde yaptıkları hayvan çalışmasında ortodontik diş hareketi sağlamak amacıyla sıçanların üst sağ birinci ve ikinci azı dişleri arasına 0,5 mm kalınlığında ortodontik elastikler yerleştirmişlerdir. Sıçanların sağ birinci azı dişlerinin palatal mukozasına, üç günde bir, lokal olarak uyguladıkları D vitamininin ortodontik tedavi sonrasında dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin remodelingi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Yapılan histomorfometrik incelemede, D vitamini uygulanan grupta, üst sağ birinci azı dişinin mesiobukal ve distobukal kökleri arasındaki septumun mesial yüzeyinde kemik yapımının stimüle olduğu saptanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, D vitamininin ortodontik tedavi sonrasında dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin yeniden düzenlenmesi sırasında olumlu etki gösterebileceği bildirilmiştir.

2.3. Kemik Dokusu

2.3.1. Kemik Dokusunun Özellikleri

Histolojik açıdan incelendiğinde, kemiğin, yüksek seviyede bir damarlanma ve inervasyona sahip, mineralize bir bağ dokusu olduğu görülmektedir (113). Kemik dokunun temel fonksiyonları, form ve rijidite sağlamak, diğer dokulara destek olmak, bu dokuları korumak ve hareket yeteneği sağlamaktır (114). Kemik dokusu, mineral metabolizmasında da, kalsiyum ve fosfat deposu olarak görev yaparak önemli bir rol oynar (115,116).

Kemik kütlesinin yaklaşık % 65'ini mineral içerik oluşturur. Bu içeriği oluşturan kalsiyum, fosfat ve karbonat küçük hidroksiapatit kristallerini meydana getirir. $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ şeklinde formüllendirilen bu kristal yapılar, yaklaşık 400 Å uzunluğunda, 10-30 Å kalınlığında ve 100 Å genişliğinde uzun yassı plaklar şeklindedir. Kemiğin mineral kısmında, daha az oranda olmakla birlikte, magnezyum, sodyum, potasyum, manganez ve florür de bulunmaktadır.

Kemik kütlesinin yaklaşık üçte birini organik matriks oluşturur (113). Bu oran yeni oluşan kemikte daha yüksek olabilmektedir (117). Organik matriks temel olarak proteinlerden oluşmaktadır (113). Kalsiyum ve fosfor için potansiyel bir rezervuar olmasının dışında ekstraselüler matriks, yapısındaki proteinler sayesinde hücreler arası iletişimde ve kemik dokunun bütünlüğünün ve fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynar (118). Kemik dokusunun içerdiği protein yapının % 90'ı kollajenlerden oluşmaktadır. Bu yapının % 95'inden fazlası Tip I kollajen, % 5'ten azı ise Tip V kollajendir. Bunların dışında kemiğin organik matriksinde, Sharpey lifleri ile ilişkili olarak az miktarda Tip III kollajen ve mekanik stres altında oluşan Tip XII kollajen de saptanmıştır (113).

Organik matriksin diğer kısmını ise kollajen olmayan proteinler oluşturmaktadır. Bunlar: Proteoglikanlar, γ -karboksiglutamik asit içeren proteinler, glikoproteinler, plazmadan kaynaklanan proteinler ve büyüme faktörleridir (113).

Olgun kemiğin histolojik olarak iki tipi vardır (114): kortikal (kompakt) ve trabeküler (süngerimsi) kemik. Kortikal kemik, vücuttaki toplam kemiğin % 75'ini, trabeküler kemik ise % 25'ini oluşturmaktadır.

Yoğun ve düzenli bir yapı gösteren kortikal kemik, uzun kemiklerin gövdesinde ve düz kemiklerin yüzeyinde bulunur. Kortikal kemik, 'Havers

sistemi' olarak adlandırılan merkezi kanalların etrafında, içiçe geçmiş kemik matriks lamellerinden oluşur. Bu lameller üzerinde, 'laküna' adı verilen küçük boşluklar vardır. Bu boşlukların içerisinde 'osteosit' adlı kemik hücreleri bulunur (114).

Kortikal kemiğin beslenmesi lenf ve kan damarları, sinir ve bağ dokusu içeren Havers kanalları yoluyla gerçekleşmektedir (119).

Trabeküler kemiğe oranla daha yavaş bir *turnover* hızına sahip olan kortikal kemik, temel olarak destek ve koruma görevi yaparken, ciddi ve uzun süreli mineral yetersizliklerinde de metabolik cevaba fayda sağlar (116).

Trabeküler kemik yumuşak, düzensiz ve daha elastik bir yapı göstermektedir. Uzun kemiklerin uç kısımlarında, düz kemiklerin iç kısımlarında ve vertebrada bulunan bu kemik tipi, birbiriyle bağlantıları olan trabeküllerden oluşur. Stres çizgileri boyunca uzanan trabeküllerin devamlılığı, kemiğin gücünü yüksek oranda artırır (114).

Trabeküler kemikte beslenme, kortikal kemikten farklı olarak, ekstraselüler sıvıdan difüzyon yoluyla gerçekleşir. Metabolik olarak daha aktif olan trabeküler kemiğin yıllık yenilenme hızı % 20, kortikal kemiğin yıllık yenilenme hızı % 4'tür (119).

Akut mineral yetersizliklerinde ihtiyacın karşılanmasında ilk görevi trabeküler kemik yapar (116).

Kortikal ve trabeküler kemiğin anatomik dağılımını, gerilme ve sıkışma dirençleri belirler. Sıkışmaya direnç gösteren trabeküler kemik, bu özelliği nedeniyle vertebrada çoğunlukta olan kemik tipidir (114).

Kemik, mikroskopik olarak, demet ve lameller olarak iki tiptedir. Kollajen fibrillerin rastgele dağılım gösterdiği demet kemik, gelişmekte olan iskelette, erişkinlerde ligaman ve tendon bağlantılarında (120) ve patolojik durumlarda (114) görülmektedir. Lamellar yapı ise hem kortikal hem de trabeküler kemikte bulunur. Lamellerin dizilimi, kemiğin kortikal ya da trabeküler yapısını belirler (113). Lameller, trabeküler kemikte, trabeküllere paralel seyrederken, kortikal kemikte silindirik şekilli osteonlar oluşturur (120).

Genel olarak her kemiğin, trabeküler kemiği saran kortikal kemikten oluşan bir dış katmanı vardır. Kortikal kemiğin etrafı 'periost' olarak adlandırılan membran ile kaplıdır. Bu membran, dışta fibröz, içte ise osteojenik potansiyeli olan iki katmandan oluşur. Korteksin iç yüzeyi ise 'endostiyum' denen yapıyla kaplıdır. Kemik, bu yüzeyden rezorbe olma eğilimi gösterir. Hem periost hem de endostiyum, osteoblast ve osteoklast olarak tanımlanan kemik hücrelerini ve bu hücrelerin progenitörlerini içerir. Bu hücreler, birbirleriyle uyumlu bir şekilde fonksiyon görerek, kemik formasyon ve rezorpsiyonunu sağlar ve bu yolla remodeling, büyüme ve tamir olayları gerçekleştirir (114).

2.3.2. Kemiğin Gerilme ve Sıkışma Direnci

Kemiğin gerilme ve sıkışma direncini belirleyen faktörlerden biri, kortikal ve trabeküler kemiğin dağılımıdır (114). Kemik dokusunun kollajen fibriller içeriği ve minerallerden oluşan kristal yapısı da gerilme ve sıkışma direncinin oluşmasında etkilidir. Kemik, sıkışmaya karşı oldukça güçlü bir yanıt verirken, gerilmeye de buna yakın bir direnç gösterir (117). Sert ve mineralize bir yapı olarak tanımlanan kemik doku, % 2,5 oranında esneyebilir, bu sırada oluşan sıkışma ve gerilme bölgeleri, formasyon ve rezorpsiyon oluşmasına neden olur (115).

2.3.3. Kemik Hücreleri

Kemik hücreleri, kemik dokunun kendi içerisinde ya da kemik iliğinin mezenkimal kök hücreden zengin konjonktiva stromasında bulunmaktadır (113). Friedenstein (121), farklı genlerin, aktivasyon zincirini başlatan farklı moleküler sinyallere cevaben, kök hücreden kaynak olarak oluşan, 5 hücre tipi bildirmiştir: fibroblast, osteoblast, kondroblast, adiposit ve myoblast.

2.3.3.1. Osteoblast

Yaklaşık 20-30 μm büyüklüğünde, çok yüzlü formdaki osteoblastlar (113), kemik iliğinin mezenkimal kök hücrelerinden, endostiyum, periost ve perivasküler perisitlerden kaynak alır (122). Osteoblastların matrikse doğru uzanan sitoplazmik uzantıları, osteosit ağıyla ve komşu osteoblastlarla iletişim kurmalarını sağlar (113).

Osteoblastik aktivite, bu hücrelerin yüzeylerinde reseptörleri bulunan çeşitli büyüme faktörleri tarafından otokrin ve parakrin olarak düzenlenir. Osteoblastların yüzeylerinde ayrıca paratiroid hormonu, tiroid hormonu (123), büyüme hormonu (124), insülin (125), progesteron (126) ve prolaktin (127) reseptörleri de bulunmaktadır.

Osteoblastlar günde 2 veya 3 μm hızında organik matriks sentezler. Açığa çıkardıkları alkalın fosfataz enzimi ise günde 1-2 μm hızında mineralizasyon gerçekleşmesine izin verir (113).

İnsanda 1 ila 10 haftalık ömre sahip olan osteoblastlar, apoptoz yoluyla yok olarak, kemik yüzeyini örten hücrelere veya osteositlere dönüşebilmektedir (128). Kemik yüzeyini örten hücreler, kemik

remodelinginin aktivasyonunda önemli bir rol oynayan endostiyum ile örtülü endosteal yüzeyde bulunur (113).

2.3.3.2. Osteosit

Osteoblastlar kendi sentezledikleri matriks ile örtülerek osteositlere dönüşür (114). Osteoblastlara oranla daha az aktivite gösteren bu hücreler, kemik yapının korunmasında temel rol oynar (129-132).

Erişkin iskeletin kemik hücrelerinin % 90-95'inden fazlasını oluşturan osteositler, canlılıklarını yıllar boyunca korur (133). Genç osteositler osteoblastların birçok özelliğine sahip olmakla birlikte, bu hücrelerin hacimleri ve protein sentezleme kapasiteleri daha azdır. Kalsifiye dokunun derinlerinde yer alan daha yaşlı osteositlerin hacimleri ise çok daha küçüktür ve sitoplazmalarında glikojen birikmiştir (116).

Herbiri matriks ile çevrili olan osteositler, kendi aralarında ve diğer kemik hücreleriyle kemik rezorpsiyonunun stimülasyonunda rol oynadığı düşünülen (131-132) dentritik uzantılarının oluşturduğu ağ yoluyla iletişim kurar (116).

Osteositlerin, kemik yapısının ve kütlelerinin korunmasından sorumlu, mekanik uyarılara hassas hücreler olduğu konusunda da bir fikir birliği oluşmuştur (134-136). Bu hücrelerin kemik dokudaki gerilime cevap verdikleri ve osteoklastları ihtiyaç alanlarına çekerek remodelingi arttırdıkları düşünülmektedir (137).

2.3.3.3. Osteoklast

Kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerden kaynak alan osteoklastlar (124), kemik rezorpsiyonundan sorumlu kemik hücreleridir (113).

Yaklaşık 100 µm büyüklüğünde, çok çekirdekli hücreler olan osteoklastlar (113), erişkin iskeletindeki tüm kemik hücrelerinin %1'den az bir kısmını meydana getirir. Her bir mm³ kemikte yaklaşık 2-3 tane osteoklast bulunmaktadır. Osteoklastların sayıları aktif kemik yenilenmesinin arttığı bölgelerde artar (138). Bu hücrelerin yaşam süreleri günlerle ifade edilecek kadar kısadır (133).

Osteoklast hücreleri hareketli, çok çekirdekli, lizozomal enzimler içeren hücrelerdir (120). Bu hücreler ayrıca mitokondri ve serbest ribozomdan zengindir ve yaygın bir golgi kompleksi içerir (139).

Bu hücrelerin membranları önemli iki özelliğe sahiptir: Rezorpsiyonun gerçekleştiği tırtıklı kenar ve matrikse bağlanmayı sağlayan integrinlerin bulunduğu mikofilamentten zengin düz alan (113). Tırtıklı yüzeyler, hidroklorik asit ve proteolitik enzimin salgılanacağı hücre zarının yüzey alanını arttırmaktadır (140). Osteoklastlar, rezorbe edilecek alana hareket ederek, tırtıklı kenarlarıyla mineralize doku yüzeyine tutunur ve bu alanın kenarlarını integrinler ile örter (113). Tırtıklı kenarların bağlandığı yüzeylerde, osteoklastların varlığı ile karakterize çukurcuklar oluşur (138).

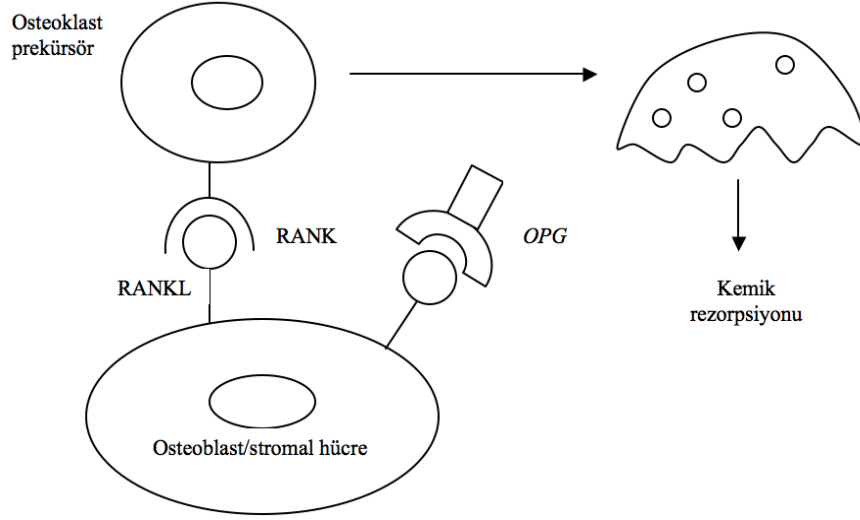
Osteoklastik aktivite lokal olarak etki gösteren sitokinler ve sistemik hormonlar tarafından kontrol edilmektedir (116). Kalsitonin (141), androjen (142), tiroid hormonu (143), insülin (144) ve interlökin (IL)-1 (145) için osteoklastik reseptörler tanımlanmıştır.

2.3.4. Kemiği Yapan ve Rezorbe Eden Hücreler Arasındaki Etkileşim

1990'ların sonlarında, osteoblastların ve stromal hücrelerin yüzeylerinde bulunan, tümör nekroz faktör (TNF) ailesinin bir yesi olan Nükleer Faktör Kappa β Reseptör Aktivatörü Ligandı (RANKL) proteini (146-148) ve osteoklast hücrelerinin yüzeyinde bulunan Nükleer Faktör Kappa β Reseptör Aktivatörü (RANK) tanımlanmıştır (148). Bu moleküller ve bunların birbirleriyle nasıl iletişim kurduklarının açıklanması ile kemik biyolojisinde bir devrim gerçekleşmiştir (149).

Osteoblastların ve stromal hücrelerin yüzeylerinde bulunan RANKL ve osteoklast prekürsörlerinde bulunan RANK reseptörü arasındaki hücrelerarası iletişim osteoklast formasyonu ve aktivasyonunu indüklemekte (150) ve bu yolla kemik rezorpsiyonunu arttırmaktadır (113).

Osteoklastogenezi inhibe eden mekanizmadan ise osteoprotegerin (OPG) (RANKL'in tuzak reseptörü) olarak isimlendirilen protein yapı sorumludur (151,153). OPG'nin RANKL'a bağlanması osteoklast prekürsörleri ve RANKL arasındaki iletişimi bloke ederek osteoklastogeneze engel olur (150,152) (şekil 1).



Şekil 1: Kemik metabolizmasında RANKL/RANK/Osteoprotegerin etkileşimi

Aralarında kurdukları iletişim yoluyla, osteoklastogenezin regülasyonunda görev alan RANK ve RANKL (113), kemiği yapan ve rezorbe eden hücreler arasındaki etkileşimi sağlayarak, kemik remodelinginde önemli bir rol oynar.

2.3.5. Kemik Remodelingi

Dinamik bir doku olan kemikte, sürekli olarak belirli bir denge içerisinde rezorpsiyon ve formasyon olayları gerçekleşir (153). Eski kemiğin devamlı olarak yeni kemikle yer değiştirdiği remodeling prosesi, ilk kez 1990 senesinde Frost (154) tarafından tanımlanmıştır.

Kemik remodelinginin, mekanik kuvvetler karşısında, kemiğin şeklini değiştirmek yoluyla devamlılığını sağlamak ve eski organik kemik matriksini yenileyerek dayanıklılığını devamlı kılmak gibi fizyolojik önemleri vardır (117).

Kemik remodelingi, iskeletsel dokunun tamir ve yenilenme ihtiyacına cevap veren, hayat boyu devam eden döngüsel bir süreçtir (149). Mikroskopik düzeyde kemik remodelingi, kortikal ve trabeküler kemik yüzeylerinde 'Kemik Çok Hücreli Birimi' (*Basic Multicellular Units*) adı verilen küçük alanlarda gerçekleşir (153).

Rezorpsiyon süreci, osteoblastların yüzeyindeki RANKL sitokininin, osteoklastlar üzerindeki RANK reseptörüne bağlanması ile aktive olur (155,156).

Osteoklast hücreleri yaklaşık 10-14 günlük bir süreç (114) boyunca, kemiği rezorbe ederek 0,2-1 mm çapında ve birkaç milimetre uzunluğunda tüneller açar. Daha sonra, osteoklastların ortadan kalkmasıyla, tünelleri dolduran osteoblastlar yeni kemik oluşturmaya başlar. Böylece, ancak 6-9 aylık (114) uzun bir sürede tamamlanacak olan formasyon süreci başlar.

Remodeling rezorpsiyon dönemi ile başlar. Bu dönemde ilk olarak kısmen farklılaşmış tek çekirdekli preosteoklastlar, çok çekirdekli osteoklastlara dönüşmek üzere kemik yüzeyine göç ederler. Rezorpsiyonun tamamlanmasını takiben kemik yüzeyinde tek çekirdekli hücreler görünür. Bu hücreler osteoblastların göç etmesi ve diferansiyonu için sinyal oluştururken, kemik yüzeyini osteoblastlar tarafından gerçekleştirilecek olan yeni kemik yapımına hazırlarlar. Rezorbe olan alanlar tamamen yeni kemik ile doldurulduktan sonra kemik yüzeyi düzleşmiş örtü (*lining*) hücreleri ile kaplanır. Yeni bir remodeling prosesi başlayana kadar dinlenme dönemi söz konusudur (116).

Remodeling sırasında rezorpsiyon dönemi yaklaşık 2 hafta devam ederken, 4-5 haftalık bir dönemin ardından gerçekleşen formasyon dönemi yaklaşık 4 ay sürmektedir (116).

Rezorpsiyon daima formasyondan önce gerçekleştiği ve genç bireylerde rezorbe olan kemik miktarı ile yeni oluşan kemik miktarı benzer olduğu için remodeling normal şartlar altında, bir denge içerisinde gerçekleşir (157). Rezorpsiyon ve formasyon arasındaki bu denge, birbiriyle de ilişkili olan, genetik, mekanik, vasküler, hormonal, lokal ve beslenmeyle ilgili faktörlere bağlıdır (153).

2.4. Kemik Metabolizmasında RANKL/RANK/Osteoprotegerin Sistemi

1981 senesinde Rodan ve Martin'in (158) osteoblastların, osteoklast formasyonunun ve kemik rezorpsiyonunun düzenlenmesinde temel rol oynadığını ileri sürmesini takiben birçok araştırmacı osteoklastları aktive eden faktörü tanımlamaya çalışmıştır. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar kemikte gerçekleşen remodeling prosesinin RANKL/RANK/Osteoprotegerin sistemi ile kontrol edildiğini göstermiştir (151). RANKL moleküllerinin osteoklast prekürsörleri üzerindeki RANK reseptörüne bağlanması osteoklastogenezi, buna bağlı olarak da kemik rezorpsiyonunu stimüle etmektedir. Bu süreç, osteoprotegerinin RANKL'a bağlanarak, bu moleküllerin RANK'a bağlanmasını önlemesi ile durdurulmaktadır (151,159,160) (Şekil 1).

RANKL/RANK/Osteoprotegerin sistemi ve bu sistemin kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkisinin sitokin ve hormonlar aracılığıyla düzenlendiğinin keşfedilmesiyle 'Konverjans Hipotezi' ortaya çıkmıştır (161). Bu hipoteze göre, osteoblast hücre serisi, kemikteki çok sayıda pro- ve anti-rezorptif sinyali algılayarak ve birleştirerek RANKL/OPG oranı ile temsil edilen tek bir çıktı oluşturur. Bu sisteme göre, RANKL oranının OPG'e göre artması kemik yıkımında artmaya neden olur. Osteoporoz, Paget hastalığı, tümör metastazları ve multiple myeloma gibi bir çok hastalıkta RANKL/OPG oranının bozulduğu görülmektedir (162-164).

2.4.1. RANKL

1990'ların sonlarında tanımlanan (146-148) RANKL, TNF ailesinin bir üyesidir. OPG ligandı (145) ve osteoklast diferansiyasyon faktörü (146) olarak da adlandırılan bu molekülün 3 farklı formu vardır (145,146,165-167). Stromal hücreler, osteoklastlar, osteoblastlar, mezenkimal periostal hücreler, kondrositler ve endotelial hücreler, RANKL açığa çıkartabilmektedir (145-148,168). Yeterli seviyede makrofaj koloni stimüle edici faktörün olduğu durumda, RANKL, osteoklast diferansiyasyonunun gerçekleşmesi için gerekli ve yeterlidir (169-171). Bunun dışında RANKL, osteoklastların aktivasyonunu (171-173), varlığını sürdürmesini (174) ve kemik yüzeyine tutunmasını (175) sağlar.

RANKL, osteoklastogenezi ve kemik rezorpsiyonunu, osteoklast prekürsörlerinin yüzeyindeki RANK reseptörüne bağlanarak düzenler (164,176,177).

Yapılan bir çalışmada, farelerde, parenteral yoldan RANKL uygulanmasını takiben, osteoklast üretimi ve aktivasyonunun artmasıyla görülen osteoporoza bağlı olarak kemik kütlesinin azaldığı ve hayatı tehdit edecek seviyede hiperkalsemi geliştiği gözlemlenmiştir (145). Bu durumun tam tersine, RANKL'dan yoksun farelerde, olgun osteoklastların yokluğuna bağlı olarak, osteopetroz ve diş sürmesinde aksaklıklar görülmüştür (168). Kemikle ilgili etkilerinin dışında, RANKL, immun fonksiyonların düzenlenmesinde de rol alır. RANKL'dan yoksun farelerde, lenf nodu agenezi ve timus hipoplazisi tespit edilmiştir (168). RANKL'ın, dentritik hücrelerin immun sistemi stimüle edici yeteneklerini arttırdığı ve T hücrelerinin aktivasyonunu düzenlediği de bildirilmektedir (179-183).

2.4.2. RANK

RANK, çoğunlukla osteoklast ve dentritik hücrelerde bulunan, TNF reseptör ailesinin bir üyesi olan, transmembranöz bir reseptördür (148,184,185). RANKL, osteoklast ve osteoklast prekürsörlerinin yüzeylerinde bulunun bu reseptöre bağlanır. RANKL ve RANK reseptörü arasındaki bu bağlanma, osteoklast formasyonu ve aktivasyonunu indüklemekte (150), ve bu yolla kemik rezorpsiyonunu arttırmaktadır (113).

Bu reseptörden yoksun farelerde, RANKL'dan yoksun farelerde görülene benzer olarak, osteopetrozis, diş sürmesinde gecikme ve lenf nodu eksikliği ile karakterize bir fenotip görülür (186,187).

RANK'ın haberleşme yolunun bireysel komponentlerinin net fonksiyonları, osteoklast fonksiyonuna olan katkıları ve diğer sitokin ve büyüme faktörleri ile olan ilişkileri henüz tam olarak anlaşılamamıştır (188,189).

RANKL-RANK arasında oluşan birleşme, 3 yolla engellenebilir (190-192):

1. Çözülebilir RANK füzyon proteinleri
2. Sentetik OPG-Fc füzyon proteinleri
3. RANKL antikorları

RANKL'ın, osteoklast ve osteoklast prekürsörlerinde bulunan RANK reseptörüne bağlanması, osteoklast diferansiyasyonunu artırır, osteoklast formasyonunu, aktivasyonunu indükler. Osteoklastların aşırı üretimini ve aktivasyonunu sınırlamak için, osteoblastlar osteoprotegerin olarak adlandırılan bir sitokin üretir. OPG, RANKL'a bağlanarak, RANKL-RANK birleşimini önler (193).

2.4.3. Osteoprotegerin

Osteoprotegerin, ilk kez 1997 senesinde, birbirinden bağımsız çalışan iki grup tarafından tanımlanmıştır (151,152,159). Osteoprotegerin kelimesi Latince, kemik anlamına gelen *os* ve korumak anlamına gelen *protegere* kelimelerinin birleşmesinden oluşmaktadır (189).

1997 ve 1998 senelerinde farklı çalışmacılar da aynı molekülün keşfini bildirmiş ve kemik rezorpsiyonunu önleyici etkisi olan bu molekülü, 'osteoklastogenezi inhibe eden faktör'(152,159), 'TNFR ile ilişkili molekül'(194,195) ve 'foliküler dentritik hücre reseptörü-1'(196) olarak isimlendirmişlerdir.

TNF reseptör ailesinin üyesi olan osteoprotegerin molekülü, 401 aminoasit içeren bir glikoproteindir (151).

Osteoprotegerin, insanlarda kemikleri (osteoblast) ve damarları da (endotelyal ve vasküler düz kas hücreleri) içeren birçok dokuda bulunmaktadır (197-199).

Osteoprotegerin ve bir parçası olduğu OPG/RANKL/RANK üçlüsü, osteoklastların diferansiyasyonu ve aktivasyonunda, buna bağlı olarak da, kemik rezorpsiyonu ve formasyonu arasındaki kritik dengenin düzenlenmesinde rol oynar (200).

RANKL için yarışan, çözülebilen bir tuzak reseptör olarak görev yapan OPG, RANKL'a bağlanarak, RANK-RANKL bağlantısının oluşmasına engel olur. Böylece osteoklast diferansiyasyonu ve kemik rezorpsiyonu engellenir (151).

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada osteoprotegerinin kemik yoğunluğunu ve kütlesini arttırdığı da bildirilmiştir (201-203).

Grundt ve arkadaşları (204) 2009 senesinde yaptıkları çalışmada, yaşları 60 ve 96 arasında değişen 12 sağlıklı bireyin femurlarından alınan biyopsilerden elde ettikleri birincil insan osteoblastlarına osteoprotegerin uygulamışlar, osteoblast hücrelerinde hücresele alkaline fosfatase aktivitesinin, *in vitro* mineralizasyonun ve osteoblastların kemik matriksine tutunmalarının arttığını göstererek, osteoprotegerinin kemik üzerinde direkt bir anabolik etkisi olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bu çalışmaya göre osteoprotegerin, kemik rezorpsiyonu ve yapımı arasındaki dengeyi, hem kemik rezorpsiyonunu azaltarak hem de osteoid mineralizasyonu artırarak, kemik yapımı lehine değiştirmektedir.

Osteoprotegerinin, kemik dokudaki etkilerinin haricinde, imünolojik yanıtın düzenlenmesinde de rolü vardır. OPG, dentritik hücreler ve T hücreleri arasındaki RANK-RANKL bağlantısında rol oynayarak, dentritik hücrelerin imünostimülatör kapasitelerinin ve T hücrelerin proliferasyonunun artmasını sağlar (205). Osteoprotegerin, etkili antikor yanıtının oluşmasında ve B hücrelerin olgunlaşmasında da önemli bir rol oynar (206).

İnsan ve kemirgenlerde, kemik dokusunun kemik yapıcı hücreleri olan osteoblastların OPG sekresyonlarının nasıl düzenlendiği kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. RANKL ve OPG regülasyonundan glukokortikoidlerin (207,208), D vitamininin (209-211), paratiroid hormonunun (211-213) ve vazoaaktif intestinal peptidin (214) sorumlu olduğu bildirilmiştir.

Osteoprotegerinden yoksun fareler üzerinde yapılan bir çalışmada böbrek ve aortta gözlemlenen kalsifikasyondan yola çıkılarak, osteoprotegerinin büyük kan damarlarının kalsifikasyonunu önlediği düşünülmektedir (215).

Yapılan insan çalışmalarından elde edilen sınırlı bulgular, kemik iliğinin stromal hücrelerindeki OPG gen ekspresyonunun yaşla azaldığı göstermektedir. Bu durumun östrojen yerine koyma tedavisi ile kısmen tersine çevrilebileceği düşünülmektedir (216).

2.4.3.1. Osteoprotegerinin Farmakolojik Etkisi ve Terapötik Kullanımı

Yapılan çok sayıda hayvan çalışmasında, osteoprotegerin ve parçası olduğu OPG/RANKL/RANK üçlüsünün, osteoklastların diferansiyasyonunu ve aktivasyonunu, buna bağlı olarak da kemik rezorpsiyonunu düzenlemenin dışında, osteoporoz, romatoid artrit, Paget hastalığı ve kemik metastazları gibi çok sayıda kemik hastalığının patofizyolojisinde de rol oynadığı gösterilmiştir (217).

Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, OPG'nin, östrojenin kemik üzerindeki koruyucu etkisine aracılık ettiği gösterilmiştir (189).

In vivo bir hayvan çalışmasında, OPG'nin, overektomiye bağlı olarak görülen kemik kaybını, osteoklastik rezorpsiyonu inhibe etmek yoluyla önlediği gösterilmiştir (151).

Yapılan çalışmalarda, postmenapozal dönemdeki kadınlarda ve meme kanserli veya multiple myelomalı hastalarda, OPG uygulamasının kemik rezorpsiyonunu engellediği sonucuna ulaşılmıştır (118,119).

OPG ve RANKL'in, romatoid artritte de anahtar düzenleyici oldukları düşünülmektedir (700-105). Kong ve arkadaşları (166), yaptıkları çalışmada,

OPG uygulamasının, romatoid artrit'in kemikteki belirtilerini tamamen önlediğini göstermişlerdir.

Kemirgenlerde deneysel olarak oluşturulan tümör modellerinde, uygulanan OPG'nin, osteolitik metastazların oluşmasının ve hiperkalseminin gelişmesinin önüne geçilmesinde ve ağrının önlenmesinde etkili olduğu bulunmuştur (160,221-225).

OPG uygulamalarının, hareketsizliğe bağlı olarak gelişen kemik kaybının önlenmesinde de başarılı olduğu gösterilmiştir (226).

Yapılan başka bir çalışmada ise periodontitiste, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isimli anaerobik mikroorganizmanın, CD4+ T lenfositleri stimüle ederek, RANKL üretimini artırma yoluyla alveolar kemik rezorpsiyonunu arttırdığı gösterilmiştir. OPG uygulaması ise bu etkiyi önlemiştir (227).

Sıkışma kuvvetine maruz kalan PDL hücrelerinin, RANKL ekspresyonunu artırarak osteoklastogenezini indüklediği bilinmektedir (228). OPG yetersizliği olan farelerde ise, kuvvet uygulandıktan 5 gün sonra, alveolar kemikte yaygın kemik yıkımı gözlemlenmiş, lokal OPG gen transferinin ise ortodontik diş hareketini inhibe ettiği bildirilmiştir (231).

Osteoprotegerinin, ortodontik diş hareketi sırasında gerçekleşen kemik rezorpsiyonunu engellemek yoluyla, istenmeyen diş hareketini önlemek için de kullanılabileceği önerilmiştir (13,230). Bu sayede, ankraj amacıyla kullanılan ağız dışı aygıtlara ve implantlara duyulan ihtiyacın azalacağı düşünülmektedir.

Dunn ve arkadaşları (230), 2007 senesinde yaptıkları çalışmada, sıçanların üst birinci azı ve üst kesici dişleri arasına uyguladıkları zemberekler yardımıyla elde ettikleri deneysel ortodontik diş hareketi sırasında, üst birinci azı dişlerin mesial yüzeyine komşu palatal mukozalarına 0,5 mg/kg ve 5 mg/kg dozajlarında OPG'i, haftada iki kere olacak şekilde uygulamışlardır. Her iki dozajın uygulandığı grupta da molar dişlerin hareketinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu saptanmıştır. Osteoprotegerinin 5 mg/kg dozajında uygulandığı grupta molar dişin hareketinde görülen bu azalmanın %78,7 oranında olduğu bildirilmiştir. Diş hareketinde tespit edilen bu azalmanın yanı sıra yüksek dozajda OPG uygulanan grupta, kemik rezorpsiyonu görülen alanların ve osteoklast sayısının kontrol grubuna oranla oldukça az olduğu bildirilmiştir.

Keleş ve arkadaşları (13) yaptıkları çalışmada, deney farelerinin üst birinci azı dişlerine ortodontik kuvvet uyguladıktan sonra, 8 günlük bir süre boyunca her gün 5 mg/kg dozajında pamidronat ve 10 mg/kg dozajında osteoprotegerini subkutan olarak uygulayarak, bu maddelerin kemik rezorpsiyonu ve ortodontik diş hareketi üzerindeki etkilerini karşılaştırmıştır. Bu çalışmada osteoklast sayısının, osteoprotegerin uygulanan grupta %95 oranında, pamidronat uygulanan grupta ise %70 oranında azaldığı, benzer şekilde, istenmeyen diş hareketinin, osteoprotegerin uygulanan grupta %77 oranında, pamidronat uygulanan grupta ise %34 oranında azaldığı saptanarak, diş hareketinin önlenmesinde osteoprotegerinin, pamidronata göre daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

2.5. Deney Hayvanı Olarak Sıçan ve Deneysel Ortodontik Diş Hareketi

Tıp biliminin gelişiminden bu yana, insan yapısının anlaşılabilmesi için, başta anatomi ve fizyoloji çalışmaları olmak üzere, tıbbın birçok alanında hayvanlar model olarak kullanılmıştır (231).

Ortodonti alanında yapılan hayvan çalışmalarında, sıçan, köpek, kedi ve maymun gibi birçok hayvan türü kullanılmış, yapılan çalışmalarla ortodontik kuvvete verilen biyolojik yanıt daha iyi anlaşılmaya çalışılmıştır (232). Bu alışmalar ile ilgili önemli kaygılardan biri, elde edilen bulguların insanlara uyarlanıp uyarlanamayacağı olmuştur (233).

Yapılan çalışmaların çoğunda deney hayvanı olarak sıçan kullanılmaktadır. Bu nedenle sıçanların ve insanların alveol kemikleri ve periodontal ligamentleri (PDL) arasındaki morfolojik ve fizyolojik farklılıklar dikkate alınmalıdır.

Sıçanların alveol kemikleri daha yoğun olup osteon içermez. Osteoid doku miktarı ise insanlara oranla daha azdır (234). Yapılan histolojik çalışmalarda, destek dokularda ve periodontal fibrillerin düzeninde de farklılıklar olduğu görülmüştür (235,236). Sıçanların normal PDL genişliği yaklaşık olarak 0.12-0.15 mm'dir (237).

Sıçanların azı dişleri ise insanlarınkine oranla, yaklaşık 50 kat küçüktür. Bu fark, uygulanacak ortodontik kuvvetin büyüklüğünün belirlenmesinde oldukça önemlidir (233).

Sıçanların st azı dişlerinin kontakt alanı, altlara oranla daha geniştir (238). Daha kolay ulaşılabilen bu dişler, ortodontik diş hareketinin dişler arasına yerleştirilen elastikler ile gerçekleştirildiği çalışmalarda tercih edilmiştir (12,238).

Sıçanların azı dişlerinde *distal drift* görülürken, keserlerinde hayat boyu devam eden bir erüpsiyon söz konusudur (233). Sıçanlarla yapılacak çalışmalarda tamamen farklı bir morfolojiye sahip olan keserler yerine azı dişleri tercih edilmeli, diş hareketi hesaplanırken distal drift miktarı da hesaba

katılmalıdır (233). Bu amaçla, yapılacak çalışmaların *split mouth* şekilde planlanıp, deney ve kontrol tarafları karşılaştırılarak ortodontik diş hareketinin net değerinin hesaplanması önerilmiştir (239).

Sıçanlarda kök formasyonu sırasındaki doku gelişimi ve ortodontik uygulamalar sırasındaki doku yanıtı daha hızlı gerçekleşmekle birlikte, temel mekanizmaları benzerlik göstermektedir (240,241). Bu nedenlerle, genel olarak sıçanların, ortodontik diş hareketinin çalışılması için iyi bir model olduğu düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

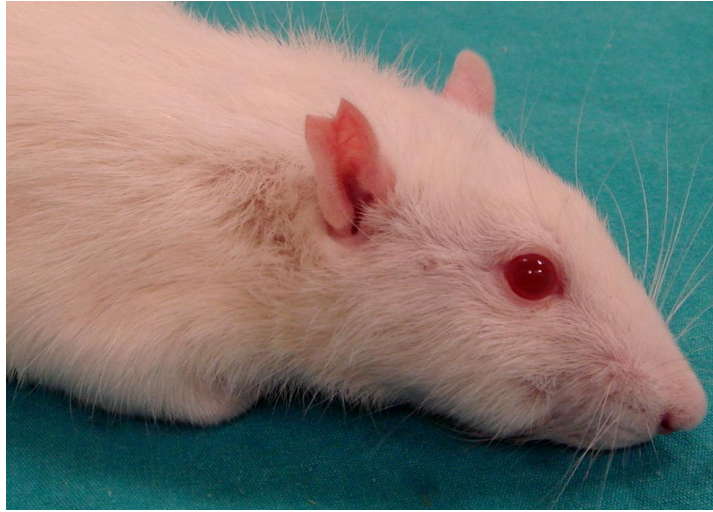
Bu çalışma, Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (8 Mayıs 2009, Karar No:57). Çalışmamızda Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (YÜDETAM) temin edilen, ağırlığı 290-380 gr arasında olan 20 tane 11-12 haftalık Sprague-Dawley sıçanı kullanılmıştır. Deney hayvanları, her kafeste üç veya dört adet sıçan bulunacak şekilde önceden numaralandırılmış kafeslere yerleştirilmiştir (Resim 1). Sıçanların işaretlenmesi için, her kafesteki hayvanlardan birinin kulakları kesilmemiş, diğer üç hayvandan birinin sağ, diğerinin sol kulağı kesilmiş, son hayvanın ise her iki kulağı kesilmiştir (Resim 2). Tüm hayvanlarda üç gün süreyle deneysel diş hareketi yapılması planlanmıştır. Ortodontik diş hareketinin gerçekleştirildiği 20 hayvandan 10 tanesi OPG, diğer 10 tanesi ise kontrol grubunu oluşturmaktadır.

Çalışmamızda aşağıdaki malzemeler kullanılmıştır:

- Ortodontik elastik
- Steril enjektör (2 cc)
- Steril insulin enjektörü
- Osteoprotegerin (AMGEN)
- Ketasol® (Richter-Pharma)
- Rompun® (Bayer)



Resim 1: Sıçanların yerleştirildiği kafesler



Resim 2: Sıçanların numaralandırılması

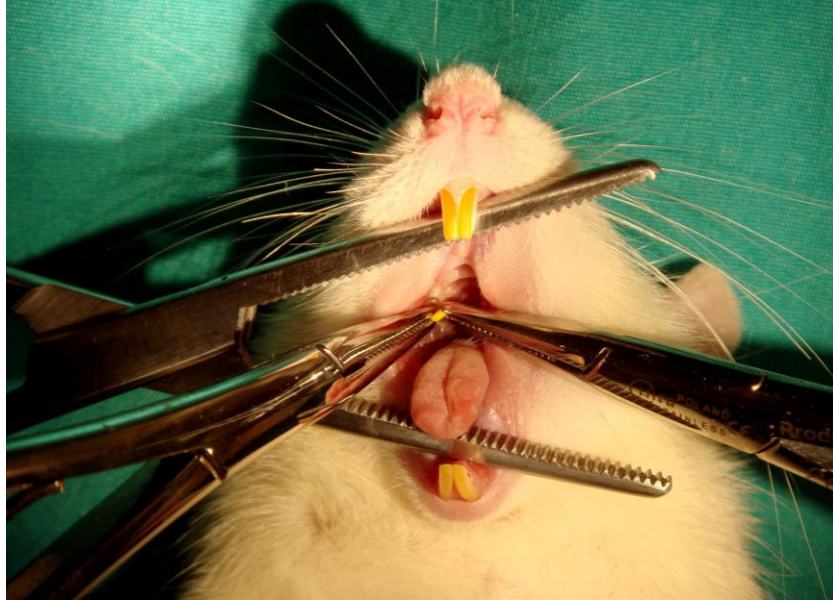
3.2. Yöntem

Sıçanlar, 60 mg/kg/im dozunda Ketazol® %10 (Richter Pharma) (1ml'sinde 100 mg ketamin hidroklorür içerir) ve 5 mg/kg/im dozunda Rompun® %2 (Bayer) (1ml'sinde 23,32 mg ksilazin içerir) uygulanarak anestezi altına alındıktan sonra (Resim 3) ortodontik diş hareketi sağlamak

amacıyla tüm sıçanların üst sağ birinci ve ikinci azı dişleri arasına 0,5 mm kalınlığında ortodontik elastikler yerleştirilmiştir (Resim 4).



Resim 3: Anestezi uygulaması



Resim 4: Ortodontik elastik uygulaması sırasında ağız içi görüntüsü

Üç günlük deneysel diş hareketi periyodunun sonunda sıçanlara tekrar anestezi uygulanmış ve sıçanların ağızlarındaki elastikler çıkartılmıştır (Resim 5). OPG ve kontrol gruplarından ikişer hayvanda ortodontik diş hareketi elde etmek üzere yerleştirilen lastiklerin deney tamamlanmadan düştüğü tespit edilmiştir.



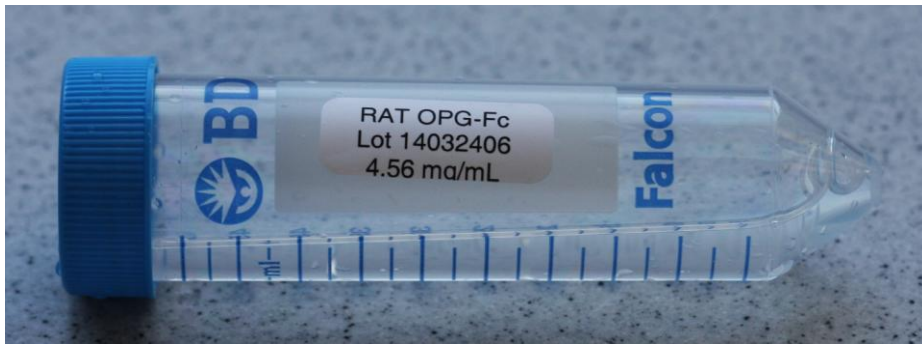
Resim 5: Ortodontik elastığın çıkartılması

Sıçanlar tartılarak ağırlıkları tespit edilmiş (Resim 6) ve aynı seansta, OPG grubundaki sıçanlara subkutan olarak 5 mg/kg osteoprotegerin (Resim 7), kontrol grubundaki sıçanlara da aynı miktarda serum fizyolojik uygulanmasına başlanmıştır. Enjeksiyonlara altıncı, dokuzuncu, onikinci ve onbeşinci günlerde devam edilmiştir (Resim 8). Enjeksiyon programı Resim 9'da gösterilmektedir.

OPG grubundan bir hayvanda mukozal enfeksiyon gelişmiş, kontrol grubunda ise bir hayvan kaybedilmiştir.



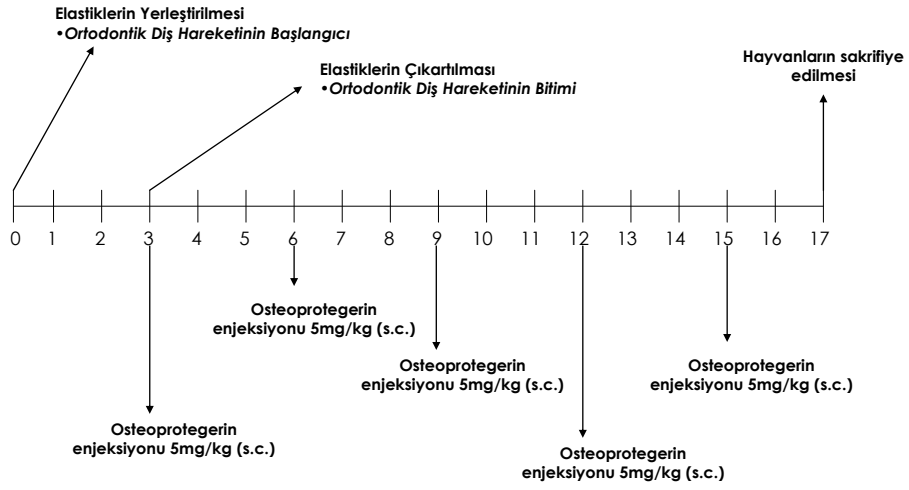
Resim 6: Sıçanların ağırlıklarının tespit edilmesi



Resim 7: Çalışmada kullanılan osteoprotegerin



Resim 8: Subkutan enjeksiyon uygulaması



Resim 9: Enjeksiyon programı

Deneyin başlangıcından 17 gün (*3 gün ortodontik diş hareketi +14 gün nüks*) sonra sıçanlar, yüksek dozda anestezi uygulanarak sakrifiye edilmiştir. Ardından yumuşak dokular diseke edilmiş, hayvanların üst çeneleri, cerrahi makas kullanılarak çıkartılmıştır. Dokular, +4°C'de, %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içeren doku kaplarına alınmıştır. Fiksasyon aşamasından sonra dokular Morse solüsyonunda (%10 sodyum sitrat ve %22,5 formik asit) 4 hafta boyunca dekalsifiye edilmiştir. Dekalsifikasyon boyunca, solüsyon haftada 3 kez değiştirilmiştir. Dekalsifiye olan dokular alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilmiş, bunu takiben de parafine gömülmüştür. Bloklar pilot çalışma sonrasında saptanan 1/6 sistematik rastgele örnekleme oranına göre seri olarak kesilmiştir. Kesitler diş kronlarından kök ucuna doğru 10 µm kalınlığında sagittal olarak alınmıştır. Alınan kesitler poly L lysin kaplı lamlara aktarılmıştır. Lamlara alınan kesitler hematoksilin eosin ile boyanarak kapatılmıştır.

Boyanan kesitler, CCD dijital kamera (Optronics Microfire 1600x1200P, Goleta, CA, USA), görüntü kartı (ATI FireGL Advance Micro Device, Camberly, UK), bilgisayar kontrollü motorize stage, (Bioprecision, Howtrone, NY, USA), Mikrokatör (Heidenhein, Traunreut, Germany) ve ışık mikroskopundan (Leica DM 4000B, Wetzlar, Germany) oluşan stereoloji çalışma istasyonunda incelenmiştir. Ölçümler yukarıda belirtilen mikroskopta Sterioinvestigator 7.0.5 (Microbrightfield, Williston, VT, USA) programı kullanılarak yapılmıştır. Hacim ölçümleri için Leica C Plan X10 objektif (NA = 0.22) kullanılmıştır. Alveol kemiğinin hacminin hesaplanmasında Sterioinvestigator görüntü analiz programının Cavalieri sondasından yararlanılmıştır. Cavalieri yöntemi, düzenli bir geometrik şekle sahip olmayan üç boyutlu nesnelere hacimlerinin birbirine paralel dilimlere ayrılarak hesaplanmasına dayanır. Bu yöntem ile önce hacmi hesaplanacak yapı, dilimlere ayrılır ve her kesitin yüzey alanı bulunup, kesit kalınlığı ile çarpılarak ilgili dilimin hacmi hesaplanır. Nihayet dilimlerin hacimleri toplanarak ilgilenilen yapının toplam hacmi bulunur.

Çalışmamızda alveolar kemiğin hacmi daha önce tanımlanan stereolojik iş istasyonu yardımıyla Cavalieri prensibi kullanılarak ölçülmüştür. Burada ilgilenilen yapıya noktalı alan ölçüm cetveli uygulanmıştır. Noktalı alan cetvelinin ölçüleri pilot çalışma ile saptanmıştır ve $d=50 \mu\text{m}$ dir. Bu ölçüler ile maksimum etkinlik sağlanmıştır. Noktalı alan ölçüm cetvelinin her noktası $2500 \mu\text{m}^2$ ye karşılık gelmektedir. Noktalı alan ölçüm cetveli ilgilenilen yapıya rastgele atılmış, ortodontik kuvvet uygulanan iki diş arasındaki alveolar kemiğe denk gelen noktalar sayılmıştır. Bu sayım sonuçları aşağıdaki formüldeki yerlerine konularak alveolar kemiğin hacmi tahmin edilmiştir.

$$\text{Hacim}_{\text{alveolar kemik}} = t \times a/p \times \sum p$$

Formülde “t” ortalama kesit kalınlığını, “a/p” noktalı alan ölçüm cetvelindeki her bir noktanın gerçekte temsil ettiği alanı ifade etmektedir. Ölçülen her kesitin hacimleri toplanıp, örnekleme oranı ile çarpılarak iki diş arasındaki alveolar kemiğin toplam hacmi ortaya çıkarılmıştır.

Hacim ölçümleri yapılırken elde edilen kesit sayısının ve kullanılan nokta sıklığının yeterli olup olmadığını sorgulamak amacıyla hata katsayılarına bakılmıştır. Kontrol grubunun hata katsayısı ortalaması $0,0065 \pm 0,0006$ (Ortalama \pm SH), OPG grubunun hata katsayısı ise $0,0071 \pm 0,0008$ (Ortalama \pm SH) olarak bulunmuştur. Ayrıca tüm çalışmanın her bir grubu için değişim katsayılarına bakılmıştır. Kontrol grubunun değişim katsayısı 0,005, OPG grubunun değişim katsayısı 0,002 olarak bulunmuştur.

Kesitlerin ışık mikroskopik incelemesinde OPG ve kontrol gruplarını oluşturan sıçan maksillalarının genel mikroskopik görünümünü saptamak amacıyla histomorfometrik ölçümlerin yapıldığı hematoksilen eosin ile boyanan $10 \mu\text{m}$ kalınlığındaki kesitlerin yanında her bir gruptan birer hayvanda Masson'un trikrom boyası ile boyanan $5 \mu\text{m}$ 'lik kesitler üzerinde de inceleme yapılmıştır.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızın istatistiksel analizleri Statistical Package For The Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programının 18,0 sűrűmű kullanılarak yapılmıştır. İstatistik anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır. Tűm gruplar için her bir parametrenin tanımlayıcı (ortalama, standart hata) istatistikleri hesaplanmıştır.

Gruplar arasında karşılaştırma yapmak için Bağımsız Őrneklem T Testi ve Oran Testi kullanılmıştır. Alveolar kemik hacmi ve maksillada diř kűkleri arasındaki alveol kemiğinin hacim oranı parametrik test varsayımlarını sağlamaktadır.

4. BULGULAR

4.1. Takip Bulguları

Deneyin sonunda hayvanların üst çenelerini histomorfometrik olarak incelemek üzere gerçekleştirilen dekalsifikasyon sırasında, OPG grubunun dekalsifikasyon süresinin kontrol grubuna göre daha uzun sürdüğü gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda dekalsifikasyon yaklaşık 3 hafta sürerken, OPG grubunda bu sürenin 4 haftaya çıktığı görülmüştür.

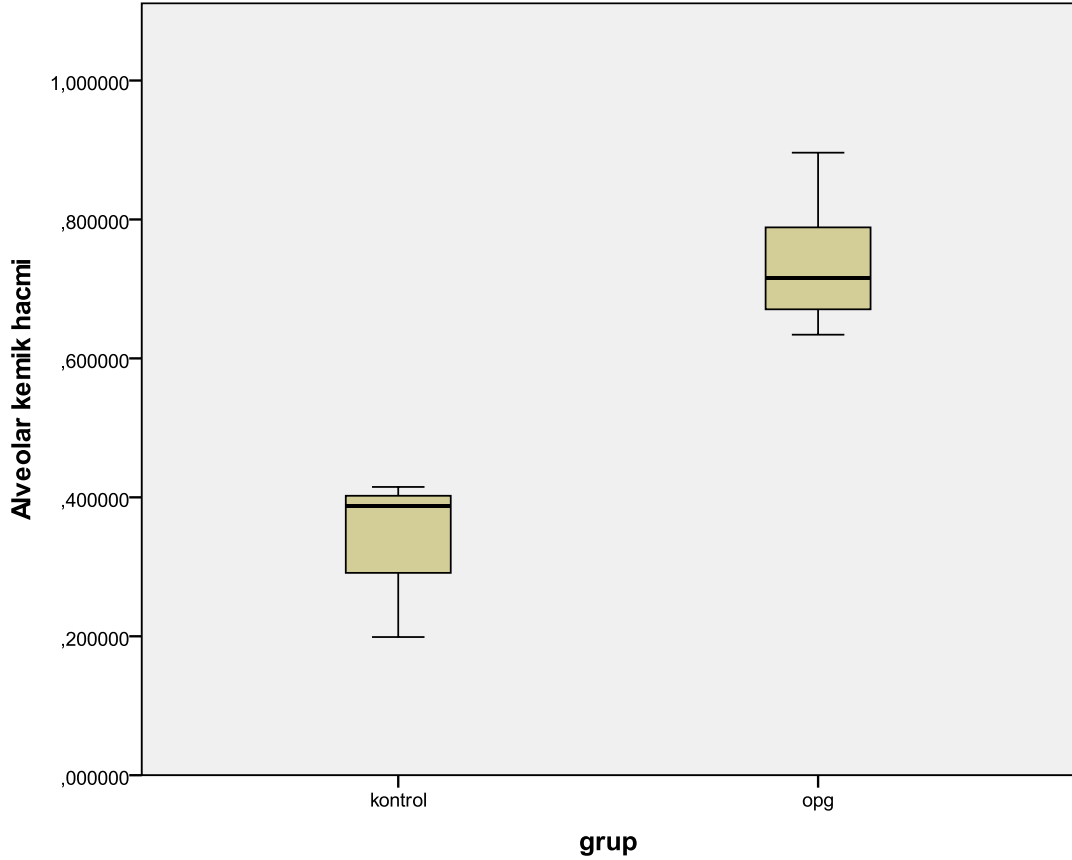
4.2. Histomorfometrik Bulgular

Ortodontik kuvvetin uygulandığı üst sağ birinci ve ikinci azı dişlerin kökleri arasındaki alveolar kemiğin hacmi kontrol grubunda (Ortalama \pm SH): $0,347 \pm 0,035 \text{ mm}^3$, OPG grubunda ise (Ortalama \pm SH): $0,737 \pm 0,039 \text{ mm}^3$ olarak bulunmuştur. OPG grubunda üst sağ birinci ve ikinci azı dişlerin kökleri arasındaki alveolar kemik hacminin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı görülmüştür ($p < 0,001$) (Tablo 1) (Şekil 2). OPG grubunda alveolar kemik artışının kontrol grubuna göre 2 kat daha fazla olduğu saptanmıştır.

Tablo 1: Deney gruplarının ortalama alveolar kemik hacimleri

Alveolar Kemik Hacmi (mm ³)	N	Ortalama	Std. Hata	P
Kontrol grubu	6	0,346979	±0,034619	0,000
OPG grubu	6	0,736879	±0,038914	

Şekil 2: Deney gruplarının ortalama alveolar kemik hacimleri

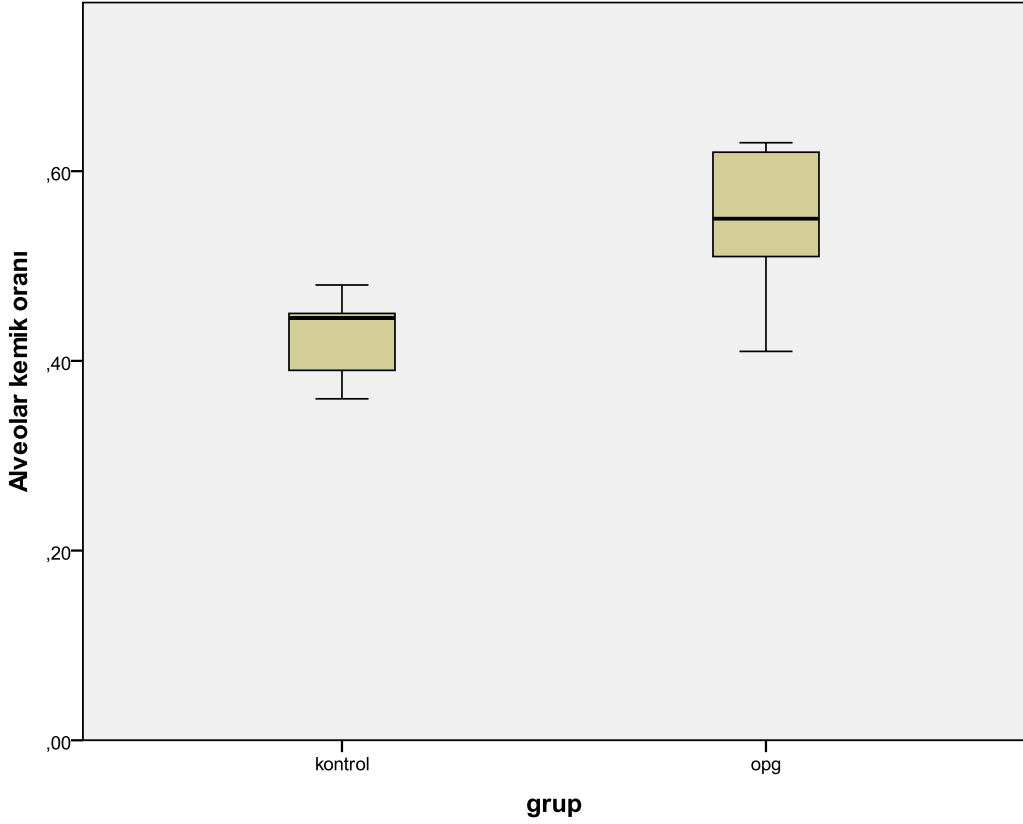


Diş kökleri arasındaki dokuda bulunan alveolar kemiğinin dokuya oranına baktığımızda; kontrol grubunda ortodontik kuvvet uygulanan dişlerin kökleri arasındaki dokuda alveolar kemik hacim oranı (Ortalama ± SH) %43±1,8 ve OPG grubunda ortodontik kuvvet uygulanan dişlerin kökleri arasındaki dokuda ise alveolar kemik hacim oranı (Ortalama ± SH) %55±3,3 olarak bulunmuştur. Diş kökleri arasındaki dokuda bulunan alveolar kemik oranında, OPG grubunda, kontrol grubuna göre alveolar kemik hacminde de olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı artış görülmüştür ($p < 0,05$) (Tablo 2) (Şekil 3).

Tablo 2: Deney gruplarının ortalama alveolar kemik oranları

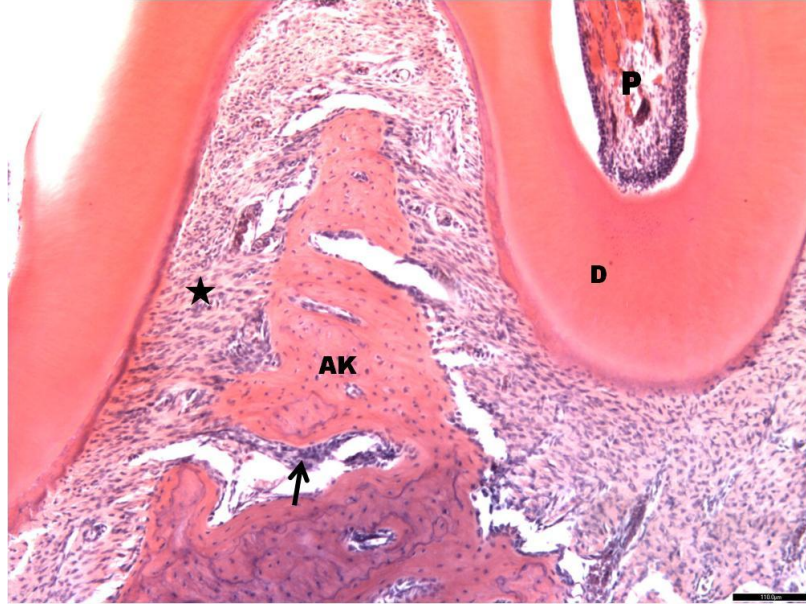
Alveolar Kemik Oranı	N	Ortalama	Std. Hata	P
Kontrol grubu	6	0,4283	$\pm 0,01815$	0,012
OPG grubu	6	0,5450	$\pm 0,03374$	

Şekil 3: Deney gruplarının ortalama alveolar kemik oranları

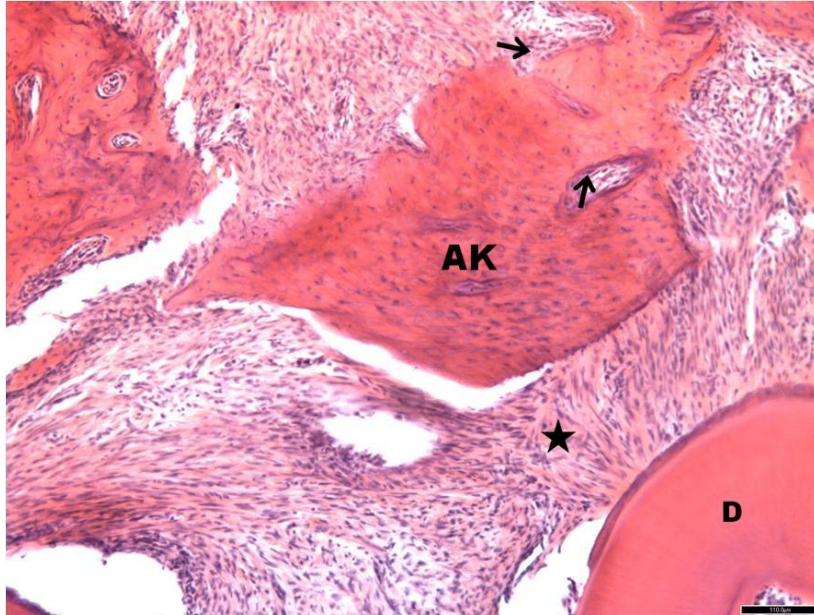


4.3. Histopatolojik Bulgular

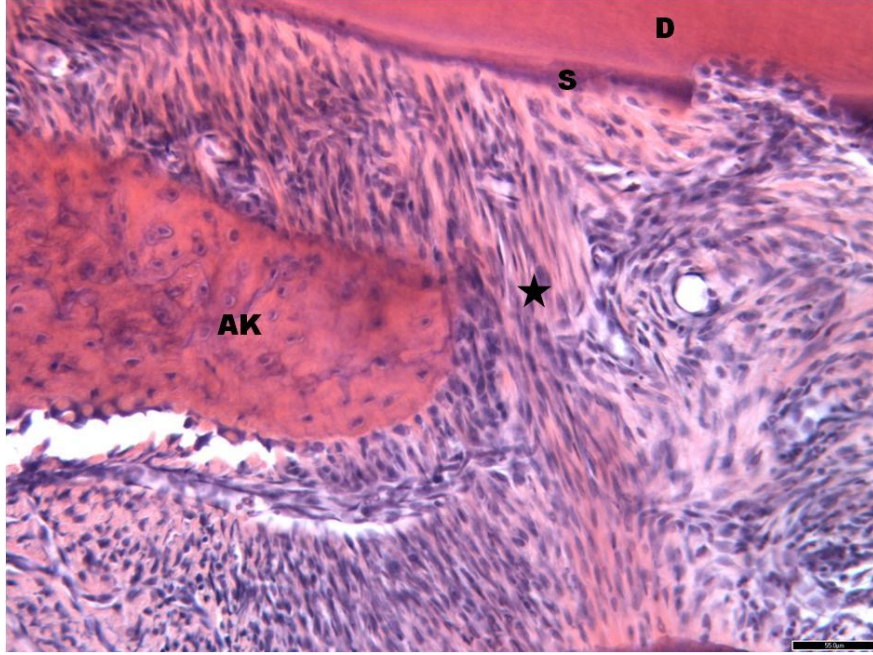
Yapılan ışık mikroskopik incelemesinde OPG uygulanan grupta ortodontik kuvvet uygulanan dişlerin kökleri arasında yeni kemikleşme alanlarının ve damarlanmanın arttığı belirgin olarak görülmüştür (Şekil 4-13).



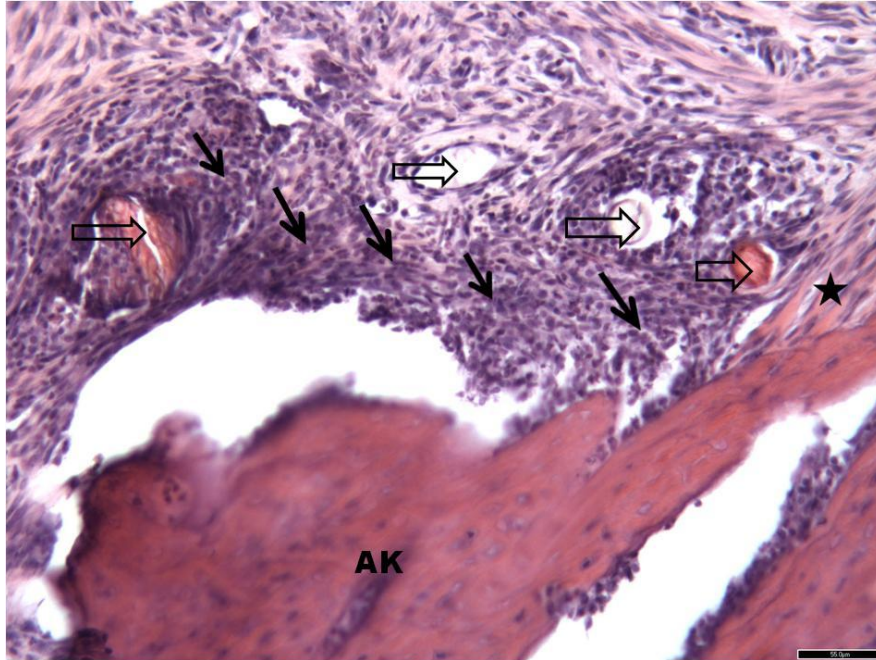
Şekil 4: Ortodontik kuvvet uygulanmış kontrol grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü. Kesitlerde Alveolar kemik (AK), Pulpa (P), Dentin (D), Yeni kemikleşme alanları (Ok), Periodontal Lifler (yıldız). Resimler (x10'luk büyütmede) bar=110 µm, Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.



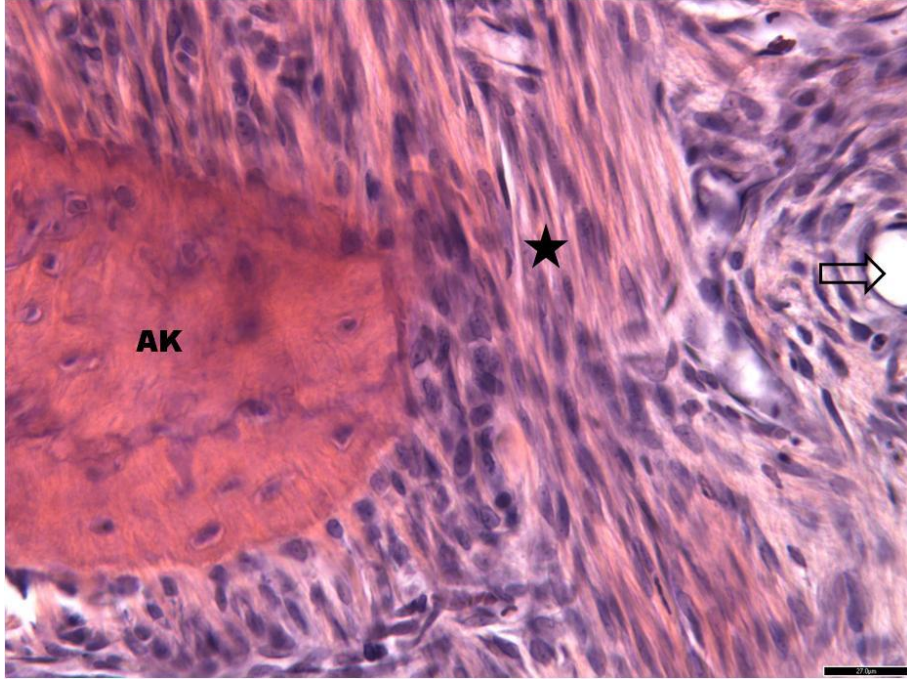
Şekil 5: Ortodontik kuvvet uygulanmış OPG grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü. Kesitlerde Alveolar kemik (AK), Dentin (D), Yeni kemikleşme alanları (Ok), Periodontal Lifler (yıldız). Histolojik kesitlerde yeni kemikleşme alanları belirgin olarak görülmektedir. Resimler (x10'luk büyütmede) bar=110 µm, Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.



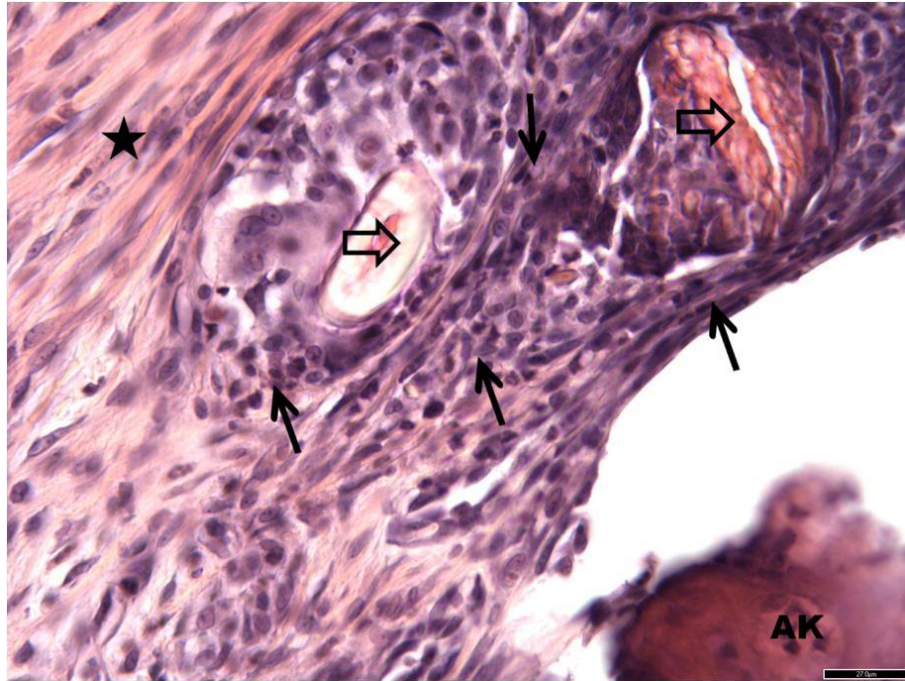
Şekil 6: Ortodontik kuvvet uygulanmış kontrol grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü. Kesitlerde Alveolar kemik (AK), Sementum (S), Dentin (D), Periodontal Lifler (yıldız). Resimler (x20'luk büyütmede) bar=55 µm, Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.



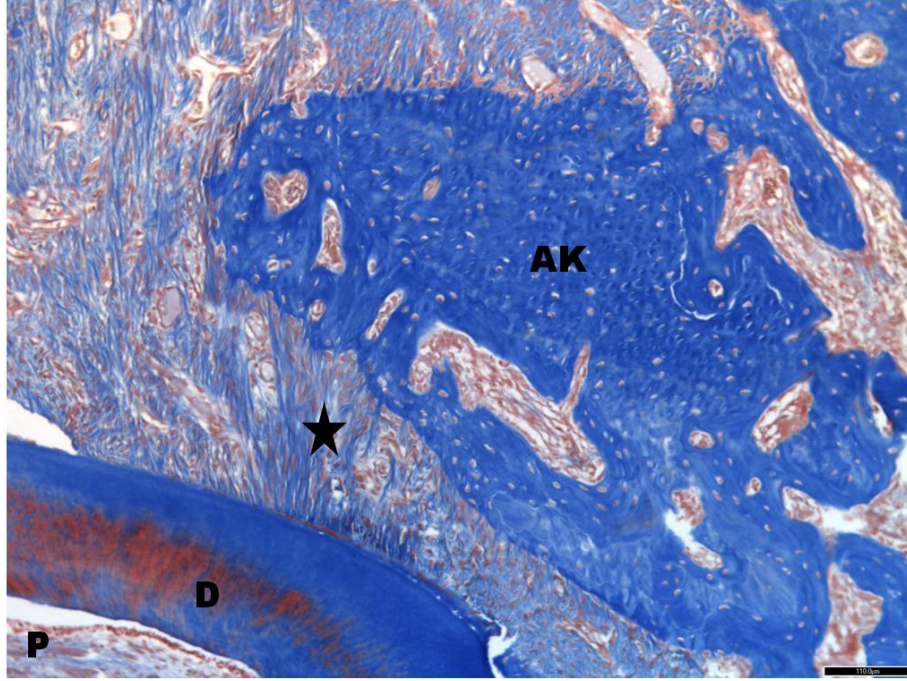
Şekil 7: Ortodontik kuvvet uygulanmış OPG grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü. Kesitlerde Alveolar kemik (AK), Dentin (D), Yeni kemikleşme alanları (Ok), Damar (Boş ok), Periodontal Lifler (yıldız). Histolojik kesitlerde yeni kemikleşme alanlarının belirgin olduğu ve damarlanmanın arttığı görülmektedir. Resimler (x20'luk büyütmede) bar=55 µm, Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.



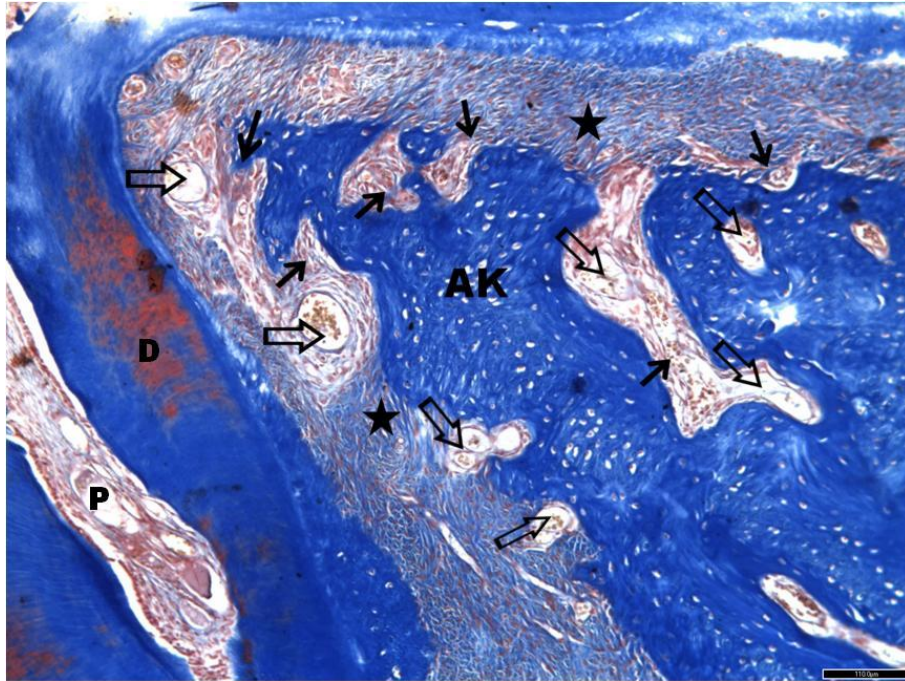
Şekil 8: Ortodontik kuvvet uygulanmış kontrol grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü. Kesitlerde Alveolar kemik (AK), Damar (Boş ok), Periodontal Lifler (yıldız). Resimler (x40'luk büyütmede) bar=27 µm, Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.



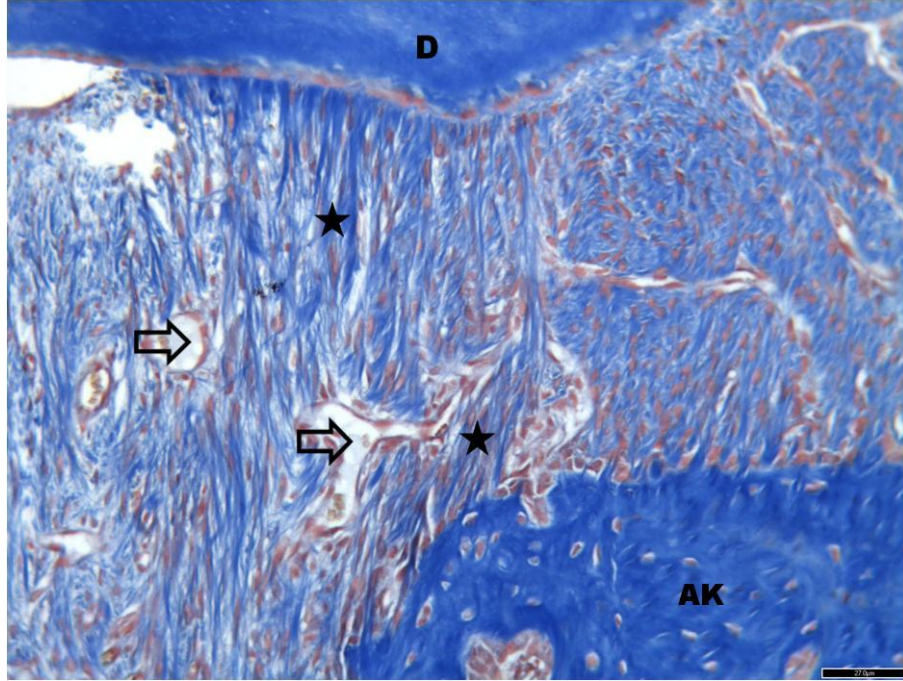
Şekil 9: Ortodontik kuvvet uygulanmış OPG grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü. Kesitlerde Alveolar kemik (AK), Dentin (D), Yeni kemikleşme alanları (Ok), Damar (Boş ok), Periodontal Lifler (yıldız). Histolojik kesitlerde yeni kemikleşme alanlarının belirgin olduğu görülmektedir. Resimler (x40'luk büyütmede) bar=27 µm, Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.



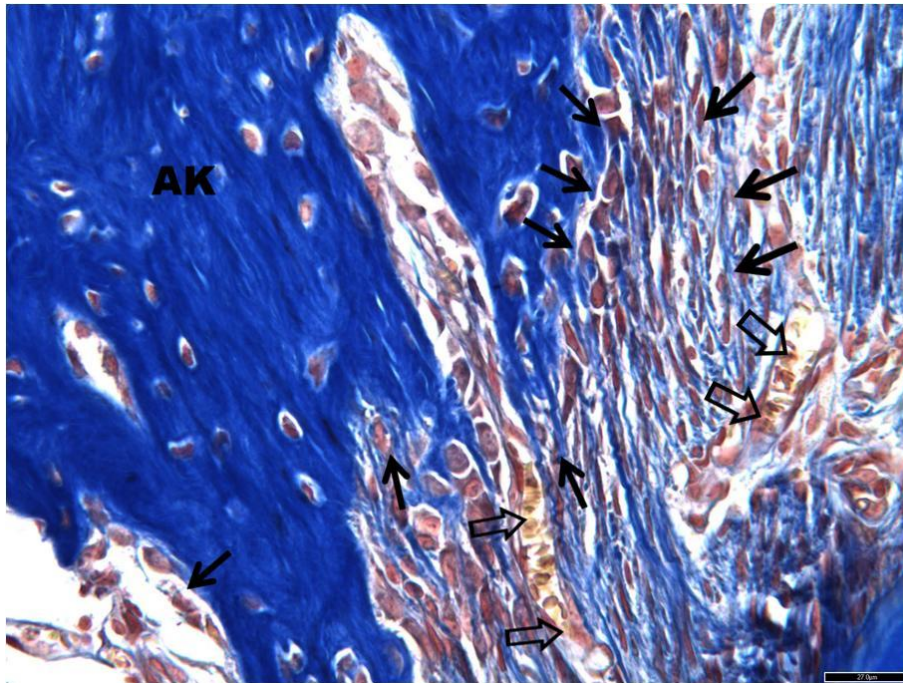
Şekil 10: Ortodontik kuvvet uygulanmış kontrol grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü. Kesitlerde Alveolar kemik (AK), Dentin (D), Pulpa (P), Damar (Boş ok), Periodontal Lifler (yıldız). Resimler (x10'luk büyütmede) bar=110 µm, Trikrom Masson ile boyanmıştır.



Şekil 11: Ortodontik kuvvet uygulanmış OPG grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü. Kesitlerde Alveolar kemik (AK), Dentin (D), Pulpa (P), Yeni kemikleşme alanları (Ok), Damar (Boş ok), Periodontal Lifler (yıldız). Histolojik kesitlerde yeni kemikleşme alanlarının belirgin olduğu görülmektedir. Damarlanmanın artışı dikkat çekicidir. Resimler (x10'luk büyütmede) bar=110 µm, , Trikrom Masson ile boyanmıştır.



Şekil 12: Ortodontik kuvvet uygulanmış kontrol grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü. Kesitlerde Alveolar kemik (AK), Dentin (D), Damar (Boş ok), Periodontal Lifler (yıldız). Resimler (x40'luk büyütmede) bar=27 µm, Trikrom Masson ile boyanmıştır.



Şekil 13: Ortodontik kuvvet uygulanmış OPG grubuna ait alveolar kemiğin histolojik görünümü. Kesitlerde Alveolar kemik (AK), Damar (Boş ok), Yeni kemikleşme alanları (Ok). Histolojik kesitlerde yeni kemikleşme alanlarının ve damarlanmanın artığı belirgin olarak görülmektedir. Resimler (x40'luk büyütmede) bar=27 µm, Trikrom Masson ile boyanmıştır.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızın amacı, deneysel diş hareketi sonrasında uygulanan osteoprotegerinin kemik remodelingi üzerindeki etkisinin histomorfometrik olarak incelenmesidir. Bu çalışma ile, gelecekte ortodontik tedavi sonrasında dişlerin eski konumlarına dönmesine engel olmak için uygulanan pekiştirme döneminin, hastalar tarafından kolay kabul edilmeyen ve çeşitli dezavantajları olan pekiştirme aygıtları olmaksızın geçirilmesi fikrine ışık tutulmak istenmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen histolojik veriler, ortodontik kuvvete maruz kalan kemikte gerçekleşen remodelingin, ortodontik aygıtlar çıkartıldıktan sonra bir süre daha devam ettiğini göstermektedir (242-244).

Stegman ve arkadaşları (244) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, iki hafta süreyle ortodontik kuvvet uyguladıkları alt kesici dişlerin etrafındaki kemikte rezorpsiyonun ve apozisyonun ortodontik kuvvet uygulamasının sonlandırılmasından sonra da devam ettiğini bildirmişlerdir.

King ve arkadaşları (245), yaptıkları çalışmada, sıçanların üst birinci azı dişlerine mesial yönlü kuvvet uygulayan ortodontik aygıtların çıkartılmasını takiben, remodelingin bir süre daha devam ettiğini, ondördüncü günün sonunda ise kuvvet uygulanmamış dokulardakine benzer hale geldiğini bildirmişlerdir.

Daha önce yapılan çalışmalarda ortodontik tedavi sonrasında dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin yeniden düzenlenmesi sırasında, istenmeyen diş hareketlerinin gerçekleşmesini önlemek amacıyla alveol kemiğinde görülen

rezorpsiyonu inhibe eden çeşitli maddelerin kullanılabileceği bildirilmiştir (12,13). 2004 senesinde Kawakami ve Takano-Yamamoto (12) yaptıkları bir hayvan çalışmasında lokal olarak uygulanan D vitamininin ortodontik tedavi sonrasında dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin remodelingi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada D vitamininin ortodontik tedavi sonrasında dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin yeniden düzenlenmesi sırasında olumlu etki gösterdiği bildirilmiştir.

Ortodonti literatürü incelendiğinde osteoprotegerinin, ortodontik diş hareketi sırasında gerçekleşen kemik rezorpsiyonunu engellemek yoluyla, istenmeyen diş hareketini önlemek için kullanılabileceğinin önerildiği görülmektedir. Bu sayede, ankraj amacıyla kullanılan ağız dışı aygıtlara ve implantlara duyulan ihtiyacın azalacağı düşünülmektedir (13,230).

Osteoprotegerin ve pamidronatin kemik rezorpsiyonu ve ortodontik diş hareketi üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada osteoprotegerinin istenmeyen diş hareketini %77 oranında azalttığı saptanmış ve bu amaçla kullanıldığında klinik fayda sağlayabileceği bildirilmiştir (13).

Yaptığımız çalışmada, ortodontik tedaviyi takip eden pekiştirme döneminde dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin remodelingi üzerinde OPG'nin nasıl bir etkisi olduğu incelenmiştir.

Osteoprotegerin, osteoklastların diferansiyasyonunun ve aktivasyonunun, buna bağlı olarak da, kemik rezorpsiyonu ve formasyonu arasındaki kritik dengenin düzenlenmesinde temel rol oynayan OPG/RANKL/RANK sisteminde yer alan önemli bir proteindir (200). OPG, RANKL ve RANK arasındaki kemik rezorpsiyonuna neden olan bağlanmayı engelleyerek osteoklast formasyonu ve aktivasyonunu inhibe etmektedir (246). Daha önce yapılan deneysel ve klinik çalışmalar kemikte gerçekleşen remodeling prosesinin RANKL/RANK/Osteoprotegerin sistemi ile kontrol

edildiğini göstermiştir (151). RANKL moleküllerinin osteoklast prekürsörleri üzerindeki RANK reseptörüne bağlanmasının osteoklastogenezi, buna bağlı olarak da kemik rezorpsiyonunu stimüle ettiği bildirilmiştir. Osteoprotegerin ise RANKL'a bağlanıp, bu moleküllerin RANK'a bağlanmasını önleyerek bu süreci durdurmaktadır (151,159,160).

Osteoprotegerinin farmakolojik etkilerinin yanısıra, alveol kemiği üzerindeki etkilerinin incelendiği çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde periodontitiste, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isimli anaerobik mikroorganizmanın, CD4+ T lenfositleri stimüle ederek, RANKL üretimini stimüle etme yoluyla arttırdığı alveolar kemik rezorpsiyonunun, OPG uygulaması ile önlenildiği gösterilmiştir (227).

OPG, kemik remodelingine yalnızca kemik rezorpsiyonunu inhibe etme yoluyla katkıda bulunmaz. Son yıllarda yapılan çalışmalarda osteoprotegerinin kemik yoğunluğunun ve kütlesinin artmasında da katkıda bulunduğu bildirilmektedir (201-203).

Grundt ve arkadaşları (204) 2009 senesinde yaptıkları çalışmada, OPG'nin osteoblast hücrelerinde hücreyel alkalın fosfataz aktivitesini, in vitro mineralizasyonu ve osteoblastların kemik matriksine tutunmalarını arttırdığını bildirerek, osteoprotegerinin kemik üzerinde direkt bir anabolik etkisi olduğunu göstermişlerdir.

Kemik remodelingini kontrol eden sistemde kemik rezorpsiyonu ve yapımı arasındaki dengeyi, hem kemik rezorpsiyonunu azaltarak hem de osteoid mineralizasyonu arttırarak, kemik yapımına doğru kaydırması nedeniyle çalışmamızda OPG kullanılması tercih edilmiştir.

Literatürde osteoprotegerinin pekiştirme sırasında kemik remodelingi üzerinde nasıl bir etki gösterdiğini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır.

Ortodontik tedavi sırasında ve sonrasında gerçekleşen biyolojik yanıtın anlaşılabilmesi için maymun, köpek, kedi, fare ve sıçan gibi birçok hayvan türü üzerinde deneysel çalışmalar yapılmıştır (232.).

Diğer deney hayvanlarına göre daha ucuza elde edilebilmeleri, histolojik kesitlerin hazırlanmasının kolay olması, hücresel ve moleküler biyolojik teknikler için gereken antikörlerin çoğunun yalnızca fare ve sıçanlar için mevcut olması gibi etkenler nedeniyle sıçanlar, deneysel çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedirler (232).

Sıçanların alveol kemikleri daha yoğundur (234) ve periodontal fibrillerin dağılımı farklılık gösterir (235,236). Ortodontik kuvvete maruz kaldığında komşu dokularda meydana gelen değişiklikler daha hızlı olmakla birlikte gerçekleşen temel mekanizmalar benzerlik gösterir (240,241).

Çalışmamızda 11-12 haftalık Sprague-Dawley sıçanları kullanılmıştır. Misawa ve arkadaşları (247), 2007 senesinde yaptıkları çalışmada sıçanların yaşlarının alveol kemiğinin turnover hızına olan etkisini karşılaştırmış, normal fizyolojik şartlar altında turnover hızının 6 haftalık ile 30-40 haftalık sıçanlar arasında hızla düştüğü, 50 ila 100 haftalık sıçanlar arasında ise daha da azaldığı sonucuna ulaşmışlardır. Çalışmamızda ise genç olarak kabul edilen 11-12 haftalık sıçanlar kullanılmıştır. Genç sıçanlar gerçekleştirilen prosedürleri daha rahat kaldırabilmektedir. Ayrıca 11-12 haftalık sıçanların daha genç sıçanlara göre iri olmaları ağız içerisinde çalışmayı daha kolay hale getirmiştir.

Çalışmamızda, östrus ile ilişkili olarak gerçekleşen hormonal değişikliklerin elimine edilebilmesi için erkek sıçanlar tercih edilmiştir.

Ortodontik diş hareketi sağlamak amacı ile sıçanların dişleri arasına elastikler yerleştirilmesinden önce, sıçanlar 60 mg/kg/im dozunda Ketazol® %10 (Richter Pharma) (1ml'sinde 100 mg ketamin hidroklorür içerir.) ve 5 mg/kg/im dozunda Rompun® %2 (Bayer) (1ml'sinde 23,32 mg ksilazin içerir.) uygulanarak anestezi altına alınmıştır. Maymunlar gibi büyük hayvan türlerinde yalnızca hafif cerrahi anestezi sağlayan ketamin hidroklorür, daha hızlı bir metabolizmaya sahip olan küçük hayvanlarda (248) daha yüksek dozlarda etki göstermektedir (249). Çalışmamızda ketamin hidroklorür, ksilazin isimli sedatif ile birlikte kullanılarak etkisi arttırılmıştır.

Çalışmamızda deneysel diş hareketinin gerçekleştirilmesi amacıyla, sıçanların üst birinci ve ikinci azı dişleri arasına 0,5 mm kalınlığındaki elastikler yerleştirilmiştir. Bu yöntem, kolay uygulanabilir olması ve ortodontik kuvvetin bu yöntem ile uygulanması halinde dokularda grlen temel reaksiyonların daha komplike aygıtların kullanıldığı deneysel çalışmalardakine benzerlik göstermesi nedeniyle tercih edilmiştir (238). Ortodontik diş hareketi gerçekleştirmek amacıyla uygulanan daha komplike aygıtlar, hayvanlarda beslenme problemi yaratabilmektedir. Buna bağlı olarak gerçekleşen kilo kaybının yarattığı fizyolojik stres ise kemikte gerçekleşecek cevabı etkileyebilmektedir (250).

Waldo ve Rothblatt (238) yaptıkları çalışmada, üst birinci ve ikinci azı dişleri arasına elastik yerleştirdikleri sıçanları üçüncü günün sonunda sakrifiye ederek hazırladıkları histolojik kesitlerde, periodontal membranda basınç alanlarında değişen miktarda hemoraji, alveol kemiğinde ise kemik rezorpsiyonu ile birlikte remodeling olduğunu saptamışlardır. Waldo ve Rothblatt (238) tarafından tanımlanan bu yönteme göre dişler 96 saatlik bir zaman diliminde hareket ettikten sonra diş hareketi durmakta ve dişlerin pozisyonu korunmaktadır. Bu nedenlerle üst birinci ve ikinci azı dişleri arasına yerleştirilen elastikler ağızda  gün süre ile tutulmuştur.

Deneysel diş hareketini gerçekleştirmek amacıyla elastikler, daha kolay ulaşılabilir olmaları ve alt azı dişlerine oranla daha geniş kontakt alanlarına sahip olmaları (238) nedeniyle sıçanların üst birinci ve ikinci azı dişleri arasına yerleştirilmiştir.

Çalışmamızda üçüncü günün sonunda elastikler çıkartılmış ve aynı seansta, OPG grubundaki sıçanlara subkutan olarak 5 mg/kg osteoprotegerin, deney grubundaki sıçanlara aynı miktarda serum fizyolojik uygulanmasına başlanmıştır. Çalışmamızda osteoprotegerin enjeksiyonları, elastiklerin çıkartıldığı üçüncü günden itibaren, altıncı, dokuzuncu, onikinci ve onbeşinci günlerde gerçekleştirilmiştir. Hayvanlar elastiklerin çıkartılmasından 14 gün, deneyin başlangıcından 17 gün sonra sakrifiye edilmiştir. Çalışmamızda osteoprotegerinin ortodontik tedavi sonrasında dişlerin etrafındaki alveol kemiğindeki remodelinge 14 gün boyunca yaptığı etkinin incelenmesi hedeflenmiştir.

King ve arkadaşları (245), 1997 senesinde sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, uygulanan ortodontik aygıtların çıkartılmasını takiben, ortodontik kuvvete maruz kalan dokularda görölen remodelingin bir süre daha devam ettiğini, ondördüncü günün sonunda ise kuvvet uygulanmamış dokulardakine benzer bir paterne geri döndüğünü bildirmişlerdir.

Dunn ve arkadaşları (230), 2007 senesinde sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, 0,5 mg/kg ve 5 mg/kg dozajlarında haftada iki kere lokal olarak uyguladıkları insan osteoprotegerininin (human OPG-Fc) ortodontik diş hareketi sırasında kemik remodelingine olan etkilerini karşılaştırmışlardır. Osteoprotegerinin 5 mg/kg dozajında uygulandığı grupta, molar dişte görölen hareketin %78,7 oranında azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. Osteoprotegerinin 0,5 mg/kg dozajında verildiği grupta ankrajın nispeten daha az korunması ise dozajın yetersiz kalmasına bağlanmıştır. Bu çalışmada, deney hayvanlarında

uygulanan insan osteoprotegerinine karşı gerçekleşen imün yanıt nedeniyle dozajın yetersiz kaldığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda osteoprotegerin, Dunn ve arkadaşlarının (230) çalışmasındaki benzer şekilde 5 mg/kg dozajında uygulanmıştır. Osteoprotegerinin bu çalışmadan farklı olarak sistemik uygulanmasına rağmen bu dozajın seçilmesindeki neden, çalışmamızda insan osteoprotegerininin (human OPG-Fc) yerine sıçan osteoprotegerininin (rat OPG-Fc) kullanılmasıdır. İnsan osteoprotegerini (human OPG-Fc) kullanılmaması nedeniyle sıçanlarda immun bir cevap oluşması beklenmemiştir (230). Böyle bir etki beklenmediği için de, osteoprotegerin sistemik olarak uygulanmasına rağmen uygulama dozu arttırılmamıştır.

Yaptığımız çalışmada, 3 gün süren deneysel ortodontik diş hareketi sonrasında, iki haftalık pekiştirme döneminde, iki gün ara ile subkutan olarak 5mg/kg OPG'nin uygulandığı grupta, ortodontik kuvvetin uygulandığı üst sağ birinci ve ikinci azı dişlerin kökleri arasındaki alveolar kemiğinin hacminin kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görülmüştür ($p<0,001$).

Ortodontik kuvvet uygulanan dişlerin kökleri arasındaki dokuda bulunan alveolar kemiğin dokuya olan oranları karşılaştırıldığında; OPG grubunda bu oranın $55\pm 3,3$ kontrol grubunda ise $43\pm 1,8$ olduğu ve bu oranın OPG grubunda, kontrol grubuna göre, alveolar kemik hacminde de olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

OPG grubunda alveolar kemik artışının kontrol grubuna göre 2 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Alveol kemiğindeki bu belirgin artış, ortodontik tedavi sonrasında alveol kemiğinde gerçekleşen remodeling sırasında, yalnızca rezorpsiyonun inhibe edilmesiyle açıklanamayacak

kadar fazladır. Çalışmamızın bulguları değerlendirildiğinde, alveol kemik hacmindeki bu artışta, OPG'nin kemik yapımına olan olumlu etkisinin de rol oynadığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda yapılan ışık mikroskopik incelemesinde de OPG uygulanan grupta ortodontik kuvvet uygulanan dişlerin kökleri arasında yeni kemikleşme alanlarının ve damarlanmanın arttığı belirgin olarak görülmüştür.

Grundt ve arkadaşları (204) 2009 senesinde yaptıkları çalışmada, çalışmamızın bulgularını destekler şekilde, OPG'nin osteoblast hücrelerinde hücresel alkalın fosfataz aktivitesini, in vitro mineralizasyonu ve osteoblastların kemik matriksine tutunmalarını arttırdığını bildirerek, osteoprotegerinin kemik üzerinde direkt bir anabolik etkisi olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda, ortodontik diş hareketi sonrasında pekiştirme döneminde osteoprotegerinin uygulanmasının, kemik remodelingi sırasında kemik yapımına olumlu bir katkı sağlayacağı ve buna bağlı olarak da nüksü azaltabileceği sonucuna varılmıştır.

Daha önce yapılan çeşitli hayvan çalışmalarında ise ortodontik diş hareketi sırasında uygulanan OPG'nin kemik remodelingine olan etkileri incelenmiş ve benzer sonuçlara ulaşılmıştır (13,230).

Keleş ve arkadaşları (13) yaptıkları hayvan çalışmasında, osteoprotegerin ve pamidronatın kemik rezorpsiyonu ve ortodontik diş hareketi üzerindeki etkilerini karşılaştırmıştır. Bu amaçla, deney farelerine, ortodontik kuvvet uygulamasını takiben 8 gün boyunca her gün 5 mg/kg dozajında pamidronat ve 10 mg/kg dozajında osteoprotegerin subkutan olarak uygulanmıştır. Bu çalışmada, osteoklast sayısının, osteoprotegerin

uygulanan grupta %95 oranında azaldığı, benzer şekilde, istenmeyen diş hareketinin, osteoprotegerin uygulanan grupta %77 oranında azaldığı saptanarak, osteoprotegerinin diş hareketinin önlenmesinde etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

2007 senesinde Dunn ve arkadaşları (230), sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, sıçanların üst birinci azı ve üst kesici dişleri arasına yerleştirdikleri zemberekler yardımıyla elde ettikleri deneysel ortodontik diş hareketi sırasında, haftada iki kere lokal olarak 5 mg/kg dozajında uyguladıkları OPG'nin, diş hareketini %78,7 oranında azalttığı sonucuna ulaşmışlardır. OPG uygulanan grupta, kemik rezorpsiyonu görülen alanların ve osteoklast sayısının kontrol grubuna oranla oldukça az olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda, OPG'nin ortodontik tedavi sonrasında dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin remodelingi üzerindeki etkisi incelenmiştir. OPG'nin ortodontik diş hareketi sonrasındaki pekiştirme dönemindeki kemik remodelingine olan etkilerinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır.

Kawakami ve Takano-Yamamoto (12) 2004 senesinde yaptıkları bir hayvan çalışmasında lokal olarak uygulanan D vitamininin ortodontik tedavi sonrasında dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin remodelingi üzerindeki etkisini incelemişler ve D vitamininin ortodontik tedavi sonrasında dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin yeniden düzenlenmesi sırasında olumlu etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Boyce ve Weisbrode (251) yaptıkları çalışmada, günlük enjeksiyonlarla uyguladıkları D vitamininin, enjeksiyonları takip eden ilk iki günde, kemik rezorpsiyonunda, 14 gün sonra ise kemik formasyonunda bir artışa neden olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle D vitaminin osteoklastlar üzerindeki etkisinin kısa sürdüğü, ancak osteoblastlar üzerindeki etkisinin daha kalıcı olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak D vitaminin kemik

remodelingine yapım yönünde olumlu bir katkı sağlaması için sık ve devamlı olarak uygulanması gerekecektir.

Ortodontik tedavi sonrası, pekiştirme döneminin herhangi bir aygıt olmaksızın geçirilebilmesi amacıyla uygulanan, kemik dokuda rezorpsiyonu engelleyerek dişlerin etrafındaki alveol kemiğinin remodelingi üzerinde olumlu etki gösteren bu maddelerin uygulama sıklıklarının olabildiğince az olması tercih edilecektir.

5. SONUÇ

- OPG uygulanan grupta, ortodontik kuvvet uygulanan dişlerin kökleri arasındaki alveolar kemik hacminin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görülmüştür.
- Ortodontik kuvvet uygulanan dişlerin kökleri arasındaki dokuda bulunan alveolar kemiğin dokuya oranının OPG grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görülmüştür.

6. KAYNAKLAR

1. Melrose C, Millett DT. Toward a perspective on orthodontic retention? *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1998;113:507-14.
2. Joondeph DR. Retention and relapse. Ed: Graber TM, Vanarsdall Jr RL. *Orthodontics: Current Principles and Techniques*. Third Edition, s. 985-1012, C.V. Mosby, St. Louis, Missouri, 2000.
3. Reitan K. Tissue rearrangement during retention of orthodontically rotated teeth. *Angle Orthod* 1959;29:105-13.
4. Littlewood SJ, Millett DT, Doubleday B, Bearn DR, Worthington HV. Orthodontic retention: A systematic review. *J Orthod* 2006;33:205–212.
5. Blake M, Bibby K. Retention and stability: A review of the literature. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1998;114:299-306.
6. Proffit WR. Retention. In: *Contemporary orthodontics*. 2nd ed. St. Louis: Mosby–Year Book, 1993:534-5.114.
7. Kaplan, H. The logic of modern retention procedures. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1988;93:325-40.
8. Zachrisson BU, Bonding in orthodontics. Ed: Graber TM, Vanarsdall Jr RL. *Orthodontics: Current Principles and Techniques*. Third Edition, s. 557-645, C.V. Mosby, St. Louis, Missouri, 2000.
9. Artun J, Agnes T, Spadafora AT, Shapiro PA. A 3-year follow-up study of various types of orthodontic canine-to-canine retainers. *Eur J Orthod* 1997;19:501-509.
10. Dahl EP, Zachrisson BU. Long-term experience with direct-bonded lingual retainers. *J Clin Orthod* 1991;25(10):619-630.
11. Artun J, Urbye KS. The effect of orthodontic treatment on periodontal bone support in patients with advanced loss of marginal periodontium. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1988;93:143-148.
12. Kawakami M, Takano-Yamamoto T. Local injection of 1,25-dihydroxyvitamin D3 enhanced bone formation for tooth stabilization after experimental tooth movement in rats. *J Bone Miner Metab* 2004;22:541–546.

13. Keles A, Grunes B, DiFuria C, Gagari E, Srinivasan V, Darendeliler MA, Muller R, Kent JR, Stashenko P. Inhibition of tooth movement by osteoprotegerin vs. pamidronate under conditions of constant orthodontic force. *Eur J Oral Sci* 2007;115:131–136.
14. Moss JP. The soft tissue environment of teeth and jaws: experimental malocclusion: parts 2 and 3. *Br J Orthod* 1980;7:205-16.
15. Tanne K, Inone Y, Sakuda M. Biomechanical behaviour of the periodontium before and after orthodontic tooth movement. *Angle Orthod* 1995;65:123-8.
16. King GJ, Keeling SD. Orthodontic bone remodelling in relation to appliance decay. *Angle Orthod* 1995;65:129-40.
17. Reitan K. Clinical and histologic observations on tooth movement during and after orthodontic treatment. *Am J Orthod* 1967;53:721-45.
18. Reitan K. Principles of retention and avoidance of post treatment relapse. *Am J Orthod* 1969;55:776-90.
19. Southard TE, Southard KA, Tolley EA. Periodontal force: a potential cause of relapse. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1992;101:221-7.
20. Frankel R, Frankel C. *Orofacial orthopedics with the function regulator*. Basel: Karger, 1989.
21. Mills JRE. The stability of the lower labial segment: a cephalometric survey. *Dent Rec* 1968;18:293-306.
22. Ingervall B, Thuer U. Cheek pressure and head posture. *Angle Orthod* 1988;58:47-57.
23. Luffingham JK. Lip and cheek pressure exerted upon teeth in three adult groups with different occlusions. *Arch Oral Biol* 1969;14:337-50.
24. Thuer U, Ingervall B. Pressure from the lips on the teeth and malocclusion. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1986;90:234-42.
25. Gould MSE, Picton DCA. Sub-atmospheric pressures and forces recorded from the labio-buccal surfaces of teeth during swallowing in adult males. *Br J Orthod* 1975;2:121-5.
26. Proffit WR. Lingual pressure patterns in the transition from tongue thrust to adult swallowing. *Arch Oral Biol* 1972;17:555-63.

27. Cohen AM, Vig PS. A serial growth study of the tongue and intermaxillary space. *Angle Orthod* 1976;46:332-7.
28. Frohlich K, Ingervall B, Thuer U. Further studies of the pressure from the tongue on the teeth in young adults. *Eur J Orthod* 1992;14:229-39.
29. Frohlich K, Ingervall B, Thuer U. Pressure from the tongue on the teeth in young adults. *Angle Orthod* 1991;61:17-24.
30. Proffit WR. Equilibrium theory revisited: factors influencing position of the teeth. *Angle Orthod* 1978;48:175-86.
31. Weinstein S, Haack D, Morris LY, Snyder BB, Attaway HE. On an equilibrium theory of tooth position. *Angle Orthod* 1963;33:1-26.
32. Proffit WR. On the aetiology of malocclusion. *Br J Orthod* 1978;13:1-11.
33. Proffit WR, Mason RM. Myofunctional therapy for tongue thrusting: background and recommendations. *J Am Dent Assoc* 1975;90:403-11.
34. Angle EA. *Treatment of malocclusion of the teeth*. 7th ed. SS White Manufacturing Co, Philadelphia, 1907.
35. Picton DCA, Moss JP. The effect of reducing cusp height on the rate of approximal drift of cheek teeth in adult monkeys (*Macaca irus*). *Arch Oral Biol* 1978;23:219-23.
36. Pancherz H. The nature of Class II relapse after Herbst appliance treatment. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1991;10:220-33.
37. Harris EF, Behrents RG. The intrinsic stability of Class I molar relationship: a longitudinal study of untreated cases. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1988;94:63-7.
38. Burzin J, Nanda R. The stability of deep overbite correction in retention and stability. In: Nanda R, Burstone CJ. *Orthodontics*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993:61-79.
39. Southard TE, Behrents RG, Tolley EA. The anterior component of occlusal force. Part 1: Measurement and distribution. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1989;96:493-500.
40. Southard TE, Behrents R, Tolley EA. The anterior component of occlusal force. Part 2: Relationship with dental malalignment. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1990;97:41-4.

41. Roth RH. Functional occlusion for the orthodontist. Part III. *J Clin Orthod* 1981;15:174-98.
42. Beyron HL. Occlusal changes in adult dentition. *J Am Dent Assoc* 1954;48:674-86.
43. Behrents RG. Atlas of growth in the aging craniofacial skeleton. Monograph 18, Craniofacial Growth Series, Center for Human Growth & Development, University of Michigan. Ann Arbor, Mich., 1985.
44. Behrents RG. Growth in the ageing craniofacial skeleton. Monograph 17, Craniofacial Growth Series, Center for Human Growth & Development, University of Michigan. Ann Arbor, Mich., 1985.
45. Behrents RG, Harris EF, Vaden JL, Williams RA, Kemp DH. Relapse of orthodontic treatment results: growth as an etiologic factor. *J Charles H Tweed Int Found* 1989;17:65-80.
46. Wieslander L. Long-term effect of treatment with the headgear-Herbst appliance in the early mixed dentition: stability or relapse? *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1993;104:319-29.
47. Lopez-Gavito G, Wallen TR, Little RM, Joondeph DR. Anterior open bite malocclusion: a longitudinal 10-year post retention evaluation of orthodontically treated patients. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1985;87:175-86.
48. Herold JS. Maxillary expansion: a retrospective study of three methods of expansion and their long-term sequelae. *Br J Orthod* 1989;16:195-200.
49. Sinclair PM, Little RM. Maturation of untreated normal occlusions. *Am J Orthod* 1983;83:114-23.
50. Bjork A, Skieller V. Facial development and tooth eruption. An implant study at the age of puberty. *Am J Orthod* 1972;62:339-83.
51. Schudy GF. Post treatment craniofacial growth: its implications in orthodontic treatment. *Am J Orthod* 1974;65:39-57.
52. Subtelny JD, Sakuda M. Muscle function, oral malformation and growth changes. *Am J Orthod* 1966;52:495-517.
53. Solow B. The dentoalveolar compensatory mechanism: background and clinical implications. *Br J Orthod* 1980;7:145-61.

54. Welch KN. A study of treatment and postretention dimensional changes in mandibular dental arches [MSD Thesis]. Seattle: University of Washington; 1956.
55. Amott RD. A serial study of dental arch measurements on orthodontic subjects: 55 cases at least 4 years post retention [MSD Thesis]. Chicago: Northwestern University Dental School; 1962.
56. Arnold ML. A study of the changes of the mandibular intercanine and intermolar widths during orthodontic treatment and following post retention period of five or more years [MSD Thesis]. Seattle: University of Washington; 1963.
57. Kahl-Nieke B, Fischbach H, Schwarze CW. Post-retention crowding and incisor irregularity: a long-term follow-up evaluation of stability and relapse. *Br J Orthod* 1995;22:249-57.
58. McCauley DR. The cuspid and its function in retention. *Am J Orthod* 1944;30:196-205.
59. Riedel RA. A review of the retention problem. *Angle Orthod* 1960;30:179-94.
60. Mills RJE. The long term results of proclination of lower incisors. *Br Dent J* 1966;120:355-63.
61. Dewey M. Third molars in relation to malocclusion. *Int J Orthod* 1917;3:529-33.
62. Bergstrom K, Jensen R. Responsibility of the third molar for secondary crowding. *Dent Abstr* 1961;6:544.
63. Shenaman JR. Third molar teeth and their effect upon the lower anterior teeth: a survey of forty nine orthodontic cases five years after band removal [MastersThesis]. St. Louis: St. Louis University; 1968.
64. Lindqvist B, Thilander B. Extraction of third molars in cases of anticipated crowding in the lower jaw. *Am J Orthod* 1982;81:130-9.
65. Schwartz CW. Transactions of the Third International Orthodontia Congress. Hertfordshire England: Crosby Lockwood Staples, 1975: 551-62.
66. Broadbent BH. Ontogenic development of occlusion. *Angle Orthod* 1941;11:223-41.

67. Ades A, Joondeph D, Little R, Chapko M. A long-term study of the relationship of third molars to mandibular dental arch changes. *Am J Orthod Dentofac Orthoped* 1990;97:323-35.
68. Richardson ME. Late lower arch crowding in relation to primary crowding. *Angle Orthod* 1982;52:300-12.
69. Richardson ME. The aetiology of lower incisor crowding. *J Irish Dent Assoc* 1980;26-31.
70. Stemm RM. The influence of third molar on the position of the remaining teeth in the mandibular dental arch [Masters Thesis]. Lincoln, Nebraska: University of Nebraska; 1961.
71. Shanley LS. The influence of mandibular third molars on mandibular anterior teeth. *Am J Orthod* 1962;48:786-787.
72. Lundstrom A. Changes in crowding and spacing of the teeth with age. *Dent Pract* 1969;19:218-24.
73. Kaplan R. Mandibular third molars and post retention crowding. *Am J Orthod* 1974;66:411-30.
74. Peck S, Peck H. Crown dimensions and mandibular incisor alignment. *Angle Orthod* 1972;42:148-53.
75. Mills LF. Arch width, arch length and tooth size in young adult males. *Angle Orthod* 1964;34:124-9.
76. Keane A, Engle G. The mandibular dental arch. Part IV. Prediction and prevention of lower anterior relapse. *Angle Orthod* 1979;49:173-80.
77. Smith RJ, Davidson WM, Gipe GP. Incisor shape and incisor crowding; are-evaluation of the Peck and Peck ratio. *Am J Orthod* 1982;82:231-5.
78. Punecky PJ, Sadowsky C, Begole EA. Tooth morphology and lower incisor alignment many years after orthodontic therapy. *Am J Orthod* 1984;86:299-305.
79. Glynn G, Sinclair PM, Alexander RG. Nonextraction orthodontic therapy: post treatment dental and skeletal stability. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1987;92:321-8.
80. Boese LR. Fiberotomy and reproximation without lower retention 9 years in retrospect: Parts I and II. *Angle Orthod* 1980;50:88-97,169-178.

81. Little RM, Wallen T, Riedel R. Stability and relapse of mandibular anterior alignment: first premolar extraction cases treated by traditional edgewise orthodontics. *Am J Orthod* 1981;80:349-65.
82. Shields TE, Little RM, Chapko MK. Stability and relapse of mandibular anterior alignment: a cephalometric appraisal of first premolar extraction cases treated by traditional edgewise orthodontics. *Am J Orthod* 1985;87:27-38.
83. Udhe MD, Sadowsky C, Begole EA. Long term stability of dental relationships after orthodontic treatment. *Angle Orthod* 1983;53:240-52.
84. Simons ME, Joondeph DR. Changes in overbite: a 10 year post retention study. *Am J Orthod* 1973;64:349-67.
85. Hernandez JL. Mandibular bicanine width relative to overbite. *Am J Orthod* 1969;56:455-67.
86. Bishara SE, Chadha JM, Potter RB. Stability of intercanine width, overbite, and overjet correction. *Am J Orthod* 1973;62:588-94.
87. Bresonis WL, Grewe JM. Treatment and post treatment changes in orthodontic cases: overbite and overjet. *Angle Orthod* 1974;44:295-9.
88. Elms TN, Buschang MA, Alexander RG. Long term stability of Class II Division I nonextraction cervical face-bow therapy: 1. model analysis. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1996;109:271-6.
89. Kaplan R. Clinical experiences with circumferential supracrestal fiberotomy. *Am J Orthod* 1966;70:146-52.
90. Strahan J. A preliminary report on the severing of the gingival fibres following rotation of teeth. *Trans Br Soc Study Orthod* 1970;56:91-9.
91. Swanson WD, Riedel RA, and D'Anna JA. Post-retention study: incidence and stability of rotated teeth in humans. *Angle Orthod* 1975;45:198-203.
92. Moyers RE. *Handbook of orthodontics for the student and general practitioner*, 3rd ed. Chicago: Year Book; 1973. p. 442.
93. Riedel RA. In: Graber TM, Swain BF. *Current orthodontic concepts and techniques*. Philadelphia: WB Saunders Co; 1969. p. 875-918.
94. Moss JP. The soft tissue environment of teeth and jaws: an experimental and clinical study: Part 1. *Br J Orthod* 1980;7:127-37.

95. Hawley CA. A removable retainer. *Int J Orthod* 1919;2:201-208.
96. Sheridan JJ, Ledoux W, McMinn R. Essix appliances: minor tooth movement with divots and windows. *J Clin Orthod* 1994;28:659-63.
97. Spary DJ. The split Tru-tain: a simple answer to a common problem. *Br J Orthod* 1995;22:195-7.
98. Beam DR. Bonded orthodontic retainers: A review. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1995;108:207-13.
99. Schwarze J, Bourauel C, Drescher D. Frontzahnbeweglichkeit nach direkter Klebung von Lingualretainern: ein vergleich von In-vitro und In-vivo. Messungen *Fortschr Keiferorthop* 1995;56:25-33.
100. Proffit WR. Retention. Ed: Proffit WR, Fields HW. *Contemporary Orthodontics*. Third Edition, s. 597-614, Mosby Inc., St. Louis, Baltimore, 2000.
101. Oppenheim A. The crisis in orthodontics. I. Tissue changes during retention. Skogborg's septotomy. *Int J Orthod Dent Child* 1934;20:640.
102. Bresolin D, Shapiro PA, Shapiro GG, Chapko MM, Dassel S. Mouth breathing in allergic children: Its relationship to dentofacial development. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1983;83:334-340.
103. Sheridan JJ, Gaylord RE, Hamula W, Hickham JH, Kokich VG, Tuverson DL. JCO Roundtable. Finishing and retention. *J Clin Orthod* 1992;26:551-568.
104. Sheridan JJ. The editor's corner. The three keys of retention. *J Clin Orthod* 1991;25:717-718.
105. Houston WJB, Isaacson KG. *Orthodontic treatment with removable appliances*. 2nd ed. Bristol: John Wright & Sons Ltd., 1980:123.
106. Houston WJB, Stephens CD, Tulley WJ. Stability and retention. In: *A textbook of orthodontics*, 2nd ed. Oxford: Wright, 1992:346-56.
107. Haines WF, Williams DW. Consent and orthodontic treatment. *Br J Orthod* 1995;22:101-5.
108. Nanda RS, Nanda SK. Considerations of dentofacial growth in long term retention and stability: is active retention needed? *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1992;101:297-302.

109. Gottlieb EL, Nelson AH, Vogels DS. JCO study of orthodontic diagnosis and treatment procedures. Part 1: results and trends. *J Clin Orthod* 1996;30:615-29.
110. Samuels RHA, Pender N, Last KS. The effects of orthodontic tooth movement on the glycosaminoglycan components of gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1993;20:371-7.
111. Pender N, Samuels RHA, Last KS. The monitoring of orthodontic tooth movement over a 2-year period by analysis of gingival crevicular fluid. *Eur J Orthod* 1994;16:511-20.
112. Tenshin S, Tuchiashi M, Sou K, Lew H-S, Hayashi H, Tanimura I, Kawata T. Remodelling mechanisms of transseptal fibres during and after tooth movement. *Angle Orthod* 1995;65:141-50.
113. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera Gracia MA, del Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:47-51.
114. Datta HK, Ng WF, Walker JA, Tuck SP, Varanasi SS. The cell biology of bone metabolism. *J Clin Pathol* 2008;61:577-587.
115. Roberts WE, Hartsfield JK Jr. Bone development and function: genetic and environmental mechanisms. *Seminars in Orthodontics* 2004; 10:100-122.
116. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone Remodeling. *Ann NY Acad Sci* 2006;1092:385–396.
117. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996:985-1002.
118. Young MF. Bone matrix proteins: more than markers. *Calcif Tissue Int* 2003;72:2-4.
119. Ganong WF. *Review of Medical Physiology*. Tercüme: Türk Fizyolojik Bilimler Derneği Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Barış Kitabevi, 1996;471-487.
120. Sommerfeldt DW, Rubin CT. Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. *Eur Spine J* 2001;10 Suppl 2:S86-95.

121. Friedenstein AJ. Precursor cells of mechanocytes. *Int Rev Cytol* 1976;47:327-55.
122. Canfield AE, Doherty MJ, Ashton BA. Osteogenic potential of vascular pericytes. En: Davies JE ed. *Bone Engineering*. Toronto: Davies JE ed.; 2000. p. 143-51.
123. Rizzoli R, Poser J, Bürgi U. Nuclear thyroid hormone receptors incultured bone cells. *Metabolism* 1986;35:71–74.
124. Barnard R, Ng KW, Martin TJ, Waters MJ. Growth hormone (GH) receptors in clonal osteoblast-like cells mediate a mitogenic response to GH. *Endocrinology* 1991;128:1459–1464.
125. Levy JR, Murray E, Manolagas S, Olefsky JM. Demonstration of insulin receptors and modulation of alkaline phosphatase activity by insulin in rat osteoblastic cells. *Endocrinology* 1986;119:1786–1792.
126. Wei LL, Leach MW, Miner RS, Demers LM. Evidence for progesterone receptors in human osteoblast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;195:525-532.
127. Clément-Lacroix P, Ormandy C, Lepescheux L, Ammann P, Damotte D, Goffin V, Bouchard B, Amling M, Gaillard-Kelly M, Binart N, Baron R, Kelly PA. Osteoblasts are a new target for prolactin: analysis of bone formation in prolactin receptor knockout mice. *Endocrinology* 1999;140:96-105.
128. Aubin JE, Liu F. The osteoblast lineage. En: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, eds. *Principles of Bone Biology*. San Diego, California: Academic Press; 1996. p. 51-67.
129. Mikuni-Takagaki Y. Mechanical responses and signal transduction pathways in stretched osteocytes. *J Bone Miner Metab* 1999;17:57–60.
130. Han Y, Cowin SC, Schaffler MB, Weinbaum S. Mechanotransduction and strain amplification in osteocyte cell processes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:16689–94.
131. Kamioka H, Honjo T, Takano-Yamamoto T. A three-dimensional distribution of osteocyte processes revealed by the combination of confocal laser scanning microscopy and differential interference contrast microscopy. *Bone* 2001;28:145–9.

132. Zhao S, Zhang YK, Harris S, Ahuja SS, Bonewald LF. MLO-Y4 osteocyte-like cells support osteoclast formation and activation. *J Bone Miner Res* 2002;17:2068–79.
133. Bonewald LF. Osteocytes as Dynamic Multifunctional Cells. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1116:281–290.
134. Duncan RL, Turner CH. Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. *Calcif Tissue Int* 1995;57:344–58.
135. Pavalko FM, Norvell SM, Burr DB, Turner CH, Duncan RL, Bidwell JP. A model for mechanotransduction in bone cells: the load-bearing mechanosomes. *J Cell Biochem* 2003;88:104–12.
136. Tarbell JM, Weinbaum S, Kamm RD. Cellular fluid mechanics and mechanotransduction. *Ann Biomed Eng* 33:1719–23.
137. Lanyon LE. Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodelling. *Calcif Tissue Int* 1993;53(Suppl 1):102–106.
138. Roodman GD. Advances in bone biology: the osteoclast. *Endocr Rev* 1996;17:308-332.
139. Vaes G. Cellular biology and biochemical mechanism of bone resorption. A review of recent developments on the formation, activation, and mode of action of osteoclasts. *Clin Orthod Relat Res* 1988;231:239-271.
140. Matsuo K, Irie N. Osteoclast–osteoblast communication. *Arch Biochem Biophys* 2008;473:201–209.
141. Warshawsky H, Goltzman D, Rouleau MF, Bergeron JJ. Direct in vivo demonstration by radioautography of specific binding sites for calcitonin in skeletal and adrenal tissues of the rat. *J Cell Biol* 1980;85:682-694.
142. Mizuno Y, Hosoi T, Inoue S, Ikegami A, Kaneki M, Akedo Y, Nakamura T, Ouchi Y, Chang C, Orimo H. Immunocytochemical identification of androgen receptor in mouse osteoclast-like multinucleated cells. *Calcif Tissue Int* 1994;54:325-326.
143. Abu EO, Bord S, Horner A, Chatterjee VK, Compston JE. The expression of thyroid hormone receptors in human bone. *Bone* 1997;21:137-142.
144. Thomas DM, Udagawa N, Hards DK, Quinn JM, Moseley JM, Findlay

DM, Best JD. Insulin receptor expression in primary and cultured osteoclast-like cells. *Bone* 1998;23:181-186.

145. Xu LX, Kukita T, Nakano Y, Yu H, Hotokebuchi T, Kuratani T, Iijima T, Koga T. Osteoclasts in normal and adjuvant arthritis bone tissues express the mRNA for both type I and II interleukin-1 receptors. *Lab Invest* 1996;75:677-687.

146. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S-I, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:3597–3602.

147. Wong BR, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlinick J, Chao M, Kalachikov S, Cayani E, Bartlett FS, Frankel WN, Young Lee S, Choi Y. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-jun N-terminal kinase in T cells. *J Biol Chem* 1997;272:25190–25194.

148. Anderson MA, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, Teepe MC, DuBose RF, Cosman D, Galibert L. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997;390:175–179.

149. Wise GE, King GJ. Mechanisms of Tooth Eruption and Orthodontic Tooth Movement. *J Dent Res* 2008;87(5):414-434.

150. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Goto M, Mochizuki SI, Tsuda E, Morinaga T, Udagawa N, Takahashi N, Suda T, Higashio K. A novel molecular mechanism modulating osteoclast differentiation and function. *Bone* 1999;25:109-113.

151. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ. Osteoprotegerin: A Novel Secreted Protein Involved in the Regulation of Bone Density. *Cell*

1997;89:309–319.

152. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki S-I, Yano K, Fujise N, Sato Y, Goto M, Yamaguchi K, Kuriyama M, Kanno T, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 1998;139:1329-1337.

153. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:E151-7.

154. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU):2. Redefining Wolff's law: the remodeling problem. *Anat Rec* 1990;226:414–422.

155. Tamama K, Fan VH, Griffith LG, Blair HC, Wells A. Epidermal growth factor as a candidate for *in vivo* expansion of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006;24:686–95.

156. Bonyadi M, Waldman SD, Lui D, Aubin JE, Grynblas MD, Stanford WL. Mesenchymal progenitor self-renewal deficiency leads to age-dependent osteoporosis in Sca-1/Ly-6A null mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:5840–5.

157. Parfitt AM. The coupling of bone formation to bone resorption: A critical analysis of the concept and of its relevance to the pathogenesis of osteoporosis. *Metab Bone Dis Relat Res* 1982;4:1-6.

158. Rodan GA, Martin TJ. Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption: a hypothesis. *Calcif Tissue Int* 1981;33:349-351.

159. Tsuda E, Goto M, Mochizuki S-I, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, Higashio K. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;234:137–142.

160. Akatsu T, Murakami T, Ono K, Nishikawa M, Tsuda E, Mochizuki SI, Fujise N, Higashio K, Motoyoshi K, Yamamoto M, Nagata N. Osteoclastogenesis inhibitory factor exhibits hypocalcemic effects in normal

mice and in hypercalcemic nude mice carrying tumors associated with humoral hypercalcemia of malignancy. *Bone* 1998;23(6):495–498.

161. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Laycey DL, Boyle WJ, Riggs BL. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000;15:2–12.

162. Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of the Osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *JAMA* 2004;292:490–495.

163. Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, Heymann D. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15:457–475.

164. Vega D, Maalouf NM, Sakhaee K. The role of receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. *J Clinical Endocrinol Metab* 2007;92:4514-21.

165. Lum L, Wong BR, Josien R, Becherer JD, Erdjument-Bromage H, Schlöndorff J, Tempst P, Choi Y, Blobel CP. Evidence for a role of a tumor necrosis factor- α (TNF- α) converting enzyme-like protease in shedding of TRANCE, a TNF family member involved in osteoclastogenesis and dendritic cell survival. *J Biol Chem* 1999;274:13613–13618.

166. Kong Y-Y, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, Capparelli C, Li J, Elliott R, McCabe S, Wong T, Campagnuolo G, Moran E, Bogoch ER, Van G, Nguyen LT, Ohashi PS, Lacey DL, Fish E, Boyle WJ, Penninger JM. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999;402:304–309.

167. Nagai M, Kyakumato S, Sato N. Cancer cells responsible for humoral hypercalcemia express mRNA encoding a secreted form of ODF/TRANCE that induces osteoclast formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;269:532–536.

168. Kartsogiannis V, Zhou H, Horwood NJ, Thomas RJ, Hards DK, Quinn JMW, Niforas P, Ng KW, Martin TJ, Gillespie MT. Localization of RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) mRNA and protein in skeletal and extra

skeletal tissues. *Bone* 1999;25:525–534.

169. Quinn JMW, Elliott J, Gillespie MT, Martin TJ. A combination of osteoclast differentiation factor and macrophage-colony stimulating factor is sufficient for both human and mouse osteoclast formation in vitro. *Endocrinology* 1998;139:4424–4427.

170. Matsuzaki K, Udagawa N, Takahashi N, Yamaguchi K, Yasuda H, Shima N, Morinaga T, Toyama Y, Yabe Y, Higashio K, Suda T. Osteoclast differentiation factor (ODF) induces osteoclast-like cell formation in human peripheral blood mononuclear cell cultures. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;246:199–204.

171. Jimi E, Akiyama S, Tsurukai T, Okahashi N, Kobayashi K, Udagawa N, Nishihara T, Takahashi N, Suda T. Osteoclast differentiation factor acts as a multifunctional regulator in murine osteoclast differentiation and function. *J Immunol* 1999;163:434–442.

172. Fuller K, Wong B, Fox S, Choi Y, Chambers TJ. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med* 1998;188:997–1001.

173. Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, Ring BD, Van G, Capparelli C, Kelley M, Hsu H, Boyle WJ, Dunstan CR, Hu S, Lacey DL. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* 1999;145:527–538.

174. Lacey DL, Tan H-L, Lu J, Kaufman S, Van G, Qiu W, Rattan A, Scully S, Fletcher F, Juan T, Kelley M, Burgess TL, Boyle WJ, Polverino A. Osteoprotegerin ligand modulates murine osteoclast survival in vitro and in vivo. *Am J Pathol* 2000;157:435–448.

175. O'Brien EA, Williams JHH, Marshall MJ. Osteoprotegerin ligand regulates osteoclast adherence to the bone surface in mouse calvaria. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 274:281–290.

176. Fili S, Karalaki M, Schaller B. Mechanisms of bone metastasis: The role of osteoprotegerin and of the host-tissue microenvironment-related survival factors. *Cancer Lett* 2009;283:10-9.

177. Ulrich-Vinther M, Soeballe K, Andreasen TT. Effects of osteoprotegerin treatment on healing fractures. *Bone* 2005;37:751-8.
178. Kong Y-Y, Yoshida H, Sarosi I, Tan H-L, Timms E, Capparelli C, Morony S, Oliviera Dos Santos AJ, Van G, Itie A, Khoo W, Wakeham A, Dunstan CR, Lacey DL, Mak TW, Boyle WJ, Penninger JM. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymphnode organogenesis. *Nature* 1999;397:315–323.
179. Wong BR, Josien R, Choi Y. TRANCE is a TNF family member that regulates dendritic cell and osteoclast function. *J Leukoc Biol* 1999;65:715–724.
180. Wong BR, Josien R, Lee SY, Sauter B, Li HL, Steinman RM, Choi Y. TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. *J Exp Med* 1997;186:2075–2080.
181. Josien R, Wong BR, Li H-L, Steinman RM, Choi Y. TRANCE, a TNF family member, is differentially expressed on T cell subsets and induces cytokine production in dendritic cells. *J Immunol* 1999;162:2562–2568.
182. Bachmann MF, Wong BR, Josien R, Steinman RM, Oxenius A, Choi Y. TRANCE, a tumor necrosis factor family member critical for CD40 ligand-independent T helper cell activation. *J Exp Med* 1999;189:1025–1031.
183. Josien R, Li HL, Ingulli E, Sarma S, Wong BR, Vologodskaia M, Steinman RM, Choi Y. TRANCE, a tumor necrosis factor family member, enhances the longevity and adjuvant properties of dendritic cells in vivo. *J Exp Med* 2000;191:495–502.
184. Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E, Tan H-L, Elliott G, Kelley MJ, Sarosi I, Wang L, Xia X-Z, Elliott R, Chiu L, Black T, Scully S, Capparelli C, Morony S, Shimamoto G, Bass MB, Boyle WJ. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3540–3545.
185. Nakagawa N, Kinosaki M, Yamaguchi K, Shima N, Yasuda H, Yano K, Morinaga T, Higashio K. RANK is the essential signaling receptor for

osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;253:395–400.

186. Li J, Sarosi I, Yan X-Q, Morony S, Capparelli C, Tan H-L, McCabe SM, Elliott R, Scully S, Van G, Kaufman S, Juan S-C, Sun Y, Tarpley J, Martin L, Christensen K, McCabe J, Kostenuik P, Hsu H, Fletcher F, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:1566–1571.

187. Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, Rohrbach K, Brasel K, De Smedt T, Daro E, Smith J, Tometsko ME, Maliszewski CR, Armstrong A, Shen V, Bain S, Cosman D, Anderson D, Morrissey PJ, Peschon JJ, Schuh J. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev* 1999;13:2412-2424.

188. Ross FR. RANKing the importance of measles virus in Paget's disease. *J Clin Invest* 2000;105:555–558.

189. Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor- β ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med* 2001;79:243–253.

190. Wittrant Y, Théoleyre S, Chipoy C, Padrines M, Blanchard F, Heymann D, Rédini F. RANKL/RANK/OPG: new therapeutic targets in bone tumours and associated osteolysis. *Biochim Biophys Acta* 2004;1704:49-57.

191. Kwan Tat S, Padrines M, Théoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15:49-60.

192. Kostenuik PJ. Osteoprotegerin and RANKL regulate bone resorption, density, geometry and strength. *Curr Opin Pharmacol* 2005;5:618–625.

193. Reddy GK, Nadler E, Jain VK. Denosumab (AMG 162), a Fully Human Monoclonal Antibody Against RANK Ligand Activity research in brief Volume 3, Number 1 October 2005.

194. Tan KB, Harrop J, Reddy M, Young P, Terrett J, Emery J, Moore G, Truneh A. Characterization of a novel TNF-like ligand and recently described TNF ligand and TNF receptor superfamily genes and their constitutive and

inducible expression in hematopoietic and non-hematopoietic cells. *Gene* 1997;204:35–46.

195. Kwon BS, Wang S, Udagawa N, Haridas V, Lee ZH, Kim KK, Oh K-O, Greene J, Li Y, Su J, Gentz R, Aggarwal BB, Ni J. TR1, a new member of the tumor necrosis factor receptor family, induces fibroblast proliferation and inhibits osteoclastogenesis and bone resorption. *FASEB J* 1998;12:845–854.

196. Yun TJ, Chaudhary PM, Shu GL, Frazer JK, Ewings MK, Schwartz SM, Pascual V, Hood LE, Clark EA. OPG/FDCR-1, a TNF receptor family member, is expressed in lymphoid cells and is up-regulated by ligating CD40. *J Immunol* 1998;161:6113–6121.

197. Sattler AM, Schoppet M, Schaefer JR, Hofbauer LC. Novel aspects on RANK ligand and osteoprotegerin in osteoporosis and vascular disease. *Calcif Tissue Int* 2004;74:103–6.

198. Collin-Osdoby P. Regulation of vascular calcification by osteoclast regulatory factors RANKL and osteoprotegerin. *Circ Res* 2004;95:1046–57.

199. Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:549–53.

200. Van Campenhout A, Golledge J. Osteoprotegerin, vascular calcification and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2008;doi:10.1016/j.atherosclerosis.2008.09.033.

201. Bateman TA, Dunstan CR, Lacey DL, Ferguson VL, Ayers RA, Simske SJ. Osteoprotegerin ameliorates sciatic nerve crush induced bone loss. *J Orthop Res* 2001;19(4):518–523.

202. Mochizuki S, Fujise N, Higashio K, Tsuda E. Osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin ameliorates the decrease in both bone mineral density and bone strength in immobilized rats. *J Bone Miner Metab* 2002;20(1):14–20.

203. Ichinose Y, Tanaka H, Inoue M. Osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin reduced bone loss induced by mechanical unloading. *Calcif Tissue Int* 2004;75(4):338–343.

204. Grundt A, Grafe IA, Liegibel U, Sommer U, Nawroth P, Kasperk C. Direct effects of osteoprotegerin on human bone cell metabolism. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;389:550–555.
205. Walsh MC, Choi Y. Biology of the TRANCE axis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003;14:251–63.
206. Yun TJ, Tallquist MD, Aicher A, Rafferty KL, Marshall AJ, Moon JJ, Ewings ME, Mohaupt M, Herring SW, Clark EA. Osteoprotegerin, a crucial regulator of bone metabolism, also regulates B cell development and function. *J Immunol* 2001;166:1482–91.
207. Vidal NOA, Brändström H, Jonsson KB, Ohlsson C. Osteoprotegerin mRNA is expressed in primary human osteoblast-like cells: down-regulation by glucocorticoids. *J Endocrinol* 1998;159:191–195.
208. Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Khosla S. Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology* 1999;140:4382–4389.
209. Hofbauer LC, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Osteoprotegerin production by human osteoblast lineage cells is stimulated by vitamin D, bone morphogenetic protein-2, and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;250:776–781.
210. Horwood NJ, Elliott J, Martin TJ, Gillespie MT. Osteotropic agents regulate the expression of osteoclast differentiation factor and osteoprotegerin in osteoblastic stromal cells. *Endocrinology* 1998;139:4743–4746.
211. Murakami T, Yamamoto M, Yamamoto M, Ono K, Nishikawa M, Nagata N, Motoyoshi K, Akatsu T. Transforming growth factor- β 1 increases mRNA levels of osteoclastogenesis inhibitory factor in osteoblastic/stromal cells and inhibits the survival of murine osteoclast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;252:747–752.
212. Lee SK, Lorenzo JA. Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine

bone marrow cultures: correlation with osteoclast-like cell formation. *Endocrinology* 1999;140:3552-3561.

213. Onyia JE, Miles RR, Yang X, Halladay DL, Hale J, Glasenbrook A, McClure D, Seno G, Churgay L, Chandrasekhar S, Martin TJ. In vivo demonstration that parathyroid hormone 1–38 inhibits the expression of osteoprotegerin in bone with the kinetics of an immediate early gene. *J Bone Miner Res* 2000;15:863–871.

214. Mukohyama H, Ransjo M, Taniguchi H, Ohyama T, Lerner UH. The inhibitory effects of vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide on osteoclast formation are associated with upregulation of osteoprotegerin and downregulation of RANKL and RANK. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;271:158–163.

215. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, Scully S, Tan HL, Xu W, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998;12:1260-1268.

216. Makhlef HA, Mueller SM, Mizuno S, Glowacki J. Age-related decline in osteoprotegerin expression by human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;268:669–672.

217. Wada T, Nakashima T, Hiroshi N, Penninger JM. RANKL-RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends Mol Med* 2006;12:17-25.

218. Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, Arrighi M, Leese PT, Dunstan CR. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2001;16:348–360.

219. Body J, Greipp P, Coleman RE, Facon T, Geurs F, Femand JP, Harousseau JL, Lipton A, Mariette X, Williams CD, Nakanishi A, Holloway D, Martin SW, Dunstan CR, Bekker PJ. A Phase I Study of AMG-007, a Recombinant Osteoprotegerin Construct, in Patients with Multiple Myeloma or Breast Carcinoma Related Bone Metastases. *Cancer* 2003;97(3 Suppl):887–92.

220. Hofbauer LC, Heufelder AE. The role of osteoprotegerin and receptor activator of NF- κ B ligand in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001;44:253–259.
221. Tomoyasu A, Goto M, Fujise N, Mochizuki S, Yasuda H, Morinaga T, Tsuda E, Higashio K. Characterization of monomeric and homodimeric forms of osteoclastogenesis inhibitory factor. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;245:382–387.
222. Morony S, Capparelli C, Lee R, Shimamoto G, Boone T, Lacey DL, Dunstan CR. A chimeric form of osteoprotegerin inhibits hypercalcemia and bone resorption induced by IL-1 β , TNF- α , PTH, PTHrP, and 1:25 (OH) $_2$ D $_3$. *J Bone Miner Res* 1999;14:1478–1485.
223. Yamamoto M, Murakami T, Nishikawa M, Tsuda E, Mochizuki S-I, Higashio K, Akatsu T, Motoyoshi N. Hypocalcemic effect of osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin in the thyroparathyroidectomized rat. *Endocrinology* 1998;139:4012–4015.
224. Capparelli C, Kostenuik PJ, Morony S, Starnes C, Weimann B, Van G, Scully S, Qi M, Lacey DL, Dunstan CR. Osteoprotegerin prevents and reverses hypercalcemia in a murine model of humoral hypercalcemia of malignancy. *Cancer Res* 2000;60:783–787.
225. Honore P, Luger NM, Sabino MAC, Schwei MJ, Rogers SD, Mach DB, O'keefe PF, Ramnaraine ML, Clohisy DR, Mantyh PW. Osteoprotegerin blocks bone cancer-induced skeletal destruction, skeletal pain and pain-related neurochemical reorganization of the spinal cord. *Nat Med* 2000;5:521–528.
226. Bateman TA, Dunstan CR, Ferguson VL, Lacey DL, Ayers RA, Simske SJ. Osteoprotegerin mitigates tail suspension-induced osteopenia. *Bone* 2000;26:443–449.
227. Teng Y-TA, Nguyen H, Gao X, Kong Y-Y, Gorczynski RM, Singh B, Ellen RP, Penninger JM. Functional human T-cell immunity and osteoprotegerin ligand control alveolar bone destruction in periodontal infection. *J Clin Invest* 2000;106:R59–R67.

228. Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y, Mitani H. Periodontal ligament cells under mechanical stress induce osteoclastogenesis by receptor activator of nuclear factor kappa B ligand upregulation via prostaglandin E2 synthesis. *J Bone Miner Res* 2002; 17:210–220.
229. Oshiro T, Shiotani A, Shibasaki Y, Sasaki T. Osteoclast induction in periodontal tissue during experimental movement of incisors in osteoprotegerin-deficient mice. *Anat Rec* 2002;266: 218–225.
230. Dunn MD, Park CH, Kostenuik PJ, Kapila S, Giannobile WV. Local delivery of osteoprotegerin inhibits mechanically mediated bone modeling in orthodontic tooth movement. *Bone* 2007;41:446-455.
231. Van Zutphen LFM. History of animal use. In van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC. Eds. *Principles of laboratory animal use*. Amsterdam: Elsevier, 2001:2.
232. Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. Optimum force magnitude for orthodontic tooth movement: a systematic literature review. *Angle Orthod* 2003;73:86-92.
233. Ren Y, Van Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. The rat as a model for orthodontic tooth movement—a critical review and a proposed solution. *Eur J Orthod* 2004;26:483-490.
234. Reitan K, Kvam E. Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement. *Angle Orthod* 1971;41:1-14.
235. Romanos GE, Bernimoulin JP. Collagen as a basic element of the periodontium: immunohistochemical aspects in the human and animal. 1. Gingiva and alveolar bone. *Paradontologie* 1990;1:363-375.
236. Romanos GE, Schroter-Kermani C, Bernimoulin JP. Collagen as a basic element of the periodontium: immunohistochemical aspects in the human and animal. 2. Cementum and periodontal ligament. *Paradontologie* 1991;2:47-59.
237. Tengku BS, Joseph BK, Harbrow D, Taverne AA, Symons AL. Effect of a static magnetic field on orthodontic tooth movement in the rat. *Eur J Orthod* 2000;22:475-487.
238. Waldo CM, Rothblatt JM. Histologic response to tooth movement in the

laboratory rat procedure and preliminary observations. *J D Res* 1954;33:481-486.

239. Ren Y, Maltha JC, Van't Hof MA, Kuijpers-Jagtman AM. Age effect on orthodontic tooth movement in rats. *J D Res* 2003;82:38-42.

240. Kvam E. Tissue changes incident to movement of rat molars. 1967; Thesis, Universitetsforlaget, Oslo.

241. Rygh P. Hyalinization of the PDL incident to orthodontic tooth movement. *Scand J Dent Res* 1972;352-357.

242. Michaeli Y, Steigman S, Harary D. Recovery of dental and periodontal tissues of the rat incisor following application of continuous intrusive loads. *Am J Orthod* 1985;87:135-43.

243. Steigman S, Michaeli Y, Yitschaky M, Schweizer B. Dynamics of tissue changes found after mechanical loading of the rat incisor. 1: a three-dimensional longitudinal study of the morphologic aspects. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1991;99:533-42.

244. Steigman S, Boym R, Weinreb M, Michaeli Y. Dynamics of tissue changes found after mechanical loading of the rat incisor. II. A three-dimensional longitudinal study of the histopathologic aspects. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1993;104:492-505.

245. King GJ, Latta L, Rutenberg J, Ossi A, Keeling SD. Alveolar bone turnover and tooth movement in male rats after removal of orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1997;111:266-75.

246. Bolon B, Campagnuolo G, Feige U. Duration of bone protection by a single osteoprotegerin injection in rats with adjuvant-induced arthritis. *Cell Mol Life Sci* 2002;59:1569–76.

247. Misawa Y, Kageyama T, Moriyama K, Kurihara S, Yagasaki H, Deguchi T, Ozawa H, Sahara N. Effect of age on alveolar bone turnover adjacent to maxillary molar roots in male rats: a histomorphometric study. *Arch Oral Biol* 2007;52:44–50.

248. Donnelly TM. Basic anatomy, physiology, and husbandry. In Quesenberry KE, Carpenter JW. Eds. *Ferrets, rabbits, and rodents: clinical medicine and surgery*. St Louis: Saunders, 2004;136-145.

249. Hellebrekers LJ, Booij LHDJ, Flecknell PA. Anaesthesia, analgesia and euthanasia. In van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC. Eds. Amsterdam: Elsevier, 2001:2.
250. Verna C, Zaffe D, Siciliani G. Histomorphometric Study of Bone Reactions During Orthodontic Tooth Movement in Rats. *Bone* 1999;24:371–379.
251. Boyce RW, Weisbrode SE. Histogenesis of hyperosteoidosis in 1,25(OH)₂D₃-treated rats fed high levels of dietary calcium. *Bone* 1985; 6:105–112.

ÖZGEÇMİŞ

16 Ekim 1983 senesinde Erzurum'da doğan Sine Erdem, ilköğrenimini Yaman Egeli İlkokulu'nda, orta öğrenimini Bandırma Anadolu Lisesi'nde, lise öğrenimini Bandırma Kültür Eğitim Vakfı Özel Lisesi'nde tamamlamıştır. 2001-2002 döneminde başladığı Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden 2006 senesinde birincilikle mezun olmuştur. Aynı sene Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'nda doktora programına kabul edilmiştir.