

T.C
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OVERLERİ ALINAN TAVŞANLARDA İNTRAVENÖZ
TEK DOZ ZOLEDRONİK ASİT UYGULAMASININ DİŞ
ÇEKİM BÖLGESİNDEKİ KEMİK İYİLEŞMESİNE OLAN
ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ**

ESRA ALTUNSOY

DOKTORA TEZİ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

YRD. DOÇ. DR. PEYAMİ TURGAY HOCAOĞLU

SİVAS-2017

“Overleri Alınan Tavşanlarda İntravenöz Tek Doz Zoledronik Asit Uygulamasının Diş Çekim Bölgesindeki Kemik İyileşmesine Olan Etkisinin Deneysel Olarak İncelenmesi” adlı **Doktora** Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı’nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

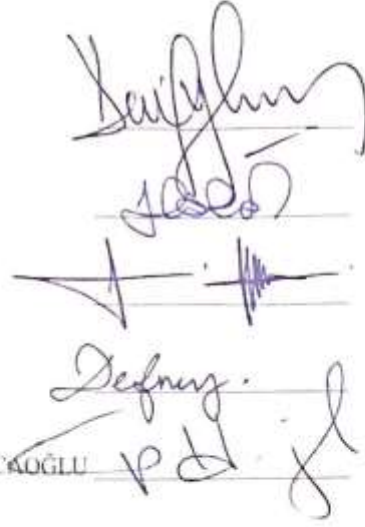
Başkan Prof. Dr. Derviş YILMAZ

Üye Prof. Dr. Hasan YELER

Üye Prof. Dr. İhsan Levent ARAL

Üye Yrd. Doç. Dr. Defne YELER

Üye (Danışman) Yrd. Doç. Dr. Peyami Turgay HOCAOĞLU



ONAY

Bu tez çalışması, tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu proje, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi (CÜBAP) tarafından DİŞ-152 No'lu proje olarak desteklenmiştir. Maddi desteğinden dolayı CÜBAP'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen ve beni yönlendiren danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Peyami Turgay HOCAOĞLU'na, Sayın Prof. Dr. Hasan YELER'e ve tüm bölüm hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde katkıda bulunan Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a teşekkür ederim.

Çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Dt. Dila ÇELİKKOL'a, Dt. Ezgi AYDIN'a, Dt. Tuğçe ÇEVİK'e, Dt. Gül FİKİRLİ'ye, Dt. Oguzhan ELMALI'ya ve katkılarından dolayı tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Deney aşamasındaki yardımlarından dolayı, deney hayvanları laboratuvar sorumlusu Seyfettin ŞENER'e ve katkılarından dolayı veteriner hekim Yücel YALMAN'a teşekkür ederim.

Her konuda sabır gösterip, yardımlarını esirgemeyen ve benim bu günlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

ÖZET

OVERLERİ ALINAN TAVŞANLARDA İNTRAVENÖZ TEK DOZ ZOLEDRONİK ASİT UYGULAMASININ DIŞ ÇEKİM BÖLGESİNDEKİ KEMİK İYİLEŞMESİNE OLAN ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ.

Dt. Esra ALTUNSOY

Doktora Tezi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Peyami Turgay HOCAOĞLU

2017, 87 sayfa

Bifosfonatlar (BP), osteoporoz, Paget hastalığı ve diğer metabolik kemik hastalıkları, multiple miyelom ve metastatik neoplazm ile ilişkili kemik hastalıklarının tedavisinde kullanılan önemli farmakolojik ajanlardır. Ayrıca çeşitli malign tümörlere bağlı olarak gelişen hiperkalsemi, patolojik kırıklar ve omurilik sıkışması gibi hayati tehlikeye sebep olan komplikasyonları azaltmak ve kemik metastazlı kanser hastalarının hayat kalitesini artırmak amacıyla kullanılmaktadırlar.

Bifosfonatlar, kimyasal olarak kemikte hidroksiapatit kristallerine bağlı pirofosfatların biyolojik analoglarıdır. Hücreler ve biyolojik sıvılarda bulunan pirofosfatlardaki P –O- P molekulundeki oksijen atomu yerine karbon atomu geçmesi ile bifosfonatlar oluşurlar. Bifosfonatlar ve pirofosfatlar, benzer kimyasal ve fiziksel etkilere sahiptir, fakat bifosfonatlar enzimatik parçalanma ve metabolik bozulmaya karşı dirençlidir. Bifosfonatlar kemik rezorpsiyonunun güçlü inhibitörleridir ve etkilerini osteoklast aktivitelerini azaltarak ve apoptozlarını artırarak gösterirler.

Zoledronik asit (ZA), bu güne kadar bilinen en güçlü IV bifosfonattır. Zoledronik asit, azot içeren yeni kuşak bir bifosfonat molekülü olup osteoklastik aktiviteyi ve kemik rezorpsiyonunu engeller.

Bu çalışmada, overektomi yapılan tavşanlara diş çekimi uygulanması sonucu çekim bölgesindeki iyileşmeye, tek doz intravenöz *zoledronik asit (ZA)* uygulamasının etkisinin, histopatolojik ve immunohistokimyasal (ELISA) yöntemlerle incelenmesi ve

çekim yarasının iyileşmesine katkıda bulunabilecek yeni ajanların geliştirilmesine yardımcı olmak amaçlanmıştır.

Çalışma 24 adet dişi, yaşları ortalama 6 ay, ağırlıkları ortalama 2,7-3,0 kg aralığında olan Yeni Zelanda cinsi tavşan üzerinde yürütülmüştür. Tavşanlar Kontrol, OVX ve ZOL grubu olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. OVX ve ZOL grubu hayvanlara bilateral overektomi uygulanırken, Kontrol grubuna ise yalancı/sahte cerrahi uygulanmıştır. Sekiz hafta sonra tüm hayvanların sağ alt keser dişleri çekilmiştir. Diş çekimi öncesinde ZOL grubuna 0,1 mg/kg intravenöz *zoledronik asit*, Kontrol ve OVX gruplarına ise serum fizyolojik infüzyonları yapılmıştır. Tüm hayvanlar, diş çekiminden dört hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Deney sonrasında *zoledronik asitin* çekim yarasının iyileşmesine olan etkisi değerlendirilmiştir.

Histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirme sonuçlarına göre; çekim yarasının organizasyonu, BMP2, TNF- α miktarları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Sonuç olarak; overektomi sonrası oluşan osteoporoz modelinde diş çekimi öncesi uygulanan *zoledronik asitin* diş çekimi yarası iyileşme sürecinde olumlu etkilerinin olabileceği serum TNF- α , BMP2 ve VEGF seviyeleri ile ortaya konulmuştur. Ayrıca *Zoledronik asit* uygulamasının diş çekim yarasında ortaya çıkan enflamasyonun şiddetini azalttığı ve ossifikasyonu artırdığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Bifosfonat, Zoledronik asit, Overektomi, Diş çekimi

ABSTRACT

EFFECTS OF A SINGLE INTRAVENOUS DOSE OF ZOLEDRONIC ACID ON BONE HEALING FOLLOWING TOOTH EXTRACTION IN OVARIECTOMIZED RABBITS

Dt. Esra ALTUNSOY

Ph.D. Thesis, Department of Oral and Maxillofacial Surgery

Supervisor: Assistant Prof. Dr. Peyami Turgay HOCAOĞLU

2017, 87 pages

Bisphosphonates (BP), are important pharmacological agents used in the treatment of osteoporosis, Paget's disease and other metabolic bone diseases, multiple myeloma and bone diseases associated with metastatic neoplasm. It is also used to reduce life-threatening complications such as hypercalcemia, pathological fractures and spinal cord compression due to various malign tumors and to improve the quality of life of cancer patients with bone metastases.

Bisphosphonates are biologically analogues of pyrophosphates chemically bound to hydroxyapatite crystals in bone. Instead of the oxygen atom in the P-O- P molecule in the pyrophosphates found in cells and biological fluids, bisphosphonates are formed with a carbon atom bridge. Bisphosphonates and pyrophosphates have similar chemical and physical effects, but the bisphosphonates are resistant to enzymatic degradation and metabolic degradation. Bisphosphonates are potent inhibitors of bone resorption and show their effects by reducing osteoclast activity and increasing apoptosis.

Zoledronic acid (ZA) is the strongest IV bisphosphonate known to date. Zoledronic acid is a new generation of nitrogen containing bisphosphonate molecule that prevents osteoclastic activity and bone resorption.

In this study, it was aimed to investigate the effect of single dose intravenous *zoledronic acid* application by histopathological and immunohistochemical (ELISA) methods and help to develop new agents that could contribute to the tooth extraction wound healing of ovariectomized rabbits.

This study was performed on 24 female, an average of 6 months old and 2,7-3,0 kg New Zeland rabbits. Rabbits were assigned at random into three groups: Control Group, OVX and ZOL. Animals in OVX and ZOL were subjected to bilateral ovariectomy and Control group animals were sham operated. Eight weeks later the right lower incisor teeth of all animals were extracted. Before tooth extraction, 0,1 mg / kg intravenous *Zoledronic Acid* was given to ZOL and saline infusions were given to Control Group and OVX. All animals were sacrificed four weeks after tooth extraction. The effect of *Zoledronic Acid* on wound healing was evaluated after the experiment.

According to histopathologic and biochemical evaluation results; There was a significant difference between the groups in terms of the amount of BMP2, TNF- α , the organization of tooth extraction wounds. As a result; in the model of osteoporosis after overiectomy, zoledronic acid applied before tooth extraction was demonstrated with serum TNF- α , BMP2 and VEGF levels which may have positive effects on wound healing process. It has also been determined that *Zoledronic Acid* reduces the severity of inflammation and increases ossification during tooth extraction.

Key Words: Bisphosphonate, Zoledronic acid, Ovariectomy, Tooth extraction

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
YÖNERGE	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1 GİRİŞ	1
2 GENEL BİLGİLER	3
2.1 Kemik Dokusu.....	3
2.2 Kemik Hücreleri.....	3
2.2.1 Osteoblastlar.....	3
2.2.2 Osteoklastlar.....	4
2.2.3 Osteositler.....	5
2.2.4 Osteoprogenitör Hücreler.....	5
2.3 Kemik Türleri.....	6
2.3.1 Primer Kemik.....	6
2.3.2 Sekonder Kemik.....	6
2.3.2.1 Kansellöz Kemik.....	7
2.3.2.2 Kortikal Kemik.....	7
2.4 Kemik Oluşumu.....	9
2.5 Osteoporoz.....	9
2.5.1 Tanımı ve Tarihçesi.....	9

2.5.2 Epidemiyolojisi.....	10
2.5.3 Osteoporozun Sınıflandırılması.....	11
2.5.4 Tanı.....	12
2.5.4.1 Osteoporoz Tanısında Görüntüleme Yöntemleri.....	12
2.5.4.2 Osteoporoz Tanısında Laboratuvar Testleri.....	12
2.5.5 Tedavisi.....	13
2.6 Bifosfonatlar.....	14
2.6.1 Bifosfonatların Kimyasal Yapısı.....	16
2.6.2 Bifosfonatların Kullanım Alanları.....	17
2.6.3 Bifosfonatların Etki Mekanizması.....	19
2.7 Zoledronik Asit.....	20
2.7.1 Kimyasal Özellikleri.....	20
2.7.2 Etki Mekanizması.....	21
2.8 Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF).....	22
2.9 Bone Morfogenetik Protein (BMP).....	23
2.10 Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α).....	24
2.11 Diş Çekim Yarasının İyileşmesi.....	25
3 MATERYAL ve METOT.....	27
3.1 Çalışma Gruplarının Tanımlanması.....	27
3.2 Birinci Operasyon (Yalancı Overektomi, Overektomi).....	29
3.3 İkinci Operasyon (Diş Çekimi).....	31
3.4 Tavşanların Bakımı ve Deneyin Sonlandırılması.....	34
3.5 Değerlendirme Yöntemleri.....	35
3.5.1 Histopatolojik Yöntem.....	35
3.5.2 ELİSA Ölçümleri.....	37

3.6 İstatistiksel Yöntem.....	39
4 BULGULAR.....	40
4.1 Klinik Bulgular.....	40
4.2 Histopatolojik Bulgular.....	40
4.2.1 Osteoklast Artışının Değerlendirilmesi.....	40
4.2.2 Ossifikasyonun Değerlendirilmesi.....	42
4.2.3 Vaskülarizasyon Artışının Değerlendirilmesi.....	43
4.2.4 Mononükleer Hücre İnfiltrasyonunun Değerlendirilmesi.....	45
4.2.5 Nekrozun Değerlendirilmesi.....	46
4.2.6 Çekim Yarasının Organizasyonunun Değerlendirilmesi.....	47
4.3 ELİSA Bulguları.....	48
4.3.1 Kontrol ve Deneysel Gruplarına Ait BMP2, TNF- α ve VEGF Değerlerinin Karşılaştırılması.....	48
5 TARTIŞMA.....	50
6 SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	59
7 KAYNAKLAR.....	60
EKLER.....	86
EK 1. Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı..	86
ÖZGEÇMİŞ.....	87

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1 Kompakt ve süngerimsi kemiğin şematik olarak mikroskopik Görüntüsü.....	8
Şekil 2.2 Yaygın kullanılan bisfosfonatların kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.3 İnorganik pirofosfat molekülü.....	17
Şekil 2.4 Sentetik pirofosfat analogu olan bifosfonat molekülü.....	17
Şekil 2.5 Zoledronik Asit (Zometa® 4mg Flakon, Novartis).....	20
Şekil 2.6 Zoledronik asitin kimyasal yapısı.....	21
Şekil 3.1 Traş edilen operasyon sahasının betadin ile boyanması.....	29
Şekil 3.2 Laparotomi sonrasında ovaryumun diseksiyonu.....	30
Şekil 3.3 Eksize edilmiş over dokuları.....	30
Şekil 3.4 İşlem sonrası bölgenin primer olarak kapatılması.....	31
Şekil 3.5 Deney aşamasında kullanılan zoledronik asit solüsyonu.....	31
Şekil 3.6 Sağ alt keser dişin bein elavatörü ile lükse edilmesi.....	32
Şekil 3.7 Alt keser davyesi ile dişin çekilmesi.....	32
Şekil 3.8 Sağ alt keser dişin çekim soketi.....	33
Şekil 3.9 Sağ alt keser diş.....	33
Şekil 3.10 Diş çekim bölgesinin sütüre edilerek kapatılması.....	34
Şekil 3.11 Patolojik inceleme için çıkartılmış mandibula.....	35
Şekil 3.12 Doku bloklama cihazı.....	36
Şekil 3.13 Mikrotom cihazı (HESTİON ERM 3100).....	36
Şekil 3.14 Leica DM 2500 ışık mikroskobu.....	37
Şekil 3.15 Santrifüj cihazı (Nüve NF 1200R).....	38
Şekil 3.16 Therma Wellwash.....	38
Şekil 3.17 İnkubatör cihazı (Biosan PST-60 HL-4).....	39
Şekil 3.18 Elisa reader cihazı (Therma Multiskan GO).....	39
Şekil 4.1 Deney 1 grubuna ait histopatolojik görüntü (artmış osteoklastlar).....	40

Şekil 4.2 Deney 2 grubuna ait histopatolojik görüntü (osteoklastlar).....	41
Şekil 4.3 Deney 1 grubuna ait histopatolojik görüntü (ossifikasyon).....	42
Şekil 4.4 Deney 2 grubuna ait histopatolojik görüntü (ossifikasyon).....	42
Şekil 4.5 Deney 2 grubuna ait histopatolojik görüntü (vaskülarizasyon artışı)..	44
Şekil 4.6 Kontrol grubuna ait histopatolojik görüntü (mononükleer hücre infiltrasyonu).....	45



ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
Çizelge 2.1 Osteoporozun medikal tedavisinde kullanılan ilaçlar.....	13
Çizelge 2.2 Primer osteoporoz tedavisinde kullanılan ana ilaçlar.....	14
Çizelge 2.3 Bifosfonatların isimleri, dozları, kullanım şekli ve sıklığı, nitrojen içeriği ve FDA onay tarihi.....	15
Çizelge 3.1 Çalışma gruplarının şematik gösterimi.....	28
Çizelge 3.2 Örnekler, reaktifler ve standartların hazırlanma prosedürü.....	37
Çizelge 4.1 Çalışma gruplarında belirlenen osteoklast artışı skorlarının oranları.....	41
Çizelge 4.2 Çalışma gruplarında belirlenen ossifikasyon skor oranları.....	43
Çizelge 4.3 Çalışma gruplarında belirlenen vaskülarizasyon artışı skoru oranları.....	44
Çizelge 4.4 Çalışma gruplarında belirlenen mononükleer hücre infiltrasyonu artışı skoru oranları.....	46
Çizelge 4.5 Çalışma gruplarında belirlenen nekroz skoru oranları.....	47
Çizelge 4.6 Çalışma gruplarında belirlenen çekim yarasının organizasyonu skoru oranları.....	48
Çizelge 4.7 Gruplara ilişkin BMP2, TNF- α ve VEGF değerlerinin Karşılaştırılması.....	49

KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	Alkalen Fosfataz
ATP	Adenozintrifosfat
BMP	Bone Morfogenetik Protein
BP	Bifosfonat
cAMP	Siklik Adenosine Monofosfat
DEXA	Dual-Enerji X-Ray Absorpsiyometre
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
FPPS:	Farnesilpirofosfat Sintaz
FPS	Farnesilpirofosfat Sintaz
GTP	Guanozintrifosfat
IGF	Insulin Growth Factor
IV	İntravenöz
KMİ	Kemik Mineral İçeriği
KMY	Kemik Mineral Yoğunluğu
OP	Osteoporoz
PAS	Plasminogen aktivatör Stain
PLGF	Plasental Büyüme Faktörü
RNA	Ribo-Nükleik-Asit
SS	Standart Sapma
TNF	Tümör Nekroz Faktör
TGF	Transforming Growth Factor
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
VPV	Vasküler Permeabilite Faktörü
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ZA	Zoledronik Asit

1 GİRİŞ

Osteoporoz kişinin yaşam kalitesini etkileyen, kronik ve sistemik bir iskelet sistemi hastalığıdır. Genel olarak trabeküler ve kortikal kemikte kütleli kayba sebep olan hastalık günümüz halk sağlığı açısından gün geçtikçe önem kazanan bir sorun haline gelmiştir (Beikler ve Flemmig, 2003). Osteoporozu tedavi etmeye yönelik birçok farmakolojik ajan kullanılır. Bunların arasında paratiroid hormon, selektif östrojen reseptör modülatörleri, bifosfonatlar, stronsiyum ranelat, kalsitonin, kalsiyum ve aktif D vitamini, hormon replasman tedavisi sayılabilir. Günümüzde en sık tercih edilen ilaç grubu bifosfonatlardır (Keen, 2007). Bifosfonat ilaç grubunun uzun dönemde kemik mineral yoğunluğunu belirgin derecede artırdığı çalışmalarda rapor edilmiştir (Owens ve ark., 2007).

Bifosfonatlar, inorganik pirofosfatların kemiğe tutunan ve osteoklastik fonksiyonu önleyen, metabolize edilmeyen analoglarıdır. (Ruggiero ve ark., 2004; 2006; Gasser ve ark., 2006). Fosfor-karbon-fosfor yapısına sahip olan bifosfonatlar ilk olarak 1800' lü yıllarda üretilmişlerdir ancak bifosfonatların tıpta kullanıma girmeleri 1960' larda olmuştur (Dolgitser M ve ark., 2007).

Bifosfonatlar kullanım şekline göre oral ve intravenöz olmak üzere ikiye ayrılırlar. Kimyasal yapılarına göre ise bifosfonatlar nitrojen içermeyenler (alkilbifosfonatlar) ve nitrojen içerenler (aminobifosfonatlar) olmak üzere 2 farklı gruba ayrılmaktadırlar. Alkilbifosfonatlar birinci kuşak bifosfonatlar olup etidronat, tiludronat, klodronat, aminobifosfonatlar ise ikinci ve üçüncü kuşak olup; ikinci kuşak bifosfonatlar alendronat, pamidronat ve üçüncü kuşak bifosfonatlar rizedronat, ibandronat ve zolendronat olarak kullanımdadır (Perez-Lopez, 2004).

Bifosfonatlar, osteoklastik aktiviteyi ve osteoklast sayısını azaltarak kemik rezorpsiyonunu önlerler (Fleisch, 1998). Ayrıca onkolojide antianjiojenik ve antineoplastik özelliklerinden faydalanılır (Ruggiero ve ark., 2006). Bifosfonat bileşikleri günümüzde özellikle tümörlerin kemik metastazlarının önlenmesinde başvurulan ilaç grubu haline gelmiştir. Çalışmalar bifosfonatların özellikle osteoporozu ve kanserlerin kemik metastazlarını önlemedeki etkinliğini göstermiştir (Ruggiero ve ark., 2006; Rusell ve Rogers, 1999).

Bifosfonatların etki mekanizmaları ve kemik metabolizmaları karmaşıktır. Kemik yapımının ve yıkımının biyokimyasal ve hücreli metabolik yolunu kapsar (Ott SM, 2005). Bifosfonatların etki mekanizmaları tam olarak açıklanamamasına rağmen kemikteki hidroksiapatit yapının çözünmesini önledikleri, kemik iliği öncü hücrelerinin

osteoklast oluşturma potansiyellerini inhibe ettikleri, osteoklast inhibitörünü stimule edip osteoklast apoptozisini sağladıkları gösterilmiştir. Bifosfonatların lipid afiniteleri düşük olduğundan gastrointestinal sistemden emilim miktarı da düşüktür; bifosfonatlar metabolik değişime uğramadan böbreklerden atılırlar. Bifosfonatlar kemiğe yüksek afinite gösterirler ve kemik, bifosfonatları tutan tek dokudur (Akarslan ve Kahraman, 2008; Fleish, 1998; Woo ve ark., 2006).

Zoledronik asit (ZA) nitrojen içeren bifosfonat türüdür. ZA bifosfonat ilaç ailesinin yeni nesil bir alt grubudur. ZA, oral yolla günlük veya haftalık olarak uygulanan bifosfonatlardan farklı olarak, daha etkili farmakolojik yapısı nedeniyle daha uzun aralıklarla ve parenteral yol ile uygulanmaktadır (Martinez ve ark. 2001). Zoledronik asidin pamidronattan 100 kat, ibandronattan 10 kat daha güçlü etkiye sahip olduğu rapor edilmektedir.

Zoledronik asit, maligniteye bağlı hiperkalsemiden, solid tümörlerin iskeletsel komplikasyonlarını önlemeye kadar geniş kullanım alanına sahip ve günümüzdeki en etkili bifosfonat olarak rapor edilmiştir (Berenson ve Hirschberg, 2004; Coleman, 2004, Amanat ve ark., 2007). Hidroksiapatit rezorbsiyonunu, osteoklastların rezorbsiyon bölgesine migrasyonunu ve tümör hücrelerinin kemik matrikse yayılmasını engellediği ileri sürülmektedir. Zoledronik asidin postmenopozal osteoporozlu kişilerde vertebral, nonvertebral ve kalça kırıklarının engellenmesindeki etkinliği ortaya konulmuştur ve zoledronik asit postmenopozal osteoporoz tedavisinde onay almıştır.

Çeneler bölgesine yapılan cerrahi müdahalelerin büyük bir kısmı sert dokuya, dolayısıyla kemiğe yöneliktir. İyileşme bakımından da kemik iyileşmesi önemlidir; çünkü yumuşak dokular kemiğe göre hızlı iyileşme kapasitesine sahip olduğundan dolayı kemik iyileşmesi kadar sorun teşkil etmezler. Araştırmalar kemik iyileşmesini olumlu yönde etkileyen faktörler üzerine yoğunlaşmıştır.

Çalışmamızda osteoporotik hayvan modeli oluşturmak amacıyla tavşanlarda overektomi işlemi yapılarak östrojen eksikliği oluşturulmuş ve bu yolla postmenopozal osteoporozun taklit edilmesi amaçlanmıştır. Sonrasında tüm deney hayvanlarının sağ alt keser dişleri çekilmiştir. Çalışmamızın amacı, son jenerasyon nitrojen içelikli bifosfonatlardan olan zoledronik asitin, çalışmamızdaki osteoporotik hayvan modelindeki mandibular kemikte yapılan diş çekimi işleminin olumsuz etkilerinin azaltılmasında etkinliğinin biyolojik markerlerle ve histomorfometrik olarak değerlendirilmesidir.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik Dokusu

Kemik, vücudun iskelet yapısını oluşturarak istemli fiziksel aktivitelere direnç ve destek sağlayan, hayati önem taşıyan organları koruyan, kemik iliğini içeren, ekstrasellüler matriksin mineralleşme süreci sonunda kalsiyum ve fosfat tuzlarıyla satüre olduğu bir bağ dokusudur (Soydan 1985 p. 100; Junguiera 1998 pp. 132-151; Doblare ve Garcia, 2003; Kierszenbaum 2006 pp. 118).

Kemik özel bir bağ dokusudur. Burada hücreler arası madde kalsifiye olmuştur (kemik matriksi) (Junguiera ve ark., 1998). Kemiğin temel hücresel elemanlarını osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler, kemik yüzeyini döşeyen hücreler (osteoprojenitor hücreler), kemik iliği hücreleri ve kemiğin büyüme ile gelişimini düzenleyen immün sistem hücreleri oluşturur (Weiss ve Greep 1977 pp. 217-220; Junguiera 1998 pp.132-151; Kierszenbaum 2006 pp. 126-128). Osteoblastlar ve osteositler, osteoprojenitör hücreler olarak tanımlanan mezenşimal tip hücrelerden köken almaktadır. Osteoklastlar ise, makrofaj-monosit hücre gruplarından köken almaktadır (Rhee ve ark. 2004 pp. 95-136).

2.2 Kemik Hücreleri

2.2.1 Osteoblastlar

Osteoblastlar, embriyonel yaşamda mezenkim hücrelerinden, daha sonraları ise bağ dokusunu oluşturan fibroblastlardan farklılaşırlar. Organik matriksin sentezi ve mineralizasyonu gibi kemiğin metabolik işlevlerinden sorumlu hücrelerdir (Kierszenbaum 2006 pp. 126-127). Kübik veya prizmatik şekilli ve bazofilik sitoplazmaya sahiptirler. Bazofilik sitoplazmaları, RNA bakımından zengin ribozomların çok fazla miktarda mevcut olmasından kaynaklanır. Büyüme faktörleri, protein ve kollajen gibi organik bileşenler salgıladıkları için granüler endoplazmik retikulumları ve golgi aparatları oldukça iyi gelişmiştir (Altay, 2006; Junqueira ve Carneiro, 2006; Kierszenbaum, 2006). Kemikleşme bölgelerinde ve gelişimi devam eden kemiklerin periostiumunun kemiğe temas eden derin bölgelerinde diziler halinde bulunurlar (Clara ve Maskar, 1972; Cowin, 2001). Morfolojik görünüşleri sentez durumunda olup olmamalarına bağlıdır. Matriks sentezini yapmaya başladıklarında şekilleri kübikten prizmatığe kadar değişebilmekte olup alkalen fosfataz seviyesi artar ve sitoplazmaları bazofilik hale gelir. Sentez faaliyetleri azaldıkça yassılaşırlar ve alkalen fosfataz aktiviteleri yavaşladıkça, bazofilik özellikleri de azalmaktadır (Junqueira ve ark., 1998).

Osteoblastlar; tip I kollajen, glikoprotein, proteoglikan, osteonektin, osteokalsin gibi proteinleri salgırlar. Ayrıca kemik rejenerasyonunda hayati önemi olan “*Bone Morphogenetic Protein (BMP)*”, “*Transforming Growth Factor (TGF)*”, “*Insulin Growth Factor (IGF)*” gibi büyüme faktörlerini ve sinyal proteinlerini de üreten osteoblastların yüzeyinde çeşitli hormonlar, vitaminler ve reseptörler de bulunur (Cormack, 1993; Bancroft ve Stevens, 1996; Lynch ve ark., 1999; Gartner ve Hiatt, 2001; Fawcett ve Jensch, 2002; Altay, 2006; Özyiğit, 2007).

Osteoblastlar kutuplaşmış hücrelerdir ve sitoplazmalarında fazla miktarda alkalen fosfataz enzimi mevcuttur. İçerdiği bu enzimin sadece matriks yapımıyla ilgili olmadığı, kalsifikasyonla da ilişkili olduğu düşünülmektedir (Junqueira ve ark., 1998; Parker, 1993).

Yeni kemik oluşumu durduğunda, osteoblastların aktiviteleri önce yavaşlar, sonra durur. Hücrelerin fosfataz tepkimesi de hızlı bir şekilde azalır. Sonunda osteosit haline geçerler. Osteoblastların aktif yaşam süresi 1 ile 10 hafta arasındadır (Ten, 1999; Gehron ve ark., 1999).

2.2.2 Osteoklastlar

Kemik rezorbsiyonundan sorumlu hücreler olan osteoklastlar, kemik iliğindeki monosit ya da monosit benzeri hücrelerden kaynaklanan, rezorpsiyon kavimleri veya “*Howship lakünleri*” adı verilen yüzeysel çukurların içine yerleşmiş, çok çekirdekli, asidofilik dev hücrelerdir (Soydan 1985 pp. 103-104; Ross 2006 pp. 213-214). Diğer kemik hücreleriyle kıyaslandığında çok daha büyük, çok çekirdekli (2-100 çekirdek), genel olarak düzensiz şekilli, hareket edebilen hücrelerdir (Junqueira ve Carneiro, 2006; Özyiğit, 2007). Hücrede çok sayıda lizozomla beraber, çok fazla serbest polizom, bir parça granüler endoplazmik retikulum, çok sayıda mitokondri ve iyi gelişmiş golgi kompleksi vardır (Junqueira ve ark., 1998). Osteoklastlar; osteoprojenitör kök hücrelerinden, mononükleer fagosit sistemi hücrelerinden ve dolaşımdaki farklılaşmamış mononükleer hücrelerden (pre-osteoklast) köken alırlar (Özyiğit, 2007). İnterlökin (1, 3, 6 ve 11)’in, Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α) ve *Transforming Growth Faktör- β* (TGF- β)’nin osteoklast oluşumunu düzenleyen faktörler olduğu düşünülmektedir (Bancroft, 1996; Cormack, 1993; Gartner, 2001; Lynch, 1999).

Kemiğin yeniden biçimlenme sürecinde çözünüp çevre dokularca emilmesinden sorumlu çok çekirdekli hücrelerdir. Osteoklastlar, kalsiyumun kemik dokusundan kana salınmasında aktif rol oynayarak, vücut sıvılarında kalsiyum konsantrasyonunun homeostatik düzenlenmesinde çok önemli rol oynarlar (Ten, 1999; Junqueira ve ark., 1998; Cowin, 2001). Osteoklastlar kemik matriksine hücum eden asit, kollajenaz ve diğer

proteolitik enzimleri salgırlar. Böylece kalsifiye olmuş temel maddeyi serbestleştirirler ve kemik rezorpsiyonu sonrasında açığa çıkan artık maddelerin de ortadan kaldırılmasında aktif olarak rol oynarlar (Junqueira ve ark., 1998). Osteoklastlar osteoblastlarla beraber mekanik streslere bağılı olarak kemiğin şekillenmesi ve plastik etkinliğini en iyi şekilde yapabilmesi için olanak sağırlar (Soydan, 1992).

Osteoklastların etkinlikleri; bifosfonatların, kalsitonin ve östrojen hormonlarının etkileriyle düşerken tiroksin, paratiroid hormonlar ve D vitamini ile artar (Yang ve ark., 1996; Wozney, 1998).

2.2.3 Osteositler

Kemik matriksi içinde hapsolan osteoblastlara osteosit denir. Dolayısıyla osteositler, gelişimini tamamamış kemikteki esas hücrelerdir (Parsons, 1982; Junqueira ve ark., 1998). Matriks lamelleri arasında yer alan lakunalarda bulunurlar. Her bir lakunada yalnızca bir osteosit vardır. Osteositler osteoblastlarla kıyaslandığında, yassı elips şeklindedirler. Endoplazmik retikulumları ve golgi kompleksleri dikkat çekecek şekilde küçülmüştür. Nükleer kromatinleri daha yoğundur (Gupta ve Maitra, 2002; Junqueira ve ark., 1998). Osteositler farklılaşma esnasında, damar yapıyla ve komşu hücrelerle iletişim halinde olabilmek için çevreye sitoplazmik uzantılar yollarlar. Bu uzantılar sayesinde kemik sıvısı en derinde bulunan osteositlere kadar uzanmış olur ve böylece gerekli metabolitlerin ve iyonların transfer edilebilmesi sağılanır (Mundy ve Martin, 1993; Garant, 2003; Fonseca ve ark., 2005; Junqueira ve Carneiro, 2006). Osteositler, kemiğin diğere hücre tiplerine dönüşebilme özelliğine sahiptirler. Öyleki, kemik yıkımı esnasında içinde buldukları lakünlerden dışarı çıkınca hemen dinlenme halindeki osteoprojenitor hücelere, bunlar da osteoblastlara dönüşebilirler (Lindhe ve ark., 2008; Junqueira ve ark., 1998; Marks ve Popoff, 1988).

Osteositlerin işlevine yönelik başlıca iki varsayım mevcuttur. Bunlardan birincisi, osteositlerin, osteoblastların olgun şekilleri olduğı ve canlı kaldıkları süre boyunca buldukları matriksin devamlılığını korudukları yönündedir. Osteositlerin kemik içindeki işlevleriyle ilişkili ikinci varsayım ise, osteoliz yaparak kan kalsiyum düzeyini dengelediğidir (Soydan, 1992).

2.2.4 Osteoprojenitör Hüceler

Osteoprojenitör hüceler mezenkim kaynaklı hücelerin bir alt grubudur (Weiss ve Greep 1977 pp. 217-220). Osteoprojenitör hüceler iğ şeklinde ve oval çekirdekli dirler. Bu hüceler kemik yüzeyi yakınlarında, periosteumun iç yüzeyinde, endosteumda ve kompakt kemiğin vasküler kanallarında bulunurlar (Erdoğan ve ark., 1999).

Osteoprojenitör hücreler şekilleri itibariyle fibroblastlara benzerler, soluk boyanan bir sitoplazmaya ve yine soluk boyanan tek bir çekirdeğe sahiptirler. Kemikte büyümenin yoğun olduğu dönemlerde daha aktiftirler (Duthie, 1989; Fawcett, 2002; Gartner, 2001). Erişkinlerde yukarıda söz edilen bölgelerde inaktif dururken; kemikte yaralanma ve kırıkların iyileşme bölgelerinde ve kemiğin içten yeniden düzenlenmesi sırasında aktive edilerek mitozla bölünüp çoğalırlar. Çoğalan bu hücrelerin bir kısmı kemiği oluşturan osteoblastlara farklılaşırlar. Osteogenez durduğunda osteoblastlar da osteoprojenitör hücrelere farklılaşabilirler (Lindhe ve ark., 2008; Junqueira ve ark., 1998; Marks ve Popoff, 1988). Bu hücreler henüz spesifik bir doku hücresine farklılaşmamış bir gruptur ve hayatları boyunca çoğalabilme özelliğine sahiptirler. Farklılaşmamış kök hücre klonları oluşturdukları gibi, geçiş hücrelerine dönüşüp gelişerek; kemik, kırıkta, ligament, tendon ve yağ gibi bağ dokusu hücreleri de oluşturabilirler (Soydan, 1992; Tomlin ve ark., 2002).

2.3 Kemik Türleri

Mikroskopik olarak yapılan incelemeler sonucunda iki farklı kemik bulunduğu ortaya çıkmıştır: Primer (birincil olgunlaşmamış veya örgü kemik) ve sekonder (ikincil, yetişkin, olgun veya lamelli kemik) olmak üzere iki kısımda incelenir (Junqueira ve ark., 1998; Ballı, 2004). İki kemik doku çeşidi aynı yapı taşlarından oluşur; ancak liflerinin farklı konumu nedeniyle farklı histolojik özellik göstermektedirler (Junqueira ve ark. 1998; Soydan, 1992).

2.3.1 Primer Kemik

Primer kemik, embriyolojik gelişim sürecinde, kırık ve diğer nedenler sebebiyle onarım işlemlerinde ilk ortaya çıkan kemiktir (Aslan, 2002). Geçici bir kemik yapısı olup yetişkinlerde, kafatasındaki yassı kemik eklemlerinde, diş alveollerinde ve tendonların kemiğe tutunduğu bölgeler gibi birkaç yer dışında yerini 3 yaşından sonra lameller kemiğe bırakır (Junqueira ve ark., 1998). Kan damarlarının yakınındaki osteoprojenitör hücreler tarafından üretilir (Junqueira ve Carneiro, 2006). Primer kemik oldukça az mineral içerir dolayısıyla mekanik direnci azdır ve lameller kemiğe oranla kısa ömürlüdür. Primer kemik lamel içermez fakat sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir (Junqueira ve ark., 1998).

2.3.2 Sekonder Kemik

Sekonder kemik (ikincil kemik), genellikle yetişkinlerde bulunan kemik dokusudur. Sekonder kemik iki farklı yapıda görülür. Bunlardan biri hemen hemen homojen olup mikroskop büyütmelerinde ancak bazı enine ve boyuna kanal kesitleri gösteren sıkı

kompakt kemik dokusu, diğeri ise birbiriyle anastomozlaşarak üç boyutlu bir ağ yapan kemik trabeküllerinden oluşmuş olan süngerimsi ya da kansellöz kemik dokusudur (Amsellem ve ark., 1987; Leeson ve Leeson, 1981).

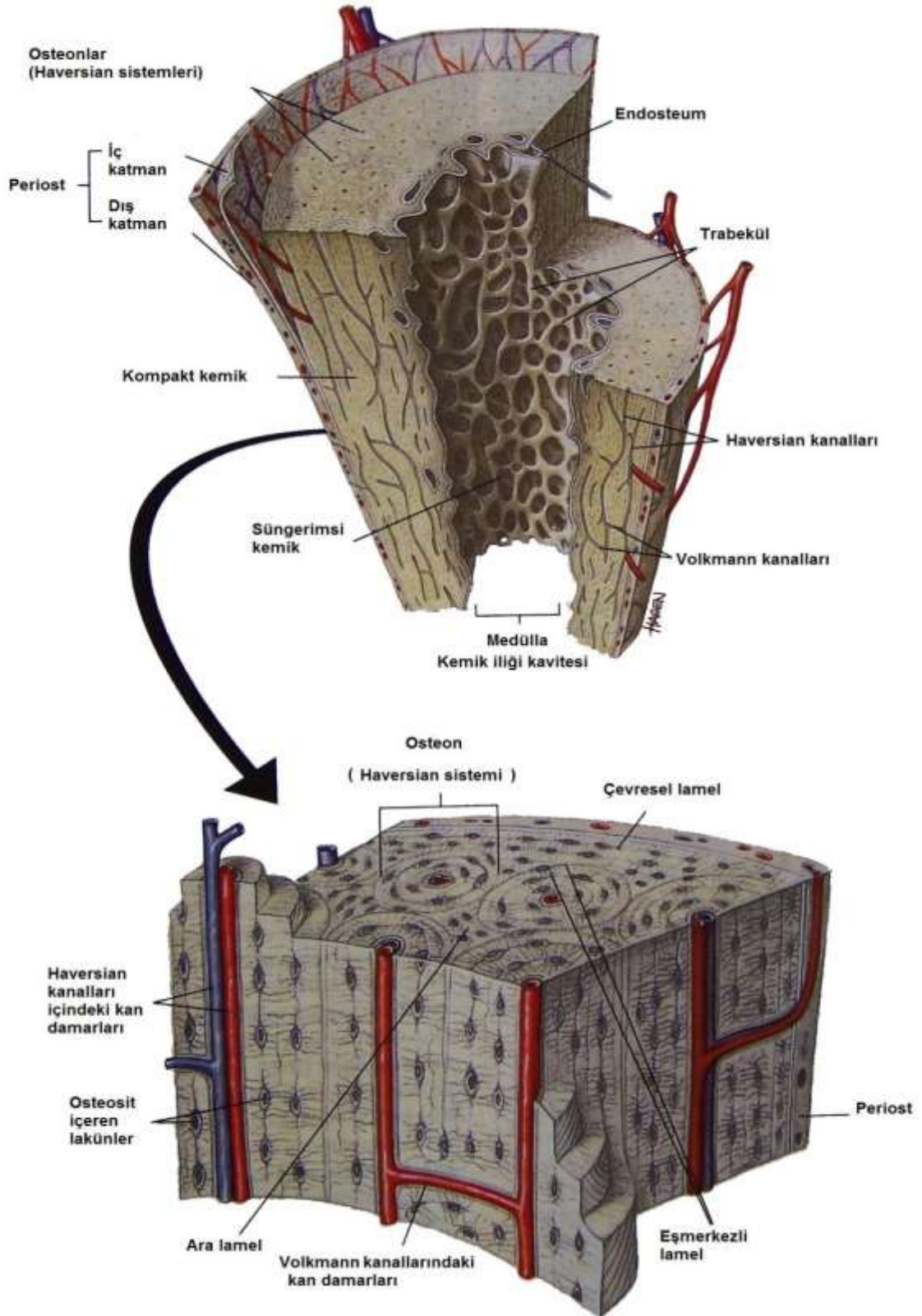
2.3.2.1 Kansellöz Kemik

Kansellöz kemiğe süngerimsi ya da sponjiyöz kemik de denilmektedir. Kansellöz kemik vücut kemiklerinin hacimsel olarak % 20'sini teşkil eder (Jee ve Cowin, 2001; Sikavitsas ve ark., 2001). Sponjiöz kemik yassı kemiklerin kortikal tabakaları arasında ve kısa ve uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımlarında bulunur (Junqueira ve ark., 1998) Sponjiöz kemikte Havers sistemi bulunmaz. Trabeküller ince, düzensiz kemik lamelleri ve bunların içerisinde osteositleri bulunduran lakünalardan oluşmuştur (Kocaelli, 2000; The Orthoteers Orthopedic Education Resource, 10 January 2001; Ballı, 2004; Bölükbaşı, 2004; Junqueira ve Carneiro, 2006). Trabeküllerin içinde kan damarları ve kemik iliği bulunur ve kemik iliğinde bol bulunan kan damarları ve sitoplazma uzantıları aracılığıyla besin maddelerini alırlar (Junqueira ve ark. 1998).

2.3.2.2 Kortikal Kemik

Kompakt kemik uzun kemiklerin diyafiz ve metafizinin dış yüzeylerini kaplayan solid ve kompakt bir dokudur. Erişkin insan iskeletinin yaklaşık % 80'i kortikal kemikten oluşur (Amsellem ve ark., 1987; Leeson ve Leeson, 1981). Kortikal kemik organları korur, biyofonksiyonel uyarılara direnç gösterir, harekete olanak verir ve iç denge için uygun bir kaynak oluşturur (Martin ve Burr, 1989).

Kortikal kemik dokusu *Haversian* ve *Volkman* adlı iki kanal sistemi içermektedir. Kompakt kemikte lamellar düzen, topoğrafik durumlarına göre Havers lamelleri, interstisyel yani ara lameller, dış esas lameller ve iç esas lameller olarak görülür (Amsellem ve ark., 1987; Leeson ve Leeson, 1981). *Havers* kanalları, yatay ya da oblik seyreden *Volkman* kanalları aracılığı ile kemik iliği boşlukları, periost ve kendi aralarında iletişim kurmaktadır (Altundal ve ark., 2007; Hollinger ve ark., 1999).



Şekil 2.1 Kompakt ve süngerimsi kemiğin şematik olarak mikroskobik görüntüsü (Thibodeau, G.A. and Patton, K.T. (2003). *Anatomy and Physiology, 5 ed., Mosby Inc., China, 190–202p.*).

2.4 Kemik Oluşumu

Kemik yapımı ve yıkımı büyüme, paratiroid, kalsitonin ve cinsiyet hormonlarının kontrolünde uyumlu bir şekilde olmaktadır. Kemikte gelişim ve büyüme embriyonik dönemde başlayıp, genç erişkin döneme kadar devam eder (Junqueira ve Carneiro, 2006; Miller, 1996; Müftüoğlu, 1993; Webb ve Tricker, 2000). Kemiklerin enine büyümesi, genişlemesi yüzeyindeki periost tabakasından oluşan osteoblastlar sayesinde gerçekleşir. Kemiklerin boylarının uzaması ise kıkırdak taslağın yeni kemik dokusuyla düzenli olarak yer değiştirdiği endrokondral kemikleşme sayesinde olur (Soydan, 1992).

Kemikte devamlı olarak yapım ve yıkım meydana gelmektedir. Kemik yapımı, intramembranöz ve endokondral olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir (Leeson ve Leeson 1981 pp. 152-155; Jee 2001 pp. 1-68). İntramembranöz kemikleşme osteoblastların salgıladıkları matrikse doğrudan minerallerin çökmesiyle oluşmaktadır. Endrokondral kemikleşme ise önceden mevcut kıkırdak matriks üzerine minerallerin çökmesiyle oluşur (Hobar, 1992). Her iki yolla da, ortaya çıkan ilk kemik primer ya da olgunlaşmamış kemik dokusudur. Primer kemik geçici bir dokudur ve kısa sürede tam lameller veya ikincil kemikle yer değiştirir (Junqueira ve Carneiro, 2003).

2.5 Osteoporoz

2.5.1 Tanımı ve Tarihçesi

Osteoporoz, düşük kemik kütlesine ve kemik dokusu yapısının bozulmasına bağlı olarak kemik kırılabilirliğiyle ve kemiğin kırığa yatkınlığında artışla kendini gösteren sistemik iskelet hastalığıdır (Sweet ve ark., 2009). Yunanca kemik anlamına gelen "osteon" ve küçük delik anlamına gelen "poros" kelimelerinin birleşiminden türetilmiştir (Jergas ve Glüer, 1997). Geçmişte kırıklara neden olmadıkça teşhis edilmeyen osteoporozun, günümüzde radyoloji teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak tanısı kolaylıkla konabilir ve ilaç teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak tedavi edilebilir bir hastalık olduğu bilinmektedir (Fleisch, 1995).

Osteoporozda, kemikte mekanik bir yetersizlik durumu mevcuttur. Bu mekanik yetersizlikler; kemiğin normal aktiviteler sırasında ağrması, incinmesi ve kırılmasıdır. Osteoporozda mineralizasyon tam olmakla birlikte birim hacme düşen kemik kütlesi azalmıştır (Hahn BH, 1993). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) "normal", "osteopeni", "osteoporoz" olarak kemik durumu kategorilerini beyaz kadınlarda dual-enerji X-ray absorpsiyometre (DEXA) ile omurga, kalça veya ön kolda ölçülen kemik mineral yoğunluğu (KMY) değerlerine göre belirlemiştir (Kanis, 1994). Bu kategoriler şöyle sıralanabilir:

Normal: Genç erişkinlerin ortalama değerlerinden 1 standart sapmadan (SS) daha az KMY veya kemik mineral içeriği (KMİ) olan bireyler.

Osteopeni: Genç erişkinlerin ortalama değerleri 1 SS ile 2,5 SS arasında olanlar. Yani kemik kaybı % 10-25 arasında olan kişiler.

Osteoporoz: Genç erişkinlerin ortalama değerleri 2,5 SS üzerinde olanlar. Yani kemik kaybı % 25'in üzerinde olan kişiler.

Yerleşmiş osteoporoz: KMY veya KMİ'si 2,5 SS üzerinde ve bir veya birkaç kırığı olanlar.

Osteoporozun ilk ve kesin tanımı 1829 yılında histolojik olarak gözenekli kemik anlamına gelen "*porous bone*" başlığı altında Strasbourg'lu patolog Jean Georges Lobstein tarafından yapılmıştır (Rizzoli ve ark., 2001). 1885' de Pommer tarafından tanımlanan osteoporoz, patolojik anlamda birim hacimde kemik kütlelerinin azalmasıdır. 1948 yılında Albright tarafından da "*too little bone in bone*" (kemik içinde çok az kemik) tanımı yapılmıştır (Boyd ve ark., 2006). Goaz ve White'ın tanımına göre ise osteoporoz, histolojik olarak normal olan kemik dokusunun fiziksel yoğunluğundaki azalmadır (Goaz, 1994; Yılmaz ve Yaşar, 2003). Histolojik olarak normal mineral/organik matriks oranında değişim olmaksızın trabeküler kemik kitlesinde azalma ve kortekste incelmeye ile karakterizedir (Seeger, 1997; White, 2002). 1940 ve 1970 yılları arasında osteoporozla ilgili gelişim yavaş olmuştur. Cerrahi menopozdan sonra hormon tedavisi 1976 yılında, postmenopozal ve senil osteoporoz ayırımı ise, ancak 1983'de yapılabilmektedir. Son 15 yıldaki bilimsel gelişim ve konuya eğilim, kemik yoğunluğu ölçüm tekniğindeki gelişmeler, laboratuvar yöntemlerindeki yeni aşamalar ve tedavide yeni ilaçların ortaya çıkması sonucu osteoporozla ilgili gelişim artmıştır (Eryavuz, 2005).

2.5.2 Epidemiyolojisi

Teknolojik gelişmeler, yaşam kalitesini artırarak yaşam süresini uzatırken aynı zamanda az hareketli, sedanter ve kolay bir yaşam biçimi sunmuştur. Yaşam süresinin uzaması ve bu tarz yaşam biçimi çeşitli riskleri ve kronik sağlık sorunlarını da beraberinde getirmektedir (Yılmaz, 1997). Günümüzde osteoporoz önemli bir halk sağlığı sorunu olarak görülmektedir. Osteoporoz, işgücü kaybı, hastane yatağını işgal etme, uzun süreli pahalı ilaçların kullanılması sebebiyle önemlidir (Göksoy, 2000). Osteoporoz insidansı kadınlarda erkeklerden, beyaz ırkta ve Asyalılarda siyahî ırktan daha yüksektir (Wasnich, 1997). Dünyada yaklaşık 200 milyon kişiye osteoporoz tanısı konmuştur (Meryl, 1997). Hastalık yaşlı erişkinlerde, özellikle de menopoz sonrası kadınlarda salgın düzeyine

ulaşmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), osteoporozu kadınlar için ikinci en büyük halk sağlığı sorunu olarak tanımlamıştır. 50 yaş ve üzerindeki kadınların hayat boyu kardiyovasküler hastalık riskinin % 40, osteoporoz riskinin % 40, meme, over ve uterus kanseri riskinin ise ancak % 15 olduğu göz önüne alınırsa hastalığın önemi daha iyi anlaşılmaktadır (Dilşen, 2002). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda 50 yaş üstü beyaz popülasyonda, bayanların % 50, erkeklerin % 20'sinin hayatlarının geri kalan döneminde bir osteoporotik kırığa maruz kalacağı öngörülmektedir (Sambrook ve Cooper, 2006; Department of Health and Human Services, 2004).

2.5.3 Osteoporozun Sınıflandırılması

Osteoporoz için yaş, etyoloji, lokalizasyon, tutulan kemik yapısı ve histolojik görünüm gibi farklı açılardan yaklaşılarak pekçok sınıflama yapılmıştır (Tanaka ve ark., 2001).

Kinnon osteoporozu 3'e ayırmıştır:

1. 65 yaşa kadar olan kadınlarda görülen postmenopozal osteoporoz.
2. 65 yaşından büyük her iki cinste görülen senil osteoporoz.
3. Menopoz, yaşlanma veya herhangi bir başka nedenin ortaya koyulmadığı idiyopatik osteoporoz (Kinnon, 1988).

Tip 1 osteoporoz (postmenopozal osteoporoz) temelde menopoz sonrası dönemde görülen kemik kaybı ile ilişkilendirilmiş olup 65 yaş altı bireylerde görülmektedir. Erken menopozun osteoporoz sürecini hızlandırıp öne aldığı eskiden beri bilinmektedir. Menopoz sonrasındaki osteoporozun patogenezinin sorumlu olduğu düşünülen faktörler arasında en çok östrojen üzerinde durulmuştur (Christiansen ve ark., 1987; Wark, 1991). Kadınlarda menopoz sonrasında over fonksiyonlarının azalmasına bağlı olarak kandaki östrojen seviyesi düşmektedir ve kemikte osteopenik değişiklikler ortaya çıkmaktadır (Arslan, 2004; Erkan, 2000). Östrojen eksikliğine bağlı kemik yıkımında artma ve birbirini izleyecek şekilde paratiroid hormon sekresyonu ve böbrek 25(OH)-1a-hidroksilaz aktivitesinde azalma sonucunda bağırsaktan kalsiyum emiliminin azalması etyopatogeneizde önemlidir (Yılmaz, 1998).

Tip 2 osteoporoz (senil osteoporoz) kadında ve erkekte 70 yaş ve üzerinde ortaya çıkar. Yaşlılıkta serum 25-hidroksikolekalsiferol seviyesi normaldir, fakat hidroksilasyondaki bozulmaya bağlı olarak 1,25-dehidroksikolekalsiferol seviyesi düşer, diyetle alınan ve bağırsaklardan emilen kalsiyum miktarı azalır. Diyet kalsiyumunun azlığı kemikten kalsiyum uzaklaştırılarak yerine konulacağından sonuçta negatif kalsiyum dengesi oluşturacaktır. Bunun sonucunda osteoporoz riski artacaktır. Yaşın ilerlemesi ile kalsitonin seviyelerinin de azalmış bulunması, osteoporoz patogenezinde

sorumlu bir faktör gibi görünmesine yol açmıştır (Menkes, 1994; Gambert ve ark., 1995; Sweet ve ark., 2009). Senil ostoporozda en sık görülen osteoporotik kırık bölgesi kalça kemikleridir (Arslan, 2004). Tip I osteoporozdan farklı olarak kortikal kemikte görülen aşırı yıkımın sekonder hiperparatiroidizmle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Arslan, 2004; Erkan, 2000).

2.5.4 Tanı

Osteoporozun tanısı, tedavisi ve izlenmesi için, kemik metabolizmasının çok yönlü değerlendirilmesi gereklidir. Kemik metabolizması, osteoblastlar aracılığıyla yeni kemik oluşumu ve osteoklastlarla eski kemiklerin yıkımı olmak üzere iki karşıt aktivite ile tanımlanır. Yeniden yapılanma olarak isimlendirilen bu durum, hayat boyunca bir dengede devam eder. Osteoporoz ise, yapım ve yıkım arasındaki dengesizlik, kemik döngüsündeki artış ve kemik kalitesinde bozulma sonucu ortaya çıkar (Bauer ve ark., 1999).

2.5.4.1 Osteoporoz Tanısında Görüntüleme Yöntemleri

Osteoporozda görüntüleme yöntemleri; tanı, kemik kaybının miktarının ve hızının belirlenmesi, tedaviye başlanması, kırık riskinin tayin edilmesi, tedavinin etkinliğinin izlenmesi gibi amaçlar için kullanılabilir. Osteoporoz riskinin tayininde bilgisayarlı tomografi, tek foton absorpsiyometri, çift foton absorpsiyometri, Dual Enerji X-ray Absorpsiyometre (DEXA) ve ultrasonografi yöntemleri kullanılmaktadır. Yaygın olarak DEXA kullanılmaktadır, fakat ultrasonografi son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır (Watson ve ark., 1995).

Direkt kemik grafilerinde ortaya çıkan değişiklikler ancak iskelet kitlesindeki % 30-50 kayıptan sonra ortaya çıktığından osteoporoz seyri açısından geç belirtilerdir (Kayalar ve ark., 2009; White, 2002).

2.5.4.2 Osteoporoz Tanısında Laboratuvar Testleri

Osteoporoz tanısında, tedavisinde ve tedavisinin izlenmesinde biyokimyasal testlerden faydalanılmaktadır. Osteoporoz tanısında biyokimyasal testler; eritrosit sedimantasyon hızı, lökosit ve lökosit formülü, hemoglobin, açlık kan şekeri, total alkalen fosfataz seviyesi, serumda kalsiyum ve fosfor düzeyi, karaciğer fonksiyon testleri, kreatinin, tam idrar tetkiki olup, primer osteoporoz tanısında bu testler genelde normal sınırlardadır. Primer osteoporozun tanısında, tedavi planında ve takibinde kemik döngüsü incelenmelidir (Smith, 2011).

2.5.5 Tedavisi

Osteoporoz önlenabilir ve tedavi edilebilir bir hastalıktır. Hastalık gelişmeden alınacak önlemler ile osteoporoze bağlı mortalite ve morbidite oranı azalacaktır. Osteoporoz tedavisi, patogenetik mekanizmalara dayalıdır. Kemik kaybını ve kemik kaybına bağlı kırıkları önlemek tedavinin önde gelen hedefidir (Kuchuk ve ark., 2009). Osteoporoz tedavisi ilaçsız veya ilaçlı olarak yapılabilir.

Osteoporozda tedavi yaklaşımı öncelikle yaşam tarzı değişikliklerini kapsamaktadır. Bunlar; kalsiyum ve D vitamininin yeteri kadar alındığı bir diyet programı, sigara ve alkol tüketiminden uzak durulması, kas ve iskelet sisteminin dayanıklılığını artıracak egzersiz programlarının yapılması olarak sıralanabilir (Gregg ve ark., 1998; Feskanich ve ark., 2002).

Osteoporoz tedavisi için çok sayıda farmakolojik tedavi seçeneği bulunmaktadır (Çizelge 2.1). Temel amaçlar; kemik kütlelerinin korunması, kaybın yerine konması ve kırıkların önlenmesidir. Tedavide kullanılan ajanlar, kemik rezorpsiyonunu azaltanlar, kemik formasyonunu artıranlar, hem kemik rezorpsiyonunu azaltanlar hem de kemik formasyonunu artıranlar olmak üzere üç temel grupta incelenebilir (Dequeker ve Mundy, 2000).

Çizelge 2.1: Osteoporozun medikal tedavisinde kullanılan ilaçlar

Kemik rezorpsiyonunu azaltanlar
<ul style="list-style-type: none">• Kalsiyum• D vitamini• Östrojen• Kalsitonin• Bifosfonatlar• Selektif Östrojen Reseptör Modülatörü
Kemik formasyonunu artıranlar
<ul style="list-style-type: none">• Floridler• D vitamini metabolitleri• Paratiroid Hormon ve peptidleri• Östrojen/Progesteron/Androjen kombine ilaçlar
Kemik rezorpsiyonunu azaltanlar ve kemik formasyonunu artıranlar
<ul style="list-style-type: none">• Anabolik steroidler• D vitamini türevleri

- Stronsiyum ranelat

Osteoporoz tedavisinde kullanılan ilaçlar, dozları ve kullanım şekli Çizelge 2.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2: Primer Osteoporoz Tedavisinde kullanılan ana ilaçlar (Licata, 2007)

İlaç	Doz	Uygulama Aralığı
Alendronat	10 mg	Her gün
Alendronat	70 mg	Haftada bir
Risedronat	5 mg	Her gün
Risedronat	35 mg	Haftada bir
İbandronat	2,5 mg	Her gün
İbandronat	150 mg	Ayda bir
Raloksifen	60 mg	Her gün
Kalsitonin Nazal Sprey	200 ünite	Her gün
Teriparatid (PTH)	20 µg sc.	Her gün
Pamidronat	30-90 mg iv.	Üç ayda bir
Zolendronik Asit	1-5 mg iv.	Yılda bir
İbandronat	3,0 mg iv.	Üç ayda bir

2.6 Bifosfonatlar

BP’ler osteoporozun, Paget hastalığının ve diğer metabolik kemik hastalıklarının, multiple miyelom ve metastatik neoplazm ile ilişkili kemik hastalıklarının tedavisinde kullanılan önemli farmakolojik ajanlardır (Ott, 2005). Çeşitli malign tümörlere bağlı olarak gelişen hiperkalsemi, patolojik kırıklar ve omurilik sıkışması gibi hayati tehlikeye sebep olan komplikasyonları azaltmak ve kemik metastazlı kanser hastalarının hayat kalitesini artırmak gibi amaçlarla kullanılmaktadırlar (Ergün ve ark., 2008).

BP’ler 1865 yılında Almanya’da, Menshutkin tarafından sentezlenmiştir ve ilk olarak tekstil, yağ, gübreleme gibi endüstriyel alanlarda kullanılmıştır (Menschutkin, 1865; Blomen, 1995). Tıp alanında 1960’lı yıllarda kullanıma girmişlerdir. Etidronat, Paget hastalığının tedavisinde kullanılan ilk bifosfonattır ve 100 yıl kadar önce sentezlenmiştir (Smith ve ark., 1971).

BP’lerin bugün için bilinen etkileri; Ca-P kristallerine bağlanmaları ve minerallerin fazla çözünmesini önleyerek kemik rezorpsiyonunu inhibe etmeleridir. Bu etkiyi:

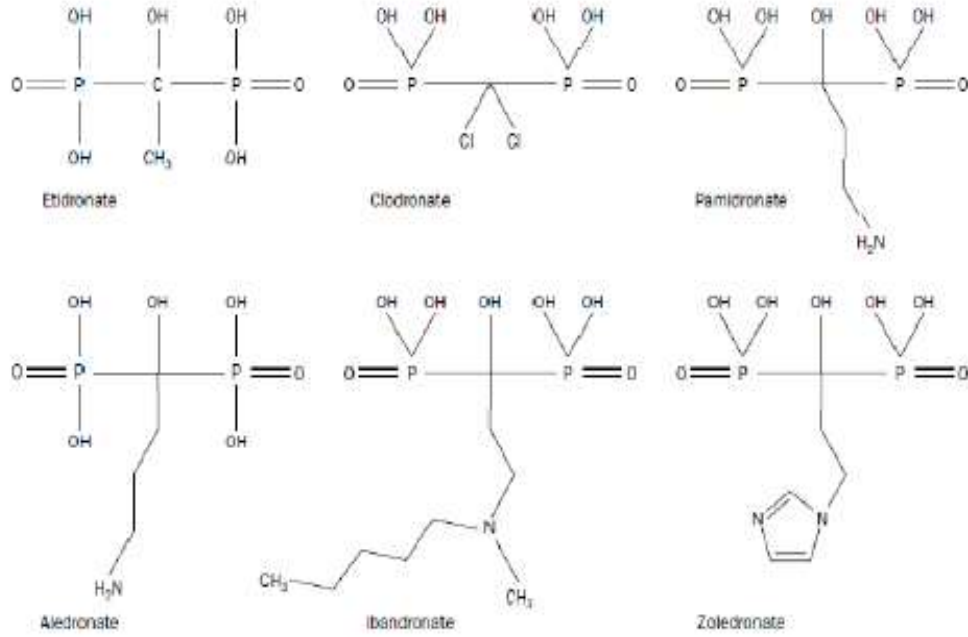
- Osteoklast ana hücrelerinin dağılım ve osteoklast gelişimi yönünde farklılaşmalarını baskılayarak,
- Osteoklastların olgunlaşmasını baskılayarak,
- Osteoklastların fonksiyonunu engelleyerek oluştururlar (Brown ve Josse, 2002; Tonino ve ark., 2000; Meunier ve ark., 1999).

Gastrointestinal sistemde emilimi düşük olan BP'ler oral yoldan kullanıldığında total dozun yalnızca % 1'i emilir. Özellikle aynı anda tüketilen yiyecek ve içecekler ilacın biyoyararlanımını düşürebilmektedir (Owens ve ark., 2007; Tıraş ve Taşkiran, 2005).

BP'ler nitrojen içeriklerine göre alkilbifosfonatlar ve aminobifosfonatlar olarak başlıca iki gruba ayrılırlar. Alkilbifosfonatlar birinci kuşak bifosfonatlar olup etidronat, tiludronat, klodronattan oluşur. Aminobifosfonatlar ise ikinci ve üçüncü kuşak bifosfonattır. İkinci kuşak bifosfonatları alendronat ve pamidronat oluşturmaktadır. Üçüncü kuşak bifosfonatlar ise risedronat, ibandronat ve zoledronat olarak kullanımdadır (Crepin ve ark., 2010). Günümüzde kullanımda olan BP'lerin isimleri, dozları, kullanım şekli ve sıklığı, nitrojen içeriği ve FDA onay tarihi çizelge 2.3'de belirtilmiştir.

JENERİK	DOZ	FORMÜLASYON	KULLANIM	NİTROJEN	FDA ONAYI
Alendronat	10 mg	Oral	Günlük	+	1995
	70 mg	Oral	Haftalık		
Risedronat	5 mg	Oral	Günlük	+	1998
	35 mg	Oral	Haftalık		
Zoledronat	4-5 mg	İV	Aralıklı	+	2001
İbandronat	2.5 mg	Oral	Günlük	+	2003
	150 mg	Oral	Aylık		2005
	3 mg	İV	Aralıklı		2006
Pamidronat	90 mg	İV	Aralıklı	+	1991
Tiludronat	200 mg	Oral	Aralıklı	-	1997
Etidronat	400 mg	Oral	Aralıklı	-	1977

Çizelge 2.3: BP'lerin isimleri, dozları, kullanım şekli ve sıklığı, nitrojen içeriği ve FDA onay tarihi (McLeod NM ve ark., 2007. *Bisphosphonate osteonecrosis of the jaws; an increasing problem for the dental practitioner. Br Dent J*, 203: 641–644).



Şekil 2.2 Yaygın kullanılan bifosfonatların kimyasal yapısı

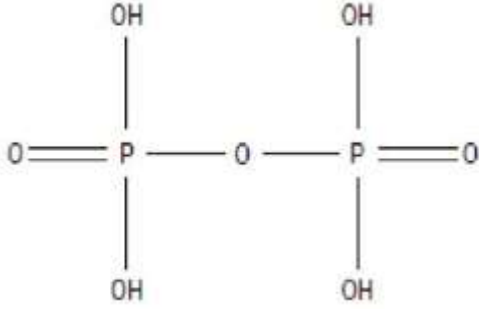
BP'ler antirezorptif özelliklerini osteoklastik aktiviteyi ve osteoklastik prekürsör hücrelerin farklılaşmasını azaltarak ve olgun osteoklastların apoptozisini artırarak gerçekleştirirler (Im ve ark., 2004; Van Beek ve ark., 1999). BP'ler kemik dokusunda hidroksilapatite etkin bir şekilde bağlanırlar ve osteoklastların bifosfonat içeren hidroksilapatit kristallerini fagosite etmesi sonucunda olgun osteoklastlar üzerinde metabolik hasara sebep olurlar (Sahni ve ark., 1993; Kayaalp, 2009).

2.6.1 Bifosfonatların Kimyasal Yapısı

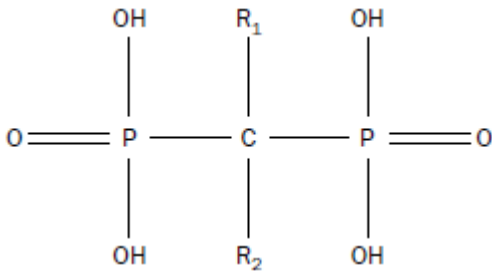
BP'ler doğal pirofosfataz analoglarıdır. Kimyasal yapı iskeleti Fosfat-Karbon-Fosfat (P-C-P) şeklindedir. P-C-P yapısına eklenen R1 ve R2 yan zincirleri BP molekülüne karakteristik özelliklerini kazandırmaktadır (Arslan, 2004). R1 ve R2 yan zincirleri, molekülün merkezindeki karbon atomuna bağlanmıştır. R1 ile birlikte bulunan fosfonat gruplarının, BP'lerin kemiğe tutunmalarından ve biyoaktif R2 yapının ise BP'lerin kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkisinden sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Papapoulos, 2006).

Hücreler ve biyolojik sıvılarda bulunan pirofosfatlardaki (şekil 2.3) P-O-P molekülündeki oksijen atomu yerine karbon atomunun geçmesiyle BP'ler oluşurlar (şekil 2.4). Yaklaşık % 30-65 oranında plazma proteinlerine bağlanırlar veya plazmada ufak kümeler halindedirler. Kalan kısmı ise serbest durumdadır. Absorbe edilen ilacın bir miktarı kemiğe geçerek tutulur, bu kemiğe geçiş oranı *klodranat* için yaklaşık % 20,

etidronat için % 50 iken *alendronat* ve *pamidronat* içinse daha yüksektir (Sahni ve ark., 1993). Bifosfonatlar ve pirofosfatların, benzer kimyasal ve fiziksel etkileri vardır, fakat bifosfonatlar enzimatik parçalanma ve metabolik bozulmaya karşı dirençlidir (Miller, 2008; Reid, 2006; MacLean ve ark., 2008; Bock ve Felsenberg, 2008). BP'ler Ca⁺⁺ gibi 2 değerli katyonların bağlanmasına olanak sağlayan üç boyutlu yapılarıyla kemiğe yüksek afinite göstererek özellikle remodeling görülen kemik yüzeylerini hedef alırlar (*Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 2006).



Şekil 2.3 İnorganik pirofosfat molekülü



Şekil 2.4 Sentetik pirofosfat analogu olan bifosfonat molekülü

Bifosfonatların yapısındaki karbon molekülü hidrolize direnç oluşturup, osteoklastlar tarafından parçalanmalarına engel olur, pirofosfat benzeri inhibisyonla kemik rezorpsiyonu önlenir (Ashcroft ve ark., 2003). BP'lerin omurga yapısındaki iki fosfatın iki fonksiyonu vardır. Birincisi kemik dokusundaki minerallere bağlanmalarıdır ve diğeri ise hücrel yolla gerçekleşen kemik yıkımını engelleyici aktiviteleridir (Luckman ve ark., 1998; Clazardin, 2005).

2.6.2 Bifosfonatların Kullanım Alanları

BP'ler başlıca, kemik metastazlarının önlenmesi ve tedavisinde (Russell ve Rogers, 1999; Hino ve ark., 2005; Dimitrakopoulos ve ark., 2006; Ruggiero ve ark., 2006), orta ve şiddetli malign hastalıklara bağlı artmış kan kalsiyum seviyesinin düzenlenmesinde (Hino ve ark., 2005; Dimitrakopoulos ve ark., 2006; Ruggiero ve ark., 2006), kemik kanserlerinde ağrının azaltılmasında (Sevcik ve ark., 2004; Cheng ve ark., 2005;

Dimitrakopoulos, 2006), multipl miyeloma olgularında (Russell ve Rogers, 1999; Cheng ve ark., 2005; Ruggiero ve ark., 2006), Paget hastalığı ile osteoporoz tedavisinde kullanılmaktadır (Russell ve Rogers, 1999; Cheng ve ark., 2005; Hino ve ark., 2005; Markiewicz ve ark., 2005; Dimitrakopoulos, 2006; Ruggiero ve ark., 2006).

Paget hastalığı, BP'lerin kullanılmasıyla, doza bağımlı olarak kemik rezorpsiyonunun önlenemediği ilk klinik hastalıktır. Paget hastalığının patogenezi kısaca, artmış osteoklast sayısı ve aktivitesi şeklinde açıklanabilir. Tedavisinde ilk olarak etidronat kullanılmış olup, daha sonraları ise endikasyonu sadece Paget hastalığı ile sınırlı olan tiludronat kullanılmaya başlanmıştır. Uzun yıllar boyunca intravenöz olarak pamidronatın da etkin bir şekilde kullanılmasına rağmen, son yıllarda daha uzun etki süreli zoledronat bu bileşik yerine daha çok kullanılmaya başlanmıştır (Daroszewska ve Ralston, 2005). Klinik kullanımda en etkin BP olan zoledronik asitin, metastatik meme kanserinde, multipl miyelomada, maligniteye bağlı hiperkalsemide, Paget hastalığında ve solid tümörlerin kemik metastazlarında etkinliği gösterilmiştir. Zoledronik asitin pamidronata kıyasla, maligniteye bağlı hiperkalsemide ve iskeletsel komplikasyonların azaltılmasında daha etkin olduğu bulunmuştur (Ruggiero ve ark., 2004).

Bifosfonatların, antianjiojenik ve antineoplastik etkileri ile tümör hücrelerinin apoptozisine sebep olduğu, özellikle pamidronat ve zoledronat gibi nitrojen içerikli bifosfonatların ise, tümör hücrelerinin kemik matriksine adezyonunu önlediği in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (Merigo ve ark., 2005; Ruggiero ve ark., 2006).

Günümüzde en sık olarak kullanılan bifosfonat çeşitlerini ve kullanım alanlarını kısaca özetlersek:

Alendronat oral yolla kullanılan ve osteoporoz ile osteopenide en sık tercih edilen azot içerikli bifosfonattır. Yarılanma ömrü 10 yıldan uzundur (Marx, 2009).

Etidronat, kemik yaralanmaları sebebiyle oluşan hipertrofik kalsifikasyonların tedavisinde ve Paget hastalığının tedavisinde oral yolla kullanılan ve azot içermeyen bifosfonat çeşididir. Sınıfında etkinliği en az olan bifosfonattır (Marx, 2009).

Pamidronat, multipl myelomada, metastatik meme ve prostat kanserinde, maligniteye bağlı hiperkalsemide kullanılır (Novartis, 2004). 3-4 haftada bir, 90 mg dozunda infüzyon şeklinde uygulanır.

Risedronat, azot içeren bir bifosfonattır. Alendronattan sonra osteoporozda ve osteopenide en çok tercih edilen ikinci bifosfonat çeşididir. Yarılanma ömrü de alendronata benzer şekilde 10 yıldan uzundur (Marx, 2009).

Ibandronat, azot içeren bir bifosfonat çeşididir ve yarılanma ömrü 10 yıldan uzundur (Marx, 2009). Osteoporoz için alınan diğer ilaçlardan farklı olarak ayda bir kez 150 mg dozunda ya da 2,5 mg'lık günlük dozlar şeklinde kullanılabilir.

Zoledronat günümüzde bilinen en potent bifosfonattır. 3-4 haftada 1 defa, 15 dakikalık infüzyon şeklinde 4 mg olarak uygulanır (Novartis, 2011). Zoledronatın 4 mg dozunun, etidronattan 10.000 kat daha etkili olduğu bildirilmiştir (Marx, 2009). Yarılanma ömrü 10 yıldan fazla, hatta ömür boyudur.

2.6.3 Bifosfonatların Etki Mekanizması

BP'lerin etki mekanizması "osteoklastlara etki ederek kemik rezorpsiyonunun azaltılması" şeklinde açıklanabilir. BP'ler, fizyolojik dozlarda uygulandığında, kemiğe yüksek afinitelerinden dolayı kemik matriksine kolayca bağlanırlar (Cheng ve ark., 2005; Migliorati ve ark., 2005). Kemik metabolizmasına, osteoklastların hem aktivitesini hem de sayısını azaltarak etki etmektedirler (Migliorati ve ark., 2005).

Nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonatların osteoklastlara karşı sergiledikleri etki mekanizmaları farklıdır. Nitrojen içermeyen bifosfonatların, osteoklastların içerisine girerek hidrolize olmayan sitotoksik adenozintrifosfat (ATP) analoglarına metabolize olduğu ve ATP analoglarının ise osteoklastların apoptozuna yol açtığı bildirilmektedir (Green, 2004). Nitrojen içeren bifosfonatların ise hücre içine girerek biyosentetik mevalonat geçiş yolundaki farnesil pirofosfat sintaz (FPS) enzim aktivitesini ve bununla birlikte farnesil pirofosfat ve geranil-geraniol pirofosfat gibi ara ürünlerin oluşmasını inhibe ederek etkili oldukları gösterilmektedir (Luckman ve ark., 1998). Bu ara ürünler guanozintrifosfat (GTP) bağlı Ras, Rho ve Rac gibi hücre proliferasyonu, sağ kalım ve hücre iskeleti organizasyonunda görevli sinyal proteinlerin aktivasyonunu engeller. Ras hücre içi vezikül transportunda görevli bir protein olup engellenmesi durumunda osteoklastik kemik yıkımı sekteye uğrar. Bu mekanizmalar dışında ayrıca FPPS aktivitesinin bozulması azot içermeyen bifosfonatlara benzer şekilde ATP analoglarının oluşmasına ve osteoklast apoptozisine neden olur (Green, 2004).

Doku düzeyinde, tüm aktif bifosfonatların, kemik yapım-yıkımında azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir. Hücresel düzeyde de, bifosfonatların hedef hücrelerinin osteoklast olduğu bilinmektedir (Rodan ve Fleish, 1996). Moleküler düzeyde ise, alkil zincirlerindeki nitrojen atomu, osteoklastlar üzerinde toksik etki oluşturur veya osteoklastlardaki spesifik hücre içi mekanizmalara zarar verir (Van Beek ve ark., 2002).

BP'ler osteoklastik kemik rezorpsiyonunu dört farklı şekilde engellerler:

- Kemik yüzeyinde osteoklast aktivitesini inhibe etmek,

- Osteoklastların kemik yüzeyinde toplanmasını engellemek,
- Osteoklastların yaşam sürelerini kısaltmak,
- Kemik mineralinin çözünüm hızını azaltmak. Bu etkiyi, direkt veya indirekt şekilde oluşturulabilirler (Rodan ve Fleisch, 1996).

2.7 Zoledronik Asit

Zoledronik asit, imidazol halkalı yan zincire sahip, heterosiklik azot içeren üçüncü kuşak bir bifosfonattır. Diğer bifosfonatlardan farkı, halka yapısında ikinci azot atomuna sahip olmasıdır. Diğer bifosfonatlardan farklı etkiye sahip olması, muhtemelen bu yapı sebebiyledir (Widler ve ark., 2002).

2001 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış olup, metastatik hastalıkların ve multipl myeloma, paget hastalığı gibi primer osteolitik kemik patolojilerinin komplikasyonlarının tedavilerinde, malignitelerde ortaya çıkan hiperkalseminin ve osteolitik kemik patolojilerinde ortaya çıkan ağrının tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Bu endikasyonlar dışında postmenopozal osteoporoz tedavisinde kullanımı 2007 yılında FDA tarafından onaylanmıştır (Luckman ve ark., 1998; Marx ve ark., 2005). Onkolojik endikasyonlarda tavsiye edilen doz 4 haftada bir 15 dk'lık intravenöz infüzyon şeklinde 4 mg'dır. Paget hastalığında ve postmenopozal osteoporozda tavsiye edilen ZA dozu ise yılda bir 15 dk'lık infüzyon şeklinde 5 mg'dır (Li ve Davis, 2003).

2.7.1 Kimyasal Özellikleri

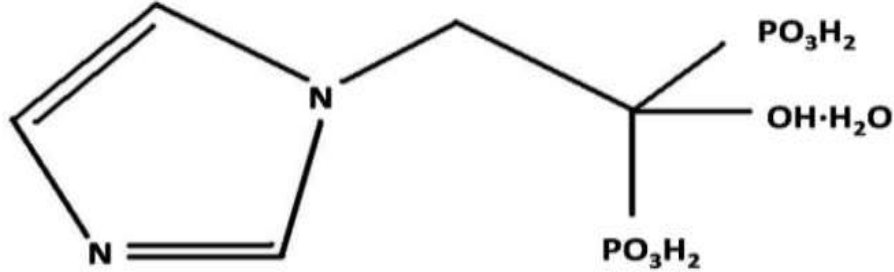
ZA, bu güne kadar bilinen en güçlü IV bifosfonattır (Li ve Davis, 2003; Şekil 2.5). ZA azot içerikli yeni kuşak bir bifosfonat molekülü olup osteoklastik aktiviteyi ve kemik rezorpsiyonunu engeller (Li ve Davis, 2003).



Şekil 2.5 Zoledronik Asit (Zometa® 4 mg Flakon, Novartis).

ZA kimyasal olarak bifosfonik asit monohidrat olarak adlandırılır ve molekül formülü $C_5H_{10}N_2O_7P_2 \cdot H_2O$ 'dur. Yapısal formülü şekil 2.6'da gösterilmiştir. ZA, yapısal olarak fosfor-karbon-fosfor kolu ve R1 pozisyonunda bir hidroksil grubu içermesinden dolayı diğer BP'lere benzerlik gösterir. Bununla beraber R2 pozisyonuna bağlı

heterosiklik imidazol grubu ile diğer bifosfonatlardan farklılık gösterir (Li ve Davis, 2003).



Şekil 2.6 Zoledronik asitin kimyasal yapısı

Molekül ağırlığı 290,1 g/Mol olan ZA'nın bu zamana kadar hazırlanan en potent bifosfonat preparatı olduğu bildirilmektedir (Li ve Davis, 2003). ZA'nın, diğer nitrojen içeren bifosfonatlara göre daha potent olduğu bilinmektedir. Pamidronattan 100 kat, alendronat, klodronat, ibandronat ve risedronattan ise sırasıyla 25, 200, 10 ve 5 kat daha potent olduğu tespit edilmiştir (Green, 2001). ZA'nın, osteoklast oluşumunu ve osteoklast rezorpsiyon aktivitesini engellediği ve bu nedenle kemik turnoverinin bozulduğu savunulmaktadır. Hidroksiapatit rezorpsiyonunu, osteoklastların rezorpsiyon bölgesine migrasyonunu ve tümör hücrelerinin kemik matrikse yayılmasını engellediği de ileri sürülmektedir (Li ve Davis, 2003; Benford ve ark., 2001; Dunford ve ark., 2001). Diğer BP'lere benzer şekilde hidroksiapatite karşı yüksek afinitesi sebebiyle direk olarak mineralize kemiğe bağlanır. Bu şekilde kemik rezorpsiyonu ile ortaya çıkan BP, osteoklastları tekrar etkileyerek inhibisyon yapar (Dunford ve ark., 2001).

2.7.2 Etki Mekanizması

ZA, osteoklast aktivitesine etki ederek kemik rezorpsiyonu inhibe eder. Osteoklastlar üzerindeki etkisini ise; osteoklastların farklılaştığı kök hücrelerin dağılımını ve osteoklast gelişimi yönünde farklılaşmalarını baskılayarak, osteoklastların olgunlaşmasını inhibe ederek ve osteoklastların fonksiyonunu engelleyerek meydana getirir (Nielson ve ark., 1991; Coxon ve ark., 2000; Benford ve ark., 2001). ZA, diğer azot içerikli bifosfonatlara benzer şekilde mevalonat gidiş yolunu bozarak etkisini gösterir. Sonuç olarak osteoklast aktiviteleri bozulur ve apoptozis meydana gelir (Li ve Davis, 2003).

ZA'nın rol aldığı ileri sürülen diğer etki mekanizmaları; osteoklast matürasyonunun inhibisyonu, osteoklastların rezorpsiyon bölgesine göç etmelerinin

önlenmesi (Evans ve Braidman, 1994), sitokin üretiminin azalması, direkt antitümör etkinliği (sitostatik-sitolitik etki) (Aparicio ve ark., 1998), tümör hücrelerinin yayılmasının ve kemik matrikse adezyon yolu ile invazyonunun önlenmesi (Boissier ve ark., 2000) ve tümörlerde anti-anjiyojenik etki (Wood ve ark. 2002) şeklinde sıralanabilir.

2.8 Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF aynı zamanda Vasküler Permeabilite Faktörü (VPF) olarak da isimlendirilmekte olup (Senger, 1983), 1989 yılında bulunmuş ve tanımlanmıştır (Ferrara ve Henzel, 1989). VEGF hemodimerik, heparin bağlayan glukoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları tanımlanmıştır (Neufeld ve ark., 1999; Turgut ve ark., 2007). VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F ve plasental büyüme faktörü (PLGF) olmak üzere VEGF ailesinin 7 üyesi vardır (Roy ve ark., 2006; Sone ve ark., 2001).

VEGF ailesinin en aktif üyesi VEGF-A (*Human VEGF*)'dır. Diğer izoformlardan VEGF-B'nin işlevi henüz bilinmemekte, VEGF-C ve VEGF-D ise asıl olarak lenfanjiyogenezde rol almaktadır (Testa ve ark., 2008). VEGF-E, PLGF ve VEGF-F (svVEGF) (yılan zehri) izoformlarının her biri ayrı genlerce kodlanmıştır ve ailenin diğer üyelerindedir. Bunların arasında VEGF-A, anjiyogenez ve endotel hücrelerinin gelişiminde esas etkili olan faktördür. İnsanda VEGF geni, alternatif bölünme vasıtası ile biyolojik olarak en yüksek aktiviteye sahip olan 165 aminoasitlik VEGF peptid dizisini sentezlemektedir (Ferrara ve ark., 2003).

VEGF'nin, endotelial hücreler, kondrositler (Gerber ve ark., 1999), trombositler, megakaryositler, lenfositler ve plazma hücrelerinden salındığı, hedef hücrelerinin osteoblastlar ve endotelial hücreler olduğu, biyolojik fonksiyonlarının anjiyogenez (Street ve ark., 2002; Maloney ve ark., 1998), neovaskularizasyon, kartilaj ve kemik büyümesi ve tamiri olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Banks ve ark., 1998). Etkisini diğer peptid yapılu büyüme faktörlerine benzer şekilde, hedef hücrelerdeki yüzey reseptörlerine (VEGFR-1 ve VEGFR-2) bağlanarak göstermektedir (Giannobile, 1996). VEGF'nin biyoaktivitesi koreseptörlere ve spesifik reseptörlere bağlanmasıyla oluşur. Bu reseptör ve koreseptörler, lenf ve vasküler endotel hücrelerinde, monosit ve makrofajlarda, epitelyal hücrelerde, hematopoetik kök hücrelerde, düz kas hücrelerinde, myojenik öncül hücrelerde ve fibroblastlarda bulunur (Broughton ve ark., 2007; Hoeben ve ark., 2004).

Bilinen en kuvvetli anjiogenezis uyarıcısıdır. Kendi salınımından sonra FGF gibi diğer büyüme faktörlerinin de salınımını uyarır. Vasküler geçirgenliği artırır, fibroblast

hücrelerinin, enflamatuvar ve endotelial hücrelerin proliferasyon ve göçünün uyarılmasında görevlidir (Currie ve ark., 2001; Zhang ve ark., 2002).

2.9 Bone Morfogenetik Protein (BMP)

Kemik indüksiyonunu sağlayan proteinlerin izolasyonu ilk olarak 1979'da Urist tarafından gerçekleştirilmiş ve bu ürünün kemik morfogenetik aktivitesinin demineralize kemikten daha fazla olduğu görülmüştür. Bu proteinlere Urist tarafından '*Bone Morphogenetic Protein*' veya '*Osteogenic Protein (OP)*' ismi verilmiştir (Wolfe ve ark., 1999; Suzuki ve ark., 2001; Özeç ve Yeler, 2003).

BMP'ler 30 kDa ağırlığındaki homodimerik proteinlerdir (Miyozono, 2000). Erişkin memelilerde BMP, osteoblastlar ve osteositler tarafından üretilmektedir ve primer olarak kemik ve dentinde bulunmaktadır (Wozney ve ark., 1988). BMP'ler, yapısal özellikleri bakımından TGF- β ailesinde yer alan 15'den fazla farklı protein grubudur (Position Paper, 1996; Wozney ve Rosen, 1998). Tavşanlarda yapılan deneysel bir çalışmada, kas içerisine yerleştirilen demineralize kemiğin osifikasyonunda önemli rol üstlendiği fark edilmiş ve bu sayede "*bone morphogenic protein*" adı verilmiştir (Van de Putte ve Urist, 1965; Urist, 1965). BMP'ler embiyolojik gelişmede mezoderm indüksiyonunda görev alırlar (Dale ve Jones, 1999). Böbrek, göz, sinir, beyin, testis, cilt, kalp ve diş gelişiminde önemli fonksiyonlar üstlenirler (Mehler ve ark., 1997; Reddi, 1997). BMP'ler ayrıca osteojenik olmayan yapıların gelişimine katkıda bulunurlar. Nöral indüksiyon ile ektodermal hücrelerin farklılaşmasının belirlenmesinde ilk adımı temsil etmektedirler (Chen ve ark., 2004).

BMP'lerin; kemik ve kıkırdak dokularının, gelişim ve rejenerasyonlarının farklı aşamalarında belirgin etkileri vardır (Park, 2007). Kemik üzerindeki etkileri şu şekilde özetlenebilir:

1- Farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin ve osteoprojenitör hücrelerin çoğalmasını ve osteoblastlara farklılaşmasını sağlarlar.

2- Osteoblast hücrelerinin alkalen fosfataz (ALP) ekspresyonunu artırır.

3- Mezenşimal hücreler için kemoatraktandır ve bu hücrelerin tip 4 kollajene bağlanmalarını artırır (Position paper, 1996).

Günümüzde 15 adet BMP tanımlanmıştır. Aminoasit diziliş benzerliklerine göre alt gruplara ayrılmışlardır. BMP-2 ve 4 birinci alt grubu, BMP-5 ve 8 ikinci bir alt grubu oluşturmaktadır. BMP-4, BMP-5, BMP-6 ve BMP-7 de BMP-2 ye benzer yolla kemik indüksiyonu yapabilmektedir. Bu proteinler arasında BMP-2'nin osteoindüktif özelliği en fazla olan protein olduğu görülmüştür (Yasko, 1992; Wozney, 1995; Kusumoto ve ark.,

1996; Boyne ve ark., 1997; Kusumoto ve ark., 1997; Kubler ve ark., 1998; Ripamonti ve Duneas, 1998; Groeneveld ve Burger, 2000; Seto ve ark., 2001; Özeç ve Yeler, 2003; Özeç ve ark., 2007; Yıldırım ve ark., 2009).

BMP'lerin heterotopik bölgelerde endokondral yol ile kemik formasyonu indüksiyonu yaptığı pekçok hayvan çalışması sonucunda bildirilmiştir (Alpaslan ve ark., 1996; Omura ve ark., 1998; Fujimoro ve ark., 2001). BMP'lerin uygun bir taşıyıcı ile implante edildikleri zaman; undiferansiye mezenkimal hücrelerin kemotaksis ile aktive edilerek migrasyonlarına ve osteoblastlara dönüşmelerine, kemik matriksi depolanmasına, yeni depo edilen kemik matriksinin mineralizasyonuna ve kemik iliği diferansiyasyonuna neden oldukları gösterilmiştir (Ripamonti ve Duneas, 1998; Reddi, 2000).

2.10 Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)

TNF- α enflamatuvar yanıtın oluşmasına yol açan, 26 kDa membran bağlı protein olarak sentezlenen bir sitokindir (Stashenko ve ark., 1997). Carswell ve arkadaşları (Carswell ve ark., 1975) tümör inhibisyonu yapan ve endotoksinlerin uygulanmasından sonra nekroza yol açan maddeyi tanımlamak için tümör nekroz faktör adını kullanmıştır. Aynı yıllarda diğer araştırmacılar tarafından bulunan, parazitik ve diğer enfeksiyonlar sırasında lipoprotein sentezini sağlayan ve glikozu yağ asidine çeviren enzimleri inhibe ederek kaşeksiye neden olan faktör 'kaşektin' ve lenfositlerce üretilen anti-tümör özellikteki lenfotoksin molekülleri bulunmuş, sonradan bu üç molekülün aynı molekül olduğu tespit edilmiştir (Graves ve Cochran, 2003; Rossomando ve ark., 1990). Organizmanın gram negatif bakterilere karşı verdiği cevabın en önemli mediyatörü TNF- α 'dır (Khair ve ark., 1996).

TNF- α çeşitli hücre popülasyonları üzerinde bir grup enflamatuvar ve immün düzenleyici etki gösterir (Erdemir ve ark., 2004). Liposakkarit içeren gram negatif bakteriyel komponentlerin ve diğer enfeksiyöz ajanların stimülasyonundan sonra makrofajlar ve monositlerce salınan pek çok sitokinden biridir. Doğal öldürücü hücreler ve mast hücrelerince de salınabilen TNF'nin esas fizyolojik fonksiyonu, nötrofil ve monositleri enfeksiyon alanına çekerek aktive etmektir. Ayrıca, lökositlerin endotelial hücrelere yapışmasına yardımcı olur ve bunların fagositozunu ve kemotaksisini artırır (Nisengard, 1996). Bütün fibroblastları uyararak kollajenaz üretmelerine sebep olur, osteoklastların aktivasyonunda da rol alır ve bunları kemik rezorpsiyonu için stimüle eder. Diğer sistemik etkileri içerisinde hipotalamus üzerine etki ederek ateş yükselmesine, hepatositler üzerine etki ederek belirli serum proteinlerinin sentezinin artmasına, uzamış

üretimiyle kaşeksi gibi metabolik değişikliklere ve artmış üretimiyle kan basıncında düşüşe yol açmak sayılabilir (Abbas ve ark.,2000)

TNF'nin kaşektin olarak bilinen TNF- α ve lenfotoksin-alfa olarak da bilinen TNF- β olmak üzere iki farklı tipi vardır. Hücre yüzeyi yapısı açısından birbirine benzeyen iki farklı TNF reseptörü vardır: TNF reseptör-1 ve TNF reseptör-2. Bu reseptörler farklı sitoplazmik kısımlara sahiptirler ve bunun sonucu olarak farklı uyarılarla aktif hale gelirler (Rossomando ve ark., 1990). Aralarında yaklaşık % 35 oranında benzerlik vardır ve aynı hücre yüzey reseptörüne bağlanmak için yarışır. 6. kromozom üzerinde yer alan iki ayrı gen tarafından yapılırlar ve bütün hücrelerde olduğu düşünülen iki ayrı reseptöre bağlanırlar (Chung ve Barnes, 1999).

Gram negatif bakterilere ve diğer mikroorganizmalara karşı oluşan akut enflamatuvar cevabın temel mediatörüdür ve şiddetli enfeksiyonlarda meydana gelen sistemik komplikasyonların çoğundan sorumludur. Antitümöral aktivitede, immun modülasyonda, enflamasyonda, *anorexia*'da, septik şokta, viral replikasyonda ve hematopoezde çok önemli rol oynar (Mezyk-Kopec ve ark., 2005).

2.11 Diş Çekim Yarasının İyileşmesi

Diş çekim socketinin iyileşmesi; socket içinde kemik oluşumuna neden olan internal değişiklikler ve alveoler kretin genişliğinde ve uzunluğunda kayıplara sebep olan eksternal değişiklikler şeklinde tanımlanmaktadır (Darby ve ark., 2008; Darby ve ark., 2009).

Diş çekim yarasının iyileşmesindeki aşamalar kısaca:

- Çekim boşluğunun hematoma ile dolması,
- Pıhtının organizasyonu,
- Yara yüzeyinin epitelizasyonu,
- Çekim boşluğunun bağ dokusunda woven/örgü kemiğinin oluşumu,
- Woven kemiğinin trabeküler kemik ile yer değiştirmesi ve alveolün yeniden şekillenmesi olarak sıralanabilir (Özbayrak, 1990; Gustav, 1961; Gönül, 2009; Bilgili ve ark., 2009).

Diş çekiminden hemen sonra alveol kanla dolar, eritrositler küme halinde çöker. Fibrin ağları oluşurken, periodontal membrandaki damarlar büzülür. Çekim işleminden sonraki ilk saatler çok önemlidir. Alveole kan dolması engellenirse yara iyileşmesi gecikir ve kısmen de iyileşme gerçekleşmeyebilir. Alveolün kanla dolması aynı zamanda debrislerin socket içerisinden uzaklaşmasını sağlar (Shafer ve ark., 1966).

1. günde periferden pıhtıya doğru lökosit göçü olur.

3. günden itibaren pıhtı granülasyon dokusu ile yer değiştirene dek çevre bağ dokusundan fibroblastlar ve kapiller gelişmeye başlar. Prosesus alveolarislerde, osteoklastik aktivite sonucu rezorpsiyon meydana gelir.

5. günde yara kenarlarından epitel proliferasyonu başlar.

7. günde fibroblastların organizasyonu yanında çekim esnasında zarar gören küçük alveol parçacıkları ya rezorbe olur ya da sekestr olarak atılır.

14. günde pıhtının yerini granülasyon dokusu almaktadır. İyileşen alveolün çevresinde kalsifiye olmamış kemik dokusu oluşur. Alveolün orijinal şekli 14. günde oluşmaya başlar.

21. günde depozisyon sonucu soket tam kalsifiye olmayan kemikle dolar.

Yaklaşık bir ayda çekim kavitesini dolduran örgü kemik önce rezorbe olur, daha sonra normal şeklini alana dek trabeküler kemik ile dolar (Gönül, 2009; Webb ve Tricker, 2000).

3 MATERYAL VE METOT

Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (CÜBAP) tarafından desteklenen Diş-152 kodlu bu çalışma deneysel olarak gerçekleştirildi. Deneysel kısmı; Cumhuriyet Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda, ELİSA analizleri Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasotik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda, patolojik değerlendirmeler ise Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Çalışmaya başlamadan önce 03.03.2014 tarih ve 24 sayılı Cumhuriyet Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurul onayı alındı ve çalışma boyunca Cumhuriyet Üniversitesi Etik Kurulu yönergelerinin 13. maddesinde belirtilen "Etik kurallara uygunluk esası" kararına uyuldu.

Çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen 6 aylık, ortalama 2.5-3 kg ağırlığında 24 adet Yeni Zelanda cinsi erişkin dişi tavşan kullanıldı. Tüm deneysel hayvanlarının yem ve su ihtiyaçları sınırsız olacak şekilde giderildi. Yem olarak standart tavşan yemi tercih edildi. Tavşanlara hayvan odasında (22-24 °C'de, % 55-70 nem, 1 atm, 12 saat aydınlık/karanlık oda) standart koşullar uygulandı. Çalışma süresince deneysel hayvanları her kafeste tek bir hayvan olacak şekilde ve 50x80x50 cm boyutlarında paslanmaz çelik kafeslere yerleştirildi. Tüm hayvanlar cerrahi işlem öncesi, laboratuvara yerleştirildikten sonra optimal sağlık şartlarının sağlanması, enfeksiyondan korunmaları ve yeni yerlerine adaptasyonları için bir ay bakıma ve ön izlemeye tabi tutuldular.

3.1 Çalışma Gruplarının Tanımlanması

Deneysel hayvanları her grup 8 deneysel hayvanından oluşacak şekilde 3 gruba ayrıldı (Çizelge 3.1). Kontrol grubundaki 8 hayvana yalancı overektomi, diğer iki gruptaki hayvanlara ise overektomi işlemi yapıldı. İşlemden sonra tüm gruplardaki hayvanlar 8 hafta bekletildikten sonra diş çekimi işlemine tabi tutuldu. Kontrol grubundaki ve OVX grubundaki hayvanlara diş çekimi esnasında intravenöz serum fizyolojik uygulanırken, ZOL grubundaki hayvanlara ise intravenöz tek doz zoledronik asit uygulandı. Tüm hayvanlar 12 hafta sonra sakrifiye edildi.

SAKRİFİKASYON

GRUPLAR	Birinci operasyon	Geçen Süre	İkinci operasyon (uygulanan ilaç)	Geçen Süre
KONTROL (n=8)	Yalancı Overektomi	8 Hafta	Diş çekimi (Serum Fizyolojik)	4 Hafta
OVX (n=8)	Overektomi	8 Hafta	Diş çekimi (Serum Fizyolojik)	4 Hafta
ZOL (n=8)	Overektomi	8 Hafta	Diş çekimi (Zoledronik Asit)	4 Hafta

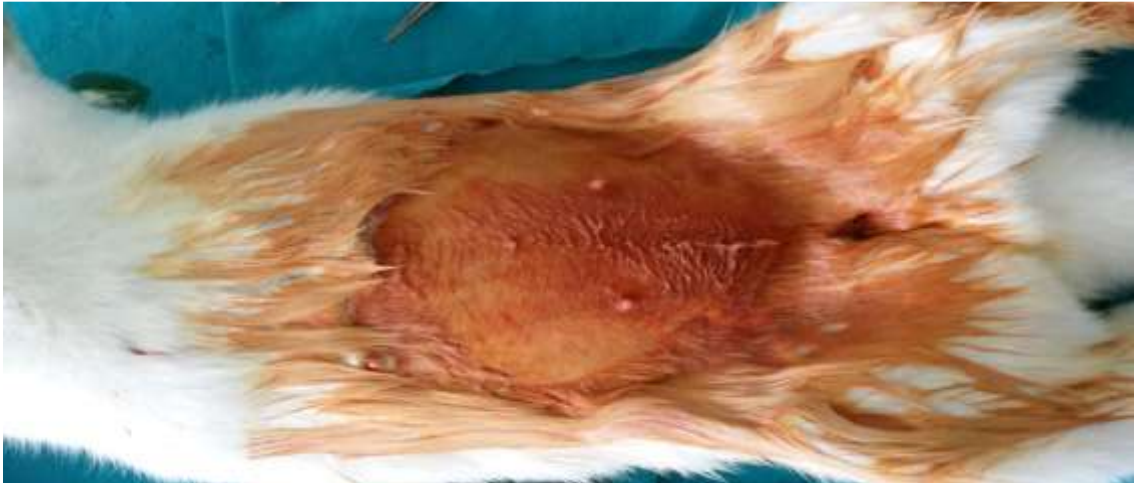
Çizelge 3.1 Çalışma gruplarının şematik gösterimi

3.2 Birinci Operasyon (Overektomi, Yalancı Overektomi)

Tüm deney hayvanları bir gün öncesinde aç bırakıldı. Deney hayvanlarının intramusküler enjeksiyon yöntemi ile 10-20 mg/kg xylazine (Rompun, Bayer, İstanbul, Turkey) ve 50 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar, Eczacıbaşı-Warner Lambert, İstanbul, Turkey) kullanılarak genel anestezisi sağlandı. Deney hayvanlarına işlem öncesi, postoperatif enfeksiyon profilaksisi amacıyla 50 mg/kg Seftriakson (Cephaxon-Toprak) intramusküler ve 4 mg/kg Carprofen (Rimadyl- Pfizer) 20 cc flakon subkütanöz olarak verildi.

Yeterli bir anestezi derinliği için göz kapağı refleksinin kaybolması beklendi ve tavşanların karın bölgesi traş edildi. Serum ile yıkanarak bu alandaki kıllar uzaklaştırıldı. Betadin kullanılarak karın bölgesi boyanıp cerrahi bölgede antisepsi sağlandı (Şekil 3.1). Overektomi uygulanacak deney hayvanlarında, karın orta hattı üzerinde 4 cm'lik laparotomi insizyonu yapılarak karın boşluğu açıldı. Ovaryumlara ulaşıldıktan sonra mezovaryum ve tuba uterina ligatüre edildi (Şekil 3.2) ve over dokuları çift taraflı olacak şekilde eksize edildi (Şekil 3.3). Kontrol grubundaki hayvanlarda karın duvarı benzer şekilde açıldıktan sonra ovaryum dokuları bulundu ancak eksize edilmeyip yerinde bırakıldı. Tüm hayvanlarda karın duvarı, cilt altı ve cilt dokuları katmanlar halinde dikilerek yara primer şekilde kapatıldı (Şekil 3.4).

Cerrahi sonrası kafeslere alınan hayvanlara postoperatif dönemde 3 gün boyunca enfeksiyonu önlemek ve analjezi sağlamak amacıyla 50 mg/kg Seftriakson (Cephaxon-Toprak) intramusküler ve 4 mg/kg Carprofen (Rimadyl- Pfizer) 20 cc flakon subkütanöz olarak uygulandı.



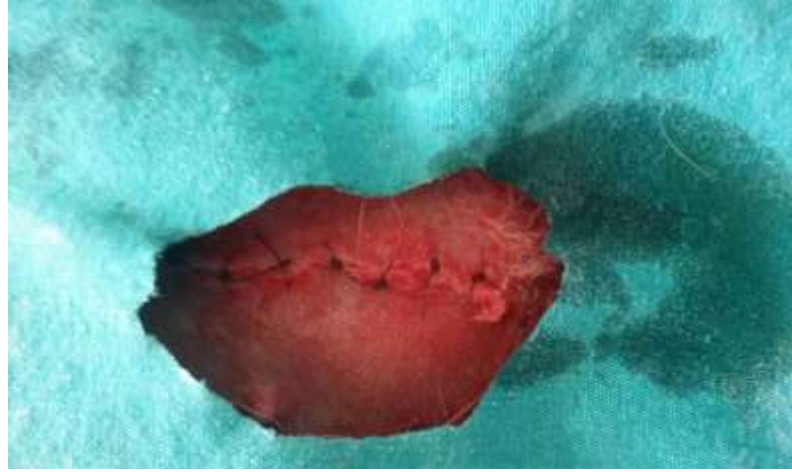
Şekil 3.1 Traş edilen operasyon sahasının betadin ile boyanması



Şekil 3.2 Laparotomi sonrasında ovaryumun diseksiyonu



Şekil 3.3 Eksize edilmiş over dokuları



Şekil 3.4 İşlem sonrası bölgenin primer olarak kapatılması

3.3 İkinci Operasyon (Diş Çekimi)

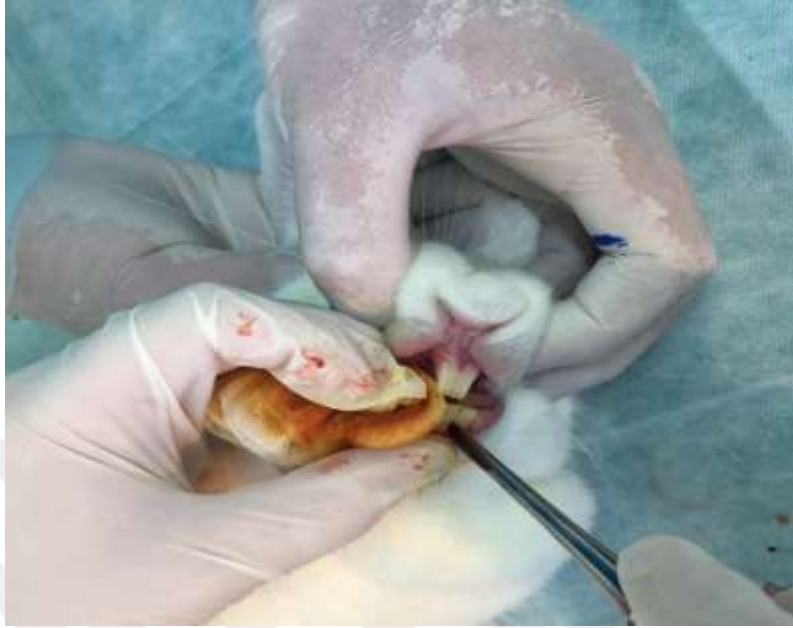
Overektomi işleminden 8 hafta sonra tüm hayvanlar genel anestezi altında diş çekimi işlemine alındı.

Operasyon öncesi aç bırakılan deney hayvanlarının intramusküler enjeksiyon yöntemi ile 10-20 mg/kg xylazine (Rompun, Bayer, İstanbul, Turkey) ve 50 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar, Eczacıbaşı-Warner Lambert, İstanbul, Turkey) kullanılarak genel anestezisi sağlandı. Çekim yapılacak diş bölgesine articaine HCl içeren lokal anestetik (Maxicaine Fort, VEM, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı. İşlem öncesi, postoperatif enfeksiyon profilaksisi amacıyla 50 mg/kg Seftriakson (Cephaxon-Toprak) intramusküler ve 4 mg/kg Carprofen (Rimadyl- Pfizer) 20 cc flakon subkütanöz olarak verildi. Deney hayvanlarının ağız içi bölgeleri antiseptik solüsyon ile temizlendi. Tüm hayvanlarda diş çekimi işleminden önce kulak marjinal venine intraket yerleştirilerek serum fizyolojik (Kontrol ve OVX) veya zoledronik asit (ZOL, şekil 3.5) infüzyonları yapıldı.



Şekil 3.5 Deney aşamasında kullanılan zoledronik asit solüsyonu

Tüm grup hayvanlarının sağ alt keser dişleri bein elevatörü ile lükse edildikten sonra (Şekil 3.6) alt keser davyesi ile çekildi (Şekil 3.7). Çekim soketleri (Şekil 3.8) keser dişlerin çekiminden sonra (Şekil 3.9), suture edilerek primer olarak kapatıldı (Şekil 3.10).



Şekil 3.6 Sağ alt keser dişin bein elevatörü ile lükse edilmesi



Şekil 3.7 Alt keser davyesi ile dişin çekilmesi



Şekil 3.8 Sağ alt keser dişin çekim soketi



Şekil 3.9 Sağ alt keser diş



Şekil 3.10 Diş çekimi bölgesinin primer olarak kapatılması

Cerrahi sonrası kafeslere alınan deney hayvanlarına postoperatif dönemde 3 gün boyunca enfeksiyonu önlemek ve analjezi sağlamak amacıyla 50 mg/kg Seftriakson (Cephaxon-Toprak) intramusküler ve 4 mg/kg Carprofen (Rimadyl- Pfizer) 20 cc flakon subkütanöz olarak uygulandı.

3.4 Tavşanların Bakımı ve Deneyin Sonlandırılması

Overektomi ve yalancı overektomi işlemleri yapıldıktan sonra tüm gruptaki deney hayvanları 8 hafta süre ile bekletildi. Bu süre sonunda tüm hayvanların diş çekimi işlemi gerçekleştirildi. Çekim işleminden 4 hafta sonra tüm grup deney hayvanları 200 mg/kg sodyum pentobarbital (Petothal, Abbot, ABD) kullanılarak sakrifiye edildi. Sakrifikasyon işleminden önce tüm deney hayvanlarından elde edilen kanlar herhangi bir antikoagülan içermeyen cam kaplı silikon ya da cam tüpe hemen yerleştirildi. Öncesinde 3000 rpm'ye ayarlanmış santrifüj cihazına yerleştirilerek 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen plazma örnekleri ELİSA analizleri için -20 derecede muhafaza edildi. Deney hayvanlarının mandibulaları patolojik inceleme için çıkartıldı (Şekil 3.11) ve % 10'luk formolün içine konuldu.



Şekil 3.11 Patolojik inceleme için çıkartılmış mandibula

3.5 Değerlendirme Yöntemleri

3.5.1 Histopatolojik Yöntem

Çalışmada kullanılan tavşanların diş çekim yaralarının mikroskopik özelliklerinin belirlenmesi için çalışma sonunda ötenazi edilen tavşanların mandibulaları çıkarılarak alındı. Alınan dokular % 10'luk formaldehit içinde tespit edildi. Tespit işlemi sonrası yumuşak dokular uzaklaştırılarak kemik doku % 1'lik nitrik asit ile dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyondan sonra dokular rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek doku bloklama cihazında parafin bloklar hazırlandı (Şekil 3.12). Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom cihazıyla alınan 5 mikron kalınlığındaki kesitler histopatolojik inceleme için hemotoksilen eozin ve Von Kossa boyamaları ile boyandı (Şekil 3.13). Kesitler Leica DM 2500 markalı ışık mikroskopunda yapılan mikroskopik muayenelerde osteoklast sayısına, ossifikasyona, vaskülarizasyona, MNH infiltrasyonuna, nekroza bakılarak 0=Yok, 1=Az, 2=Orta derecede, 3=Yoğun şeklinde skorlandı (Şekil 3.14). Çekim yarasının organizasyonunun değerlendirilmesinde 0=yetersiz 1=orta, 2=iyi şeklindeki skora kullanıldı.



Şekil 3.12 Doku bloklama cihazı



Şekil 3.13 Mikrotom cihazı (HESTION ERM 3100)



Şekil 3.14 Leica DM 2500 ışık mikroskobu

3.5.2 ELİSA Analizleri

ELİSA analizleri yazılı olan protokollere uyularak yapıldı. Kan serumunun pıhtılaşması için 10-20 dk kadar oda sıcaklığında bekletildi, sonrasında yaklaşık 20 dk 2000-3000 RPM’de santrifüj edildi (Şekil 3.15). Supernatlar dikkatli bir şekilde toplandı. İşlem sırasında çökelti oluştuğunda santrifüj aynı şekilde tekrarlandı. Alınan serum örnekleri çalışma yapılıncaya kadar -20 derecede muhafaza edildi. Örnekler, reaktifler ve standartlar prosedüre uygun olarak hazırlandı (Çizelge 3.2).

800ng/L	Standart no.5	120 µl orijinal standart + 120 µl standart çözücü
400ng/L	Standart no.4	120 µl Standart no.5 + 120 µl standart çözücü
200ng/L	Standart no.3	120 µl Standart no.4 + 120 µl standart çözücü
100ng/L	Standart no.2	120 µl Standart no.3 + 120 µl standart çözücü
50ng/L	Standart no.1	120 µl Standart no.2 + 120 µl standart çözücü

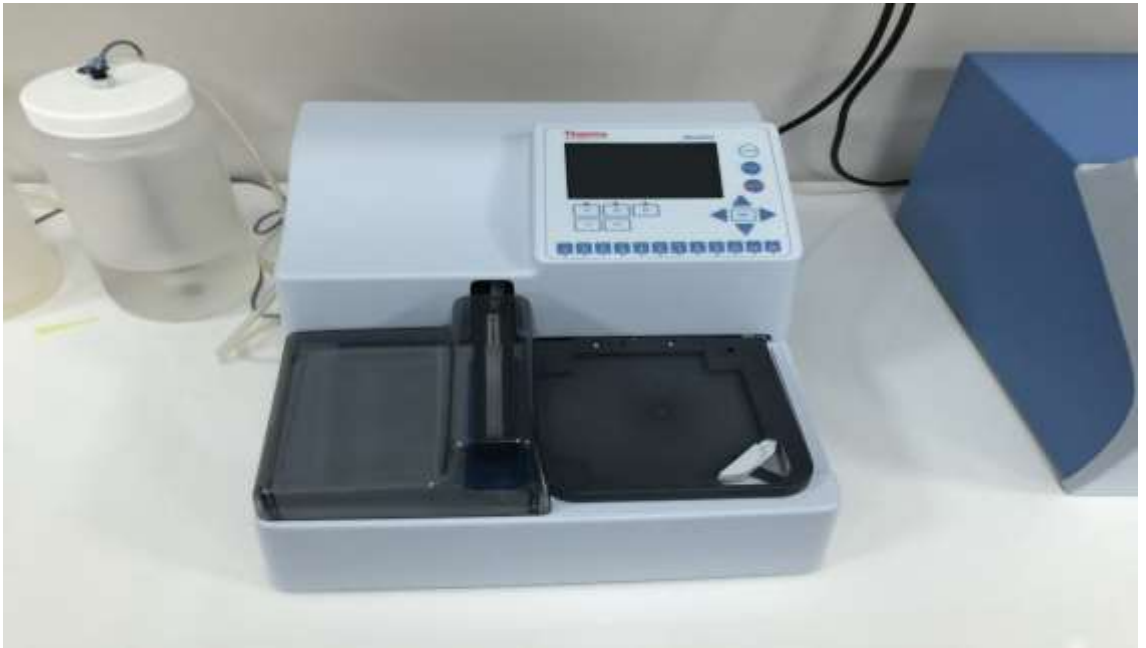
Çizelge 3.2 Örnekler, reaktifler ve standartların hazırlanma prosedürü

Standart kuyucuklara standart solüsyonları, streptavidin-HRP; örnek kuyucuklarına serum, BMP2/TNF- α /VEGF antikor ve streptavidin-HRP ilave edildi. Playt 60 dakika boyunca 37°C’ de inkübasyona bırakıldı. 5 kez yıkama işleminden geçirilen playte A ve B kromojen reaktifi eklendi (Şekil 3.16) ve 37 °C’de 10 dk inkübe

edildi (Şekil 3.17) ve renk değişimi gözlenmeye başlandı. Stop solüsyonu ilave edilerek reaksiyon durduruldu. 10 dk içerisinde 450 nm’de değerler Elisa Reader’la (Thermo Multiskan GO) okundu (Şekil 3.18) ve belirtilen şekilde hesaplandı.



Şekil 3.15 Santrifüj cihazı (Nüve NF 1200R)



Şekil 3.16 Thermo Wellwash



Şekil 3.17 İnkubatör cihazı (Biosan PST-60 HL-4)



Şekil 3.18 Elisa reader cihazı (Therma Multiskan GO)

3.6 İstatistiksel Yöntem

Çalışmamızdan elde edilen veriler SPSS (Ver 22.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları yerine getirildiğinde (kolmogorof-simirnov) varyans analizi ve Tukey testi uygulanmıştır. Ayrıca çok gözlü düzenlerde Ki-kare testine ilişkin varsayımlar sağlamak amacıyla Ki-kare Exact testlerden Monte Carlo modeli kullanılarak Ki-kare değerleri hesap edilmiş ve yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

4 BULGULAR

4.1 Klinik Bulgular

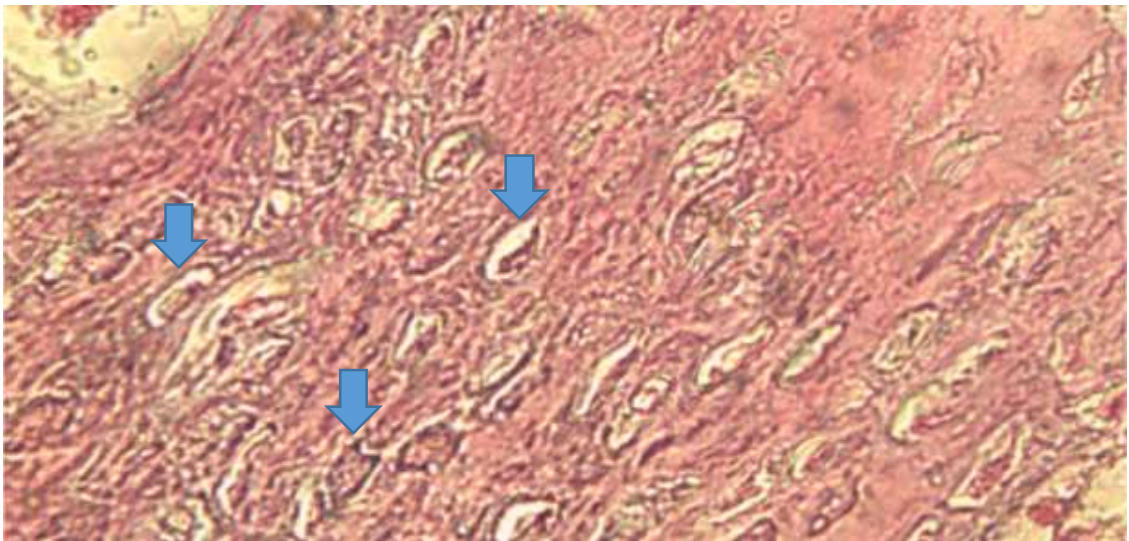
Deneysel çalışma süresince tavşanların uygulanan cerrahi işlemi iyi tolere ettiği, beslenmeleri açısından herhangi bir olumsuzluk gelişmediği, operasyona bağlı herhangi bir enfeksiyon oluşmadığı ve deneklerin genel sağlık durumlarının iyi olduğu gözlemlendi.

4.2 Histopatolojik Bulgular

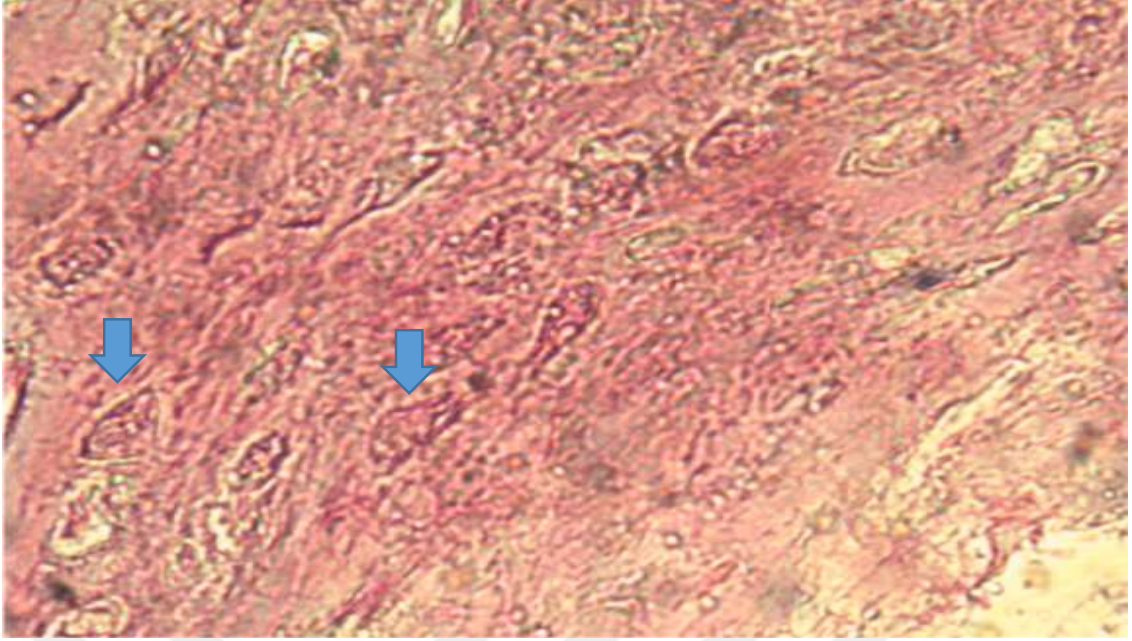
Histolojik olarak gruplara ait kesitlerin mikroskopik değerlendirilmesinde osteoklast sayısına, ossifikasyona, vaskülarizasyona, MNH infiltrasyonuna, nekroza bakılarak iyileşme değerlendirildi (Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6). Histopatolojik değerlendirmede 0=Yok, 1=Az, 2=Orta derecede, 3=Yoğun olarak skorlandı. Ayrıca çekim yarasının organizasyonu değerlendirildi ve 0=yetersiz 1=orta, 2=iyi şeklinde skorlama yapıldı.

4.2.1 Osteoklast Artışının Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında belirlenen osteoklast artışı skorları karşılaştırıldığında gruplar arası farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Çalışma gruplarından osteoklast artışı skor oranının ZOL grubunda en düşük olduğu belirlenirken kontrol grubu ve OVX grubunda osteoklast artışı skor oranlarının ZOL grubuna kıyasla yüksek olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.1'de gruplara ait osteoklast artışı skor oranları verilmiştir.



Şekil 4.1 OVX grubuna ait histopatolojik görüntü. Artmış osteoklastlar (Oklar), Hematoksilen Eozin $\times 260$



Şekil 4.2 ZOL grubuna ait histopatolojik görüntü. Osteoklastlar (Oklar), Hematoksilien Eozin × 260

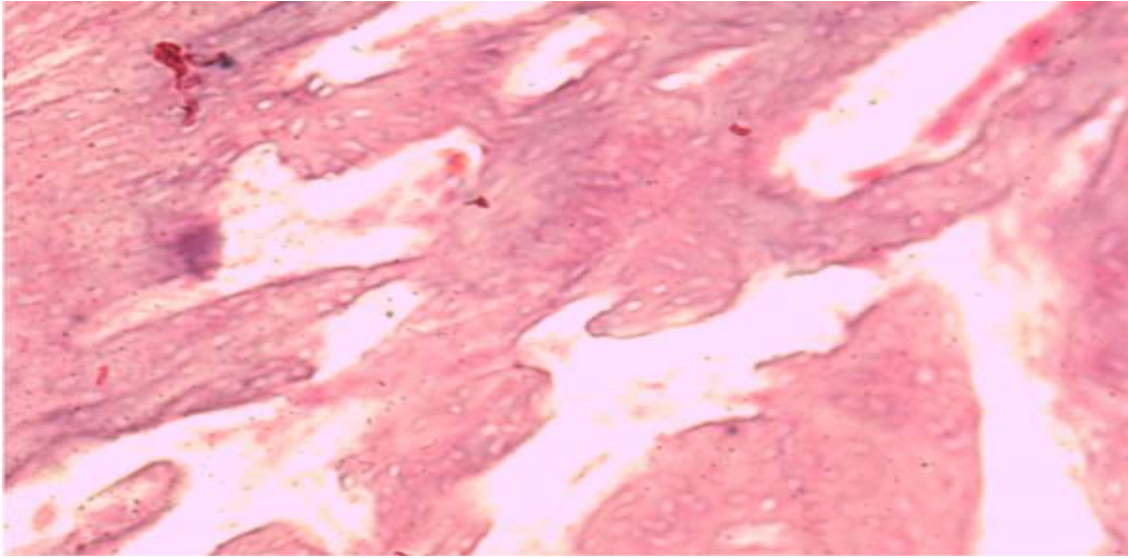
Gruplar	Osteoklast Artışı			Toplam
	Az	Orta	Yoğun	
Kontrol S %	1 12,5	5 62,5	2 25,0	8 100,0
OVX S %	3 37,5	5 62,5	0 ,0	8 100,0
ZOL S %	6 75,0	2 25,0	0 ,0	8 100,0
Toplam S %	10 41,7	12 50,0	2 8,3	24 100,0

$X^2=7,67$ $p=0,072$ $p>0,05$ önemsiz

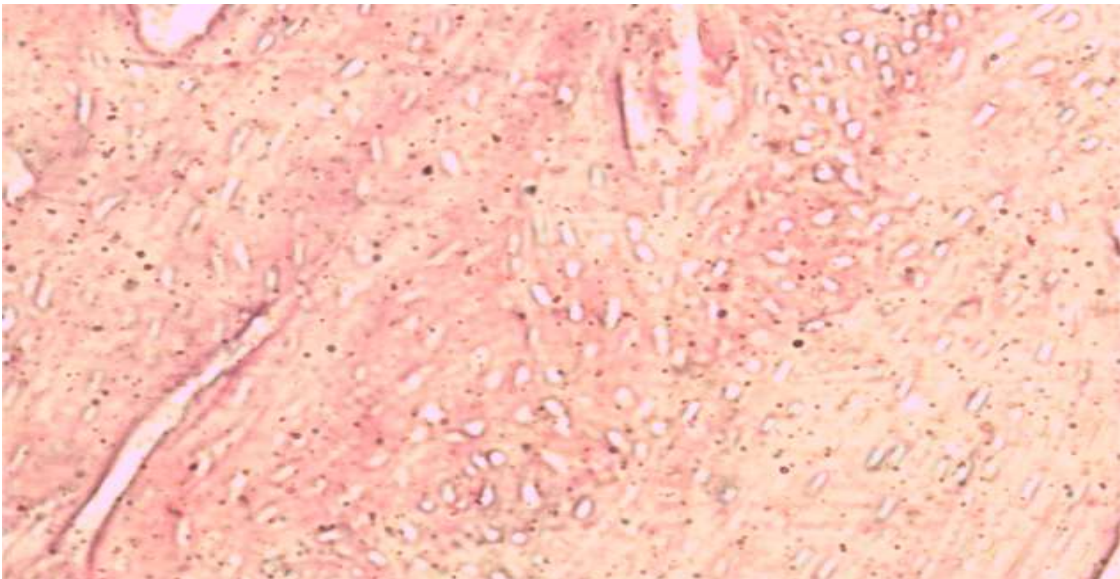
Çizelge 4.1 Çalışma gruplarında belirlenen osteoklast artışı skorlarının oranları

4.2.2 Ossifikasyonun Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında belirlenen ossifikasyon skorları karşılaştırıldığında gruplar arası farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz olduğu görölmüştür ($p>0,05$). Çizelge 4.2'den anlaşıldığı gibi çalışma gruplarında az olarak belirlenen ossifikasyon skoru kontrol grubunda % 62,5 oranında, orta olarak belirlenen ossifikasyon skoru OVX grubunda % 62,5 oranında belirlenmiştir. Yoğun olarak belirlenen ossifikasyon skoruna ise yalnızca ZOL grubunda % 37,5 oranında rastlanmıştır.



Şekil 4.3 OVX grubuna ait histopatolojik görüntü. Osifikasyon (orta), Hematoksilen Eozin $\times 180$



Şekil 4.4 ZOL grubuna ait histopatolojik görüntü. Osifikasyon (yoğun), Hematoksilen Eozin $\times 120$

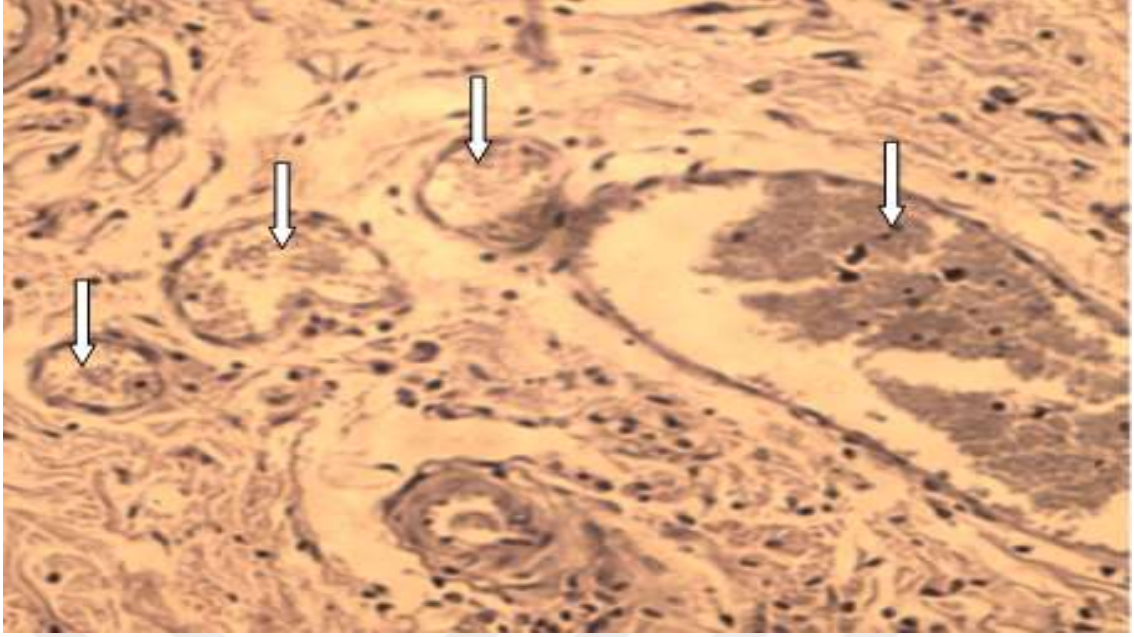
Gruplar	Ossifikasyon			Toplam
	Az	Orta	Yoğun	
Kontrol S %	5 62,5	3 37,5	0 ,0	8 100,0
OVX S %	3 37,5	5 62,5	0 ,0	8 100,0
ZOL S %	1 12,5	4 50,0	3 37,5	8 100,0
Toplam S %	9 37,5	12 50,0	3 12,5	24 100,0

$X^2=7,07$ $p=0,106$ $p>0,05$ önemsiz

Çizelge 4.2 Çalışma gruplarında belirlenen ossifikasyon skor oranları

4.2.3 Vaskülarizasyonun Artışının Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında belirlenen vaskülarizasyon artışı skorları karşılaştırıldığında gruplar arası farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Çizelge 4.3'den anlaşıldığı gibi çalışma gruplarında az olarak belirlenen vaskülarizasyon artışı skoru kontrol grubunda % 50 oranında, orta olarak belirlenen vaskülarizasyon artışı skoru OVX grubunda % 75 oranında belirlenmiştir. Yoğun olarak belirlenen vaskülarizasyon artışı skoruna ise en fazla ZOL grubunda % 37,5 oranında rastlanmıştır.



Şekil 4.5 ZOL grubuna ait histopatolojik görüntü. Vaskülarizasyon artışı (beyaz oklar), Hematoksilen Eozin $\times 260$

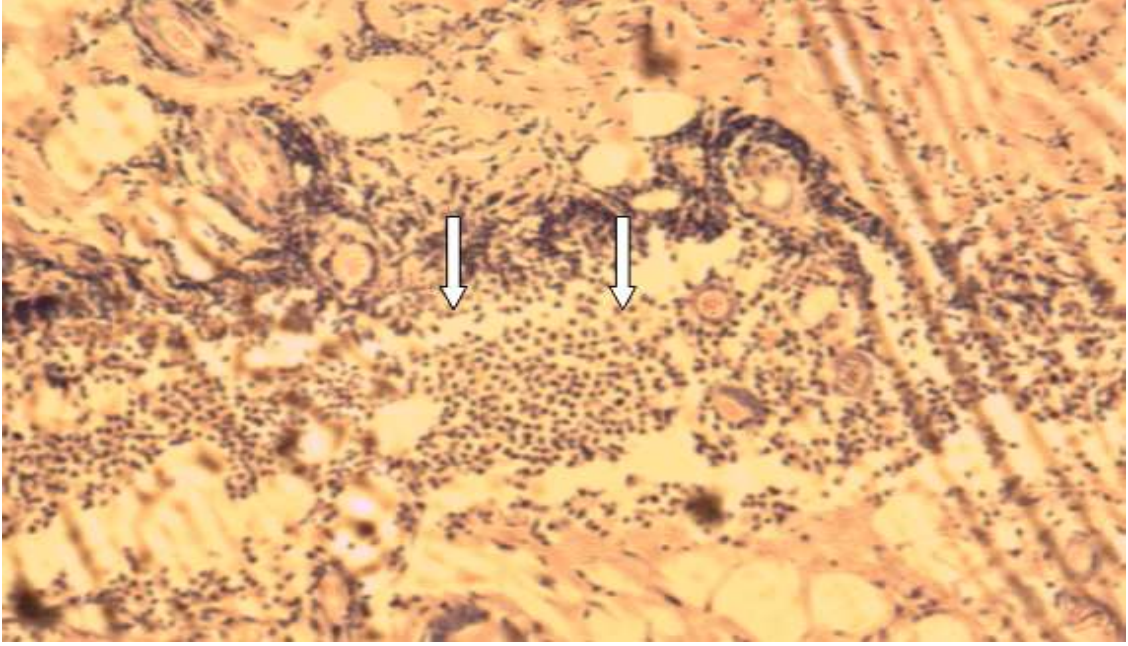
Gruplar	Vaskülarizasyon Artışı			Toplam
	Az	Orta	Yoğun	
Kontrol S %	4 50,0	4 50,0	0 ,0	8 100,0
OVX S %	1 12,5	6 75,0	1 12,5	8 100,0
ZOL S %	0 ,0	5 62,5	3 37,5	8 100,0
Toplam S %	5 20,8	15 62,5	4 16,7	24 100,0

$X^2=7,43$ $p=0,073$ $p>0,05$ önemsiz

Çizelge 4.3 Çalışma gruplarında belirlenen vaskülarizasyon artışı skoru oranları

4.2.4 Mononükleer Hücre İnfiltasyonunun Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında belirlenen mononükleer hücre infiltrasyonu skorları karşılaştırıldığında gruplar arası farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Çizelge 4.4'den anlaşıldığı gibi çalışma gruplarında az olarak belirlenen mononükleer hücre infiltrasyonu skoru ZOL grubunda % 50 oranında, orta olarak belirlenen mononükleer hücre infiltrasyonu skoru OVX grubunda % 87,5 oranında belirlenmiştir. Yoğun olarak belirlenen mononükleer hücre infiltrasyonu skoruna ise kontrol grubunda yalnızca bir hayvanda (% 12,5) rastlanmıştır.



Şekil 4.6 Kontrol grubuna ait histopatolojik görüntü. Mononükleer hücre infiltrasyonu (beyaz oklar), Hematoksilen Eozin $\times 180$

Gruplar	Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu			Toplam
	Az	Orta	Yoğun	
Kontrol S %	1 12,5	6 75,0	1 12,5	8 100,0
OVX S %	1 12,5	7 87,5	0 ,0	8 100,0
ZOL S %	4 50,0	4 50,0	0 ,0	8 100,0
Toplam S %	6 25,0	17 70,8	1 4,2	24 100,0

$X^2=5,04$ $p=0,275$ $p>0,05$ önemsiz

Çizelge 4.4 Çalışma gruplarında belirlenen mononükleer hücre infiltrasyonu artışı skoru oranları

4.2.5 Nekrozun Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında nekroz skoru karşılaştırıldığında üç grupta da yok skoruna % 87,5 oranında rastlanırken, az skoru bütün gruplarda % 12,5 oranında gözlenmiştir. Çizelge 4.5’de gruplara ait nekroz skor oranları verilmiştir.

Gruplar	Nekroz		Toplam
	Yok	Az	
Kontrol S %	7 87,5	1 12,5	8 100,0
OVX S %	7 87,5	1 12,5	8 100,0
ZOL S %	7 87,5	1 12,5	8 100,0
Toplam S %	21 87,5	3 12,5	24 100,0

Xxx xxxx xxxxxx

Çizelge 4.5 Çalışma gruplarında belirlenen nekroz skoru oranları

4.2.6 Çekim Yarasının Organizasyonunun Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında belirlenen çekim yarası organizasyonu skorları karşılaştırıldığında gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Çalışma gruplarında belirlenen çekim yarasının organizasyonu oranları değerlendirildiğinde orta skoru yönünden kontrol ile ZOL ve OVX ile ZOL grupları arasındaki farklılık, iyi skoru yönünden de kontrol ile ZOL ve OVX ile ZOL grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Kontrol grubundaki hayvanların % 100'ünde ve OVX grubundaki hayvanların % 87,5'inde orta derecede organizasyon görülürken ZOL grubundaki hayvanların % 62,5'inde ise iyi derecede organizasyon belirlendi. Çizelge 4.6'da gruplara ait organizasyon skor oranları verilmiştir.

Gruplar	Çekim yarasının organizasyonu		Toplam
	Orta	İyi	
Kontrol S %	8 100,0	0 ,0	8 100,0
OVX S %	7 87,5	1 12,5	8 100,0
ZOL S %	3 37,5	5 62,5	8 100,0
Toplam S %	18 75,0	6 25,0	24 100,0

$X^2=8,02$ $p=0,23$ $p<0,05$ önemli

Çizelge 4.6 Çalışma gruplarında belirlenen çekim yarasının organizasyonu skoru oranları

4.3 ELİSA Bulguları

BMP2, TNF- α ve VEGF miktarları hesaplanarak diş çekim bölgesindeki yara iyileşmesi değerlendirildi.

4.3.1 Kontrol ve Deney Gruplarına Ait BMP2, TNF- α ve VEGF Değerlerinin Karşılaştırılması

Gruplara ilişkin BMP2 ölçümleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplara ait değerler 2'şerli karşılaştırıldığında kontrol ile ZOL grupları arasındaki farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$) diğer gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Gruplara ilişkin TNF- α ölçümleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplara ait değerler 2'şerli karşılaştırıldığında kontrol ile ZOL grupları arasındaki farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$) diğer gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Gruplara ilişkin VEGF değerleri karşılaştırıldığında ise gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Gruplar	BMP2 x±Ss	TNF- α x±Ss	VEGF x±Ss
Kontrol	171,25±9,36	60,90±3,84	485,46±51,01
OVX	195,77±23,37	69,75±11,12	515,20±44,14
ZOL	201,06±29,75	78,19±8,02	529,16±40,77
Sonuç	F=3,99 p=0,034*	F=8,46 p=0,002*	F=1,92 p=0,171*

Çizelge 4.7 Gruplara ilişkin BMP 2, TNF- α ve VEGF değerlerinin karşılaştırılması

5 TARTIŞMA

Postmenopozal dönemde kardiyovasküler sistemden sonra en büyük riski oluşturan osteoporoz (Ertüngealp ve Seyisoğlu, 2000), fizyolojik bir sürecin sonucunda gelişmesine rağmen önlenbilir ve tedavi edilmesi gerekli bir hastalıktır (*World Health Organisation, 1993*). Osteoporoz, genellikle overlerdeki yaşlılık atrofisine bağlı olarak östrojen seviyesinin düşmesi sonucu postmenapozal kadınları etkileyen osteometabolik bir hastalıktır (*Consensus Development Conference on Osteoporosis, 1993*) ve kemik kitlesinde ve dayanıklılığında düşüş, bozulmuş kemik yapısı ve azalmış rejeneratif kapasite ile kendini gösterir (Von Wowern, 2001; Lespessailles ve ark., 2009). Östrojen eksikliği kemik turnover'ını artırır, bu da yüksek kemik remodelasyon oranıyla sonuçlanır ve kemik rezorpsiyonu kemik formasyonunu aşar. Aşırı rezorpsiyon sonucu olarak, trabeküler kemik patolojiye yatkın hale gelir (Bagi ve ark., 1997; Friedlander, 2002). Ortalama yaşam süresinin uzaması ve sedanter karakterli modern yaşam tarzı osteoporozun insidansını artırmakta ve önemli bir klinik antite olarak karşımıza çıkarmaktadır (Räkel ve ark., 2011). Bu çalışmada, tavşanlarda overektomi ile oluşturulan osteoporoz modelinde zoledronik asitin diş çekim yarasındaki etkinliği klinik, patolojik ve serolojik olarak araştırılarak osteoporoz araştırmalarına katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Overektomi ile osteoporoz modeli oluşturulan çalışmalarda operasyon sonrası sürenin farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır. Yamazaki ve ark. (Yamazaki ve ark., 1999), Hsieh ve ark. (Hsieh ve ark., 1995) osteoporoz çalışmalarında overektomiden hemen sonra beklemeden çalışmaya başlamışlar, Motohashi ve ark. (Motohashi ve ark., 1999) 3 hafta beklemiş, Shimizu ve ark. (Shimizu ve ark., 2000) 8 hafta beklemiş, Walsh ve ark. (Walsh ve ark., 1997) 2 ve 6 hafta beklemiş ve Arslan ve ark. (Arslan ve ark., 2003) 6 hafta beklemiştir. Bu çalışmada da anılan çalışmalar göz önünde tutularak deneklerde postoperatif stresin azaltılması ve postmenapozal periodu taklit ederek östrojen eksikliğinin oluşması için overektomi sonrası 8 hafta beklemenin uygun olacağı düşünüldü.

Klinik çalışmalar göstermiştir ki osteoporoz maksilla ve mandibulada kemik kütlesi ve yoğunluğunda kayba neden olmakta, dişlerin çevresinde kemik yıkımını arttırmaktadır (Kribbs, 1990; Von Wowern ve Kollerup, 1992; Jeffcoat ve Chestnut, 1993; Taguchi ve ark., 1995;1996; Horner ve ark., 1996). Osteoporotik hayvan modellerinde alveoler kemik morfolojisinin incelendiği çalışmalarda mandibular kemik yoğunluğunda düşme (Cao ve ark., 2001), diş çekim soketinde kemik yapım hızında azalma (Shimizu ve ark., 2000) ve bukkal kemik kaybında artma (Tanaka ve ark., 2001)

gibi bulgular rapor edilmiştir. Osteoporozun çene kemikleri üzerindeki etkisi ilk olarak 1960 yılında rapor edildi (Groen ve ark., 1960). Alveolar kemik rejenerasyonu daha hızlı olduğundan dolayı, osteoporotik çene kemiğinde uzun kemiklere kıyasla, kemik rezorpsiyon ve depozisyon oranı arasındaki dengesizlik daha erken ortaya çıkar (Biasotto ve ark. 2010).

Shoji ve ark. (Shoji ve ark., 2011) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, hayvanların sol mandibular kesici ve molar dişlerini çekmişler ve 4 ay iyileşmeye bıraktıktan sonra overektomi işlemini gerçekleştirmişlerdir. Overektomi işlemi sonrasında ratları overektomi esnasında, 6. haftada, 6. ayda ve 9. ayda olacak şekilde sakrifiye etmişlerdir. Sonuç olarak overektomi işlemine bağlı olarak mandibular keser diş bölgesindeki iyileşmiş çekim soketindeki alveolar kemik turnoverindeki artışı ve kansellöz kemik miktarındaki zaman içindeki düşüşü rapor etmişlerdir.

Başka bir çalışmada, overektomi işleminin ratların mandibular 1. molar dişlerindeki interradiküler kemik bölgesindeki kansellöz kemik miktarında azalmaya ve kemik turnoverinde artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Tanaka ve ark., 2002; Tanaka ve ark., 2003). Diğer raporlar ise overektominin ratlarda ve insanlarda kemik ve osteoklast formasyonunu artırdığını göstermiştir (Kawamoto ve ve Nagaoka, 2000). Yine başka bir çalışma overektomiden 4 ay sonra tibiada kemik mineral yoğunluğu ve kansellöz kemik miktarında düşüş bildirilmiştir (Elsubeihi ve ark., 2007).

Overektomi işlemi yapılan tavşan femurunda 2. ay itibariyle osteoporotik bozulmaların başladığı, 4. ayda belirgin şekilde osteoporozun izlenebildiği bildirilmiştir (Sevil, 2006). Başka bir çalışmada Cao ve ark. (Cao ve ark., 2001) overektomi işlemi yapılmış tavşan mandibulasında kemik mineral yoğunluğunun 12. haftada belirgin şekilde düşüş gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bu verilerden yola çıkarak overektomize ettiğimiz Yeni Zelanda tavşanlarında, 8 hafta bekledikten sonra diş çekimi işlemi yapılmıştır. Diş çekimi soketinin iyileşmesi için tavşanların çekim işleminden sonra 4 hafta bekletildiği ve çalışma sonunda toplamda 12 haftalık sürenin tamamlandığı göz önüne alındığında, osteoporozun etkilerinin tavşan mandibulasında ortaya çıkacağı düşünüldü.

Overektomi işleminin diş çekimini takiben diş soketindeki iyileşmeyi etkilediği (Hsieh ve ark., 1995; Luvizuto ve ark., 2010) ve ratlarda diş çekimi sonrası yeni kemik formasyonunu azaltarak yara iyileşmesini inhibe ettiği bildirilmiştir (Shimizu ve ark., 2000; Luvizuto ve ark., 2010).

Cao ve ark. (Cao ve ark., 1999) 42 yetişkin tavşanda, overektomi işleminin mandibuladaki kemik değişimine etkisini incelemiştir. İlk olarak hayvanların mandibular insizör dişleri çekilmiştir. Diş çekimi işleminden 12 hafta sonra, 18 tavşana bilateral overektomi ve diğer 18 hayvana sham cerrahi yapılmıştır ve hayvanlar overektomi sonrası 4., 12., ve 24. haftada sakrifiye edilmiştir. Diş çekimi yapılmış bölgeler histolojik ve histomorfometrik inceleme için undekalsifiye işlemi görmüştür. Overektomize ratlarda over fonksiyonunun kaybı ve mandibular kemikteki değişim arasında yakın bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Diş çekim çalışmaları klinik olarak insanlar üzerinde ve deneysel olarakta, kobay, köpek, tavşan ve rat gibi birçok farklı denek türleri üzerinde gerçekleştirilmiştir (Güngör ve ark., 1985; Zhao ve ark., 2011; Hikita ve ark., 2009). Tavşan oral kavitesinin fizyolojisi ve morfolojisi iyi bilinir ve tavşanların kesici dişlerinin ve periodontal ligamentlerinin mekanik özellikleri derinlemesine incelenmiştir (Anapol ve ark., 1987; Yamane ve ark., 1997). Ratlarda diş çekimi işlemine kıyasla tavşanda daha kolay bir şekilde diş çekimi işlemini gerçekleştirmemizden dolayı tüm bu nedenlerle beraber çalışmamızda diş çekimi işlemini tavşanlar üzerinde gerçekleştirmeyi tercih ettik.

Hayvanlarda deneysel olarak osteoporoz farklı metotlarla oluşturulabilir. Overektomi, hayvan modellerinde postmenapozal osteoporoz elde edilmesinde kullanılan en yaygın metottur ve bu yüzden biz de çalışmamızda bunu tercih ettik (Devlin ve Ferguson, 1990; Kalu, 1991). Bu amaçla en sık kullanılan hayvan sıçan olmakla beraber intrakortikal yeniden şekillenmenin de görülebildiği daha büyük bir hayvan modelleri olan tavşan, köpek ve domuz gibi hayvanların kullanımı biyomateryal entegrasyonu çalışmaları için önerilmektedir (Egermann ve ark., 2005). Hayvan modelleri, osteoporozun yeni tedavilerinin geliştirilmesi ve etiolojisinin anlaşılması konusunda kritik bir role sahiptir (Geddes, 1996; Egermann ve ark., 2005). Osteoporozdan korunmada ve tedavisinde kullanılan ajanların prelinik testlerinde, overektomize ratlar FDA tarafından ilk sırada gösterilen test modelidir (*Food and Drug Administration, 1994*). Bununla beraber, Haversian sistemin olmaması, tam bir iskeletsel olgunluğa ulaşmaması, intrakortikal kemik remodelasyonunun az olması gibi dezavantajları vardır (Kalu, 1991; Turner, 2001). Ayrıca ratların küçük olmasından ötürü çeşitli biyopsiler ve multiple kan biyokimyasal ölçümleri gerektiren ve cerrahi protez implantasyonu içeren çalışmalar için uygun değildir (Turner ve ark., 2001; Turner, 2001). Çalışmalarda kullanılan ve primatları, koyunları, köpekleri ve domuzları içeren iri hayvanların tümünün fazla miktarıyla başa çıkmak ve barındırmak pahalı ve zordur (Turner, 2001;

Reinwald ve Burr, 2008). Tavşanları diğer deney hayvanlarıyla kıyaslayacak olursak nispeten daha ekonomik, daha uysal, daha uygun boyutta, başa çıkması ve barındırması nispeten daha kolay bir denek grubudur ve genetik olarak homojen ırk açısından daha fazla miktarlarda temin edilmesi mümkündür (Mori ve ark., 1997; Deglurkar ve ark., 2007). Primatlardan daha hızlı kemik turnoverine sahip olmalarından, kısa iskeletsel gelişim periodundan ve dikkat çekici intrakortikal remodelasyonundan dolayı osteoporoz çalışmalarında bu çalışmaya benzer şekilde tavşanlar sıkça tercih edilirler (Gilsanz ve ark., 1988; Kimmel, 1996).

Osteoporozün tedavisinde, bifosfonatlar fazlaca tercih edilirler. Mineralize kemiğe güçlü affiniteleri vardır ve osteoklasta bağlı kemik rezorpsiyonunu önlerler ve kemik turnoverini normalleştirirler (Gao ve ark., 2009). Bifosfonatlar osteoklast aktivitesini inhibe ederler (Murakami ve ark., 1995) ve uzun süreli kullanımları osteoklast diferensiasyonunu da inhibe eder (Hughes ve ark., 1989). Bifosfonatlar etidronat ile birlikte 1968 yılından itibaren klinikte kullanılmaya başlanmıştır ve bunların kullanımı FDA'nın eylül 1995 yılında alendronatı onaylamasıyla beraber yaygın bir şekilde artmıştır. Bifosfonatlar primer ve sekonder osteoporoz, kemiğin Paget hastalığı, hiperkalsemiyle ilişkili kanser, multiple myeloma ve malign tümörlerin kemik metastazıyla ilişkili osteolizis tedavisi gibi pekçok klinik durumda kullanılırlar (Abtahi ve ark., 2010). Ayrıca rutin olarak osteoporozun tedavisinde birinci tedavi seçeneği olarak kullanılırlar (Eastel ve ark. 2011; Lipton, 2007; Coleman, 2011).

Bifosfonatlar, kimyasal ve enzimatik hidrolize maruz kaldıklarında bile yıkılmayan fosfat-karbon-fosfat zincirinden oluşan pirofosfat analogudur. Bifosfonatlar, osteoklastları etkileyerek, kemik rezorpsiyonunu inhibe ederler ve kemik mineral dansitesini artırır ve fraktür riskini azaltırlar (Otto ve ark., 2012). Azot içeren bifosfonatların potansitesinin ve kemik yarılanma ömrünün azot içermeyen bifosfonatlara göre daha yüksek olduğu bilinmektedir (Arslan, 2004; Epstein, 2006).

Ohnishi ve ark. (Ohnishi ve ark., 1997) overektomi yaptıkları ratlarda osteoporoz sonrası tiludronat uygulamasının lumbar vertebranın ve femurun mekanik özelliklerini artırdığını savunmuşlardır. Tiludronata bağlı olarak bu parametrelerdeki artışın, kemik turnoverindeki düşüşle, kemik kitlesindeki ve kemik yapısındaki parametrelerdeki artışla yakın ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Gabriela ve ark. (Gabriela ve ark., 2008) tarafından yapılan bir çalışmada osteoentegre implantların etrafındaki kemik dansitesine, östrojen eksikliğinin ve bunun alendronat ve östrojen hormonuyla tedavisinin etkisi incelenmiştir. Dişi farelere yapılan implant cerrahisi işleminden 60 gün sonra, hayvanlar rastgele şekilde kontrol, yalancı cerrahi, overektomi, overektomi+östrojen ve overektomi+alendronat grubu olarak ayrılmışlar ve overektomi işleminden 90 gün sonra tüm hayvanlar sakrifiye edilmişlerdir. Çalışmanın sonucunda östrojen eksikliği ile sonuçlanan overektomi, osteoentegre implantın etrafındaki kansellöz kemiğin radyografik olarak dansitesini kötü etkilemiştir. Östrojen ve bifosfonat tedavisi yapılan gruplarda, kemik kaybı önemli ölçüde önlenmiştir, fakat alendronat tedavisi yapılan grupta özellikle kansellöz kemikte olmak üzere daha yüksek kemik dansitesi izlenmiştir.

Zoledronik asit, hidroksiapatite yüksek afinite gösteren, yeni jenerasyon bifosfonat çeşididir (Qj ve ark., 2012). Zoledronik asitin kullanımı FDA tarafından 2001 yılında onaylanmıştır (Durie ve ark., 2005). Kemikteki yarılanma ömrünün 10 yıldan fazla olduğu tahmin edilmektedir (Kimmel, 2007). Multiple myeloma, metastatik meme kanseri, maligniteye bağlı hiperkalsemi, Paget hastalığı ve solid tümörlerin kemik metastazlarında etkinliği kanıtlanmıştır (Novartis, 2004). Nitrojen içeren bir bifosfonat olan zoledronik asit postmenapozal kemik kaybını önlemede kullanılır ve yılda tek doz olmak üzere uygulanır. Zoledronik asitin osteoporoz durumunda kemik dansitesini artırdığı, kemik remodelasyonunu ve kırık riskini azalttığı gösterilmiştir (Black ve ark., 2007; Coleman ve ark., 2011).

Brennan ve ark. (Brennan ve ark., 2011) osteoporotik koyun modelinde yaptıkları çalışmalarında östrojen eksikliğinin ve bifosfonat tedavisinin dokunun mineralizasyonu ve dayanıklılığı üzerine etkisini incelemişlerdir. Östrojen eksikliğinin ve zoledronik asit tedavisinin kemiğin mineral içeriğini ve mekanik özelliklerini değiştirdiğini rapor etmişlerdir.

Dikicier ve ark. (Dikicier ve ark., 2014) overektomize rat modelinde yaptıkları çalışmalarında implant osseointegrasyonuna, sistemik uygulanan zoledronik asitin etkilerini incelemişler. Histomorfometrik analiz sonucunda, zoledronik asitin implant-kemik kontağını büyük oranda artırdığını rapor etmişlerdir.

Tatlı ve ark. (Tatlı ve ark., 2011) çalışmalarında zoledronik asitin mandibular fraktür üzerine etkisine bakmışlardır. 36 yeni Zelanda tavşanı üzerinde çalışmışlardır.

Tavşanlar 2 gruba ayrılmıştır. Tüm tavşanlarda deneysel olarak mandibula korpus kırığı oluşturulmuştur. İşlem sırasında deney grubuna tek doz intravenöz 0.1 mg/kg zoledronik asit uygulanırken kontrol grubuna serum fizyolojik uygulanmıştır. Tüm hayvanlar 21. günde sakrifiye edilmiştir. Biyomekanik testler, zoledronik asitin iyileşmiş kemik gücünde ciddi bir artışa sebep olduğunu göstermiştir. Çalışmacılar, zoledronik asitin mandibular kırıkta kemik iyileşmesini artırdığını ve hızlandırdığını bildirmişlerdir.

Şener ve ark. (Şener ve ark., 2013) çalışmalarında osteoporotik hayvan modelinde mandibular kırık iyileşmesine ZA'nın etkisini incelemiştir. Overektomize ratların mandibulalarında osteotomi işlemi gerçekleştirmişler ve miniplaklar yerleştirmişlerdir. Ratları rastgele 4 gruba ayırmışlardır. 7 gün sonra 3. ve 4. grup hayvanlara 0,1 mg/kg ZA enjeksiyonu yapılırken; kontrol grubu olan 1. ve 2. grup hayvanlara ise 0,1 mg/kg saline solüsyonu enjeksiyonu yapılmıştır. Operasyon sonrası 1. ve 3. grup hayvanlar dördüncü haftada; 2. ve 4. grup hayvanlar ise sekizinci haftada sakrifiye edilmiştir. Fraktür aralığındaki yeni kemik miktarını incelemişler. ZA grubunda yeni kemik formasyonunda artış olduğunu fakat farklılığın istatistiksel olarak kontrol grubuna kıyasla önemli olmadığını rapor etmişlerdir.

Pampu ve ark. (Pampu ve ark., 2008) çalışmalarında, distraksiyon osteogenezisinde zoledronik asitin etkisini histomorfometrik olarak incelemiştir. 18 Yeni Zelanda tavşanı kontrol ve deney olarak 2 gruba ayrılmış ve 5 gün boyunca her 12 saatte bir 0.5 mm oranında olmak üzere distraksiyon osteogenezisi ile beraber mandibulalarının sol kısmının uzatılması işlemi gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubuna operasyon sırasında serum infüzyonu yapılırken deney grubuna intravenöz zoledronik asit uygulaması yapılmıştır. Histolojik değerlendirme sırasında, kontrol grubunda düzensiz kemik rezorbsiyon bölgeleri izlenirken deney grubunda düzenli kemik iyileşme alanları gözlemlenmiştir. Ayrıca deney grubunda yeni kemik alanlarıyla beraber dikkat çeken osteoblastik aktivite ve artmış kan damarları ve fibroblastlar izlenmiştir. Sonuç olarak zoledronik asitin yeni kemik formasyonu üzerinde pozitif etkisi olduğunu ve konsolidasyon periodunu kısaltabileceğini bildirmişlerdir.

Nitrojen içerikli son jenerasyon bifosfonatlardan olması ve bilinen en güçlü ve en uzun süreli etkiye sahip bifosfonat olması nedenleriyle Ağız, Diş Ve Çene Cerrahisi kliniğinde kullanılabilirliğinin ortaya konulması için bu çalışmada overektomi ile

osteoporoz modeli oluşturulmuş tavşanlarda ZA'nın diş çekim yarası üzerine etkisi araştırılmıştır.

Diş çekimini takiben ortaya çıkan kemik rezorbsiyonuna bağlı olarak kaybedilen dokunun yerine konma ihtiyacı büyük problemdir. Çekim soketinin iyileşmesi tam olarak anlaşılmasına rağmen, iyileşme sistemik ve lokal faktörler içerir (Mercier, 1988). Diş kaybından sonra alveolar kemik yükseklik ve genişliğinin korunması, eksik dişlerin dental implantlarla restore edilmesinde esastır (Altundal ve Guvener, 2004; Nair Pn ve Schug, 2004). Kemik rezorbsiyonunun etkili biçimde bifosfanat tedavisiyle önlenmesi, bifosfanatları oral cerrahi alanında uygulamaya yöneltmiştir (Altundal ve ark., 2007). Alendronatın, ratlarda diş çekimi sonrası alveolar kemik rezorbsiyonu üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Altundal ve Guvener, 2004).

Jee ve ark. (Jee ve ark., 2010) overektomize ratlarda diş çekimi soketinin iyileşmesine alendronatın etkisini bilgisayarlı tomografi ile incelemişlerdir. Ratlar üzerinde yaptıkları çalışmalarını sham cerrahi yapılan, overektomi+serum fizyolojik uygulanan ve overektomi+alendronat uygulanan olmak üzere 3 grup şeklinde gerçekleştirmişlerdir. Sham cerrahi yapılan hayvanlar hariç tüm hayvanlara overektomi işlemi yapılmış ve tüm hayvanların sol 1. maksiller molarları çekilmiştir. 1 hafta sonra serum grubuna günlük 0,1 mL/ 100 g, alendronat grubuna ise 1 mg/kg olacak şekilde subkutanöz enjeksiyonlar yapılmıştır. Sonuç olarak; alendronatın östrojen eksikliği olan ratlarda çekim soketinin iyileşmesine ve çekim soketi etrafındaki alveolar kemiğin kaybının önlenmesine yardımcı olduğunu bildirmişlerdir.

Preklinik hayvan deneylerinde sistemik olarak i.v. ve s.c. uygulanan ZA için çeşitli dozlar denenmiştir (Bilston ve ark., 2002; Little ve ark., 2003; 2005; Glatt ve ark., 2004; Bobyn ve ark., 2005; Astrand ve ark., 2006; Gasser ve ark., 2006; Pampu ve ark., 2006; Tagil ve ark., 2006; Valimaki ve ark., 2006; Amanat ve ark., 2007; Yao ve ark., 2007). Bu dozlar arasında en çok tercih edileni ise 0,1 mg/kg ZA uygulamasıdır. Bunun en büyük sebebi de, hayvan deneylerinde kullanılan 0,1 mg/kg'lık dozun, insandaki 0,067 mg/kg'lık klinik doza eşdeğer olmasıdır. Bu da 65 kg ağırlığında yetişkin bir insan için yaklaşık 4,5 mg'lık doz anlamına gelmektedir (Little ve ark., 2003). Böylece hayvan deneylerinde kullanılan 0,1 mg/kg'lık doz, klinikte insan için kullanılacak terapötik doza en yakın seçenektir. Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda kullanılan deneklere 0,1 mg/kg dozunda intravenöz olarak ZA uygulanmıştır.

Biyolojik markerler hekimlikte süregiden enflamasyonun tipini ve aktivitesini belirlemede, tedaviye cevabı izlemede sıklıkla kullanılmaktadır. Dokularda ortaya çıkan enflamatuvar değişiklikler sırasında gelişen immun yanıtı gösteren, TNF- α 'nın oluşan enflamasyonun durumunun belirlenmesinde kullanılabileceği farklı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmada çalışma gruplarında belirlenen TNF- α seviyeleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplara ait değerler 2'şerli karşılaştırıldığında kontrol ile ZOL grupları arasındaki farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$) diğer gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Bu durum diş çekim sonrası uygulanan ZA'nın oluşan enflamasyonun şiddetini ve süresini azalttığı şeklinde yorumlanabilir. Benzer şekilde TNF- α seviyeleri üzerinden yapılan bu yorum çalışmada elde edilen histopatolojik bulgularla da örtüşmektedir, şöyle ki çalışmada az olarak belirlenen mononükleer hücre infiltrasyonu skoru ZOL grubunda % 50 oranında, orta olarak belirlenen mononükleer hücre infiltrasyonu skoru OVX grubunda % 87,5 oranında belirlenmiştir. Yoğun olarak belirlenen mononükleer hücre infiltrasyonu skoruna ise sadece kontrol grubunda rastlanmıştır.

Benzer şekilde BMP'lerin uygun bir taşıyıcı ile implante edildikleri zaman; undiferansiye mezenkimal hücrelerin kemotaksis ile aktive edilerek migrasyonlarına ve osteoblastlara dönüşmelerine, kemik matriksi depolanmasına, yeni depo edilen kemik matriksinin mineralizasyonuna ve kemik iliği diferansiyasyonuna neden oldukları gösterilmiştir (Ripamonti ve Duneas, 1998; Reddi, 2000). Bu özellikleri nedeniyle BMP'lerin kemik hasarının ve iyileşmesinin izlenmesinde kullanılabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Literatür ışığında çalışma gruplarında belirlenen BMP2 seviyeleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılıkların istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($p<0,05$) olması ve gruplara ait değerlerin 2'şerli karşılaştırıldığında kontrol ile ZOL grubu arasındaki farkın önemli ($p<0,05$) bulunması ZA'nın diş çekim soketindeki yeni kemik oluşumuna katkı sağladığı şeklinde yorumlanabilir. Yine histopatolojik incelemelerde elde edilen ossifikasyon skorları karşılaştırıldığında çalışma gruplarında az olarak belirlenen ossifikasyon skoru kontrol grubunda % 62,5 oranında, orta olarak belirlenen ossifikasyon skoru OVX grubunda % 62,5 oranında belirlenmiştir. Yoğun olarak belirlenen ossifikasyon skoruna ise yalnızca ZOL grubunda % 37,5 oranında rastlanmıştır. Bu sonuçlar çalışmada belirlenen BMP2 seviyeleriyle örtüşmekte ve ZA'nın diş çekim sonrası çekim yarasının iyileşmesine katkı sağlayacağı yönündeki tezimizi güçlendirmektedir.

VEGF'nin, endotelial hücreler, kondrositler (Gerber ve ark., 1999), trombositler, megakaryositler, lenfositler ve plazma hücrelerinden salındığı, hedef hücrelerinin osteoblastlar ve endotelial hücreler olduğu, biyolojik fonksiyonlarının anjiyogenez (Street ve ark., 2002; Maloney ve ark., 1998), neovaskülarizasyon, kartilaj ve kemik büyümesi ve tamiri olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Banks ve ark., 1998). Bu çalışmada gruplara ilişkin VEGF değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Belirlenen bu serolojik sonuç mikroskobik olarak belirlenen vaskülarizasyon skorları ile de uyumludur.

Bu çalışmada, osteoporotik tavşan modelinde diş çekimi socketinin iyileşmesini incelemek amacıyla, 12 hafta sonra sakrifiye edilen tavşanlardan elde edilen kemik doku ve serum örnekleri histopatolojik ve serolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızın histolojik bulgularına göre kontrol ve deney grupları arasında osteoklast artışı, ossifikasyon, vaskülarizasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu bakımından anlamlı bir fark bulunmazken, çekim yarası organizasyonu açısından gruplar arası fark anlamlı bulunmuştur. Çalışmamızın serolojik bulgularına göre; kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında BMP2 ve TNF- α açısından gruplar arası fark önemli bulunurken, VEGF açısından gruplar arası fark bulunmamıştır.

Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre ZA'nın intravenöz olarak uygulamasının diş çekim yarasının iyileşmesinde güvenli ve etkin olarak kullanılabileceği görülmüştür, bu bakımdan çalışmamızın sonucu literatürdeki birçok çalışma ile uyumluluk göstermektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların klinikte zoledronik asit kullanımı konusunda literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

6 SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Tavşanlarda overektomi ile oluşturulan osteoporoz modelinde ZA'nın diş çekim yarası üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada elde edilen bulguların değerlendirilmesi ile aşağıda verilen sonuçlara varılmıştır:

- Çalışmada, overektomi sonrası oluşan osteoporoz modelinde diş çekimi öncesinde uygulanan ZA'nın diş çekim yarasının iyileşme sürecinde olumlu etkilerinin olabileceği serum TNF- α , BMP2 ve VEGF seviyeleri ile ortaya konulmuştur.
- Histolojik incelemeler sonucunda ZA uygulaması sonucu diş çekim yarasında ortaya çıkan enflamasyonun şiddetinde anlamlı olmasada göreceli azalma görüldü.
- Histolojik incelemeler sonucunda ZA uygulaması sonucu diş çekim yarasında ortaya çıkan ossifikasyonda anlamlı olmasada göreceli artış görüldü.

Çalışmadan elde edilen bulguların ışığında; Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi kliniklerine başvuran osteoporotik hastalarda diş çekimi öncesinde ZA uygulamasının yararlı olabileceği kanaatine varılmıştır. Bununla birlikte bu deneysel çalışmadan elde edilen sonuçların klinik etkinliğinin ve güvenilirliğinin değerlendirilebilmesi ve overektomi işleminin sonuçlarının ve zoledronik asitin olumlu etkilerinin daha net ortaya konulabilmesi için daha uzun dönem iyileşmenin değerlendirildiği ileri çalışmaların tasarlanması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas, A., Lichtman, A.H., Pober, J.S. (2000). Cytokine In Cellular and Molecular Immunology. W. B Saunders Company Philadelphia, 235-269.
- Akarşlan, Z.Z., Kahraman, S.A. (2008). Kemik metastazı yapmış prostat kanseri tedavisinde kullanılan bifosfonata bağlı olarak çene kemiklerinde gelişen osteonekroz: vaka raporu ve literatür derlemesi. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg*, 18:105-10.
- Alpaslan, C., Irie, K., Takahashi, K., Ohashi, N., Sakai, H., Nakajima, T., Ozowa, H. (1996). Long term evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 induced bone formation with a biologic and synthetic delivery system. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 34(5):414-418.
- Altay, A. (2006). Düşük yoğunluklu atılımlı ultrasonun deney hayvanlarında kemik iyileşmesi üzerine etkisinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 83s.
- Altundal, H., Guvener, O. (2004). The effect of alendronate on resorption of the alveolar bone following tooth extraction. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 33(3):286-93.
- Altundal, H., Sayrak, H., Yurtsever, E., Göker, K. (2007). Inhibitory effect of alendronate on bone resorption of autogenous free bone grafts in rats. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 65(3):508-516.
- Amanat, N., McDonald, M., Godfrey, C., Bilston, L., Little D. (2007). Optimal timing of a single dose of zoledronic acid to increase strength in rat fracture repair. *Journal of Bone and Mineral Research*, 22(6):867-876.
- Amsellem, M., Masson, J.M., Negui, B. (1987). Endotelon in the tratment of venolymphatic problems in premenstrual syndrome. Multicenter study on 165 patients. *Tempo Medical*, 282:46-51.
- Anapol, F., Muhl, Z., Fuller, J. (1987). The force velocity relations of the rabbit digastrics muscle. *Arch Oral Biol*, 32:93-9.
- Aparicio, A., Gardner, A., Tu, Y., Savage, A., Berenson, J., Lichtenstein, A. (1998). In vitro cyto reductive effects on multiple myeloma cells induced by bisphosphonates. *Leukemia*, 12(2):220-229.
- Arşlan, A.H. (2004). Postmenopozal osteoporozun mandibulaya etkilerinin dansitometrik açıdan incelenmesi ve osteoporozlu hastalarda implant uygulamaları. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- Arslan, H., Ketani, A., Gezici, A., Kapukaya, A., Necmioglu, S., Kesemenli, C., Su, M. (2003). The effects of osteoporosis on distraction osteogenesis: an experimental study in a rabbit model. *Acta Orthop Belg*, 69(1):67-73.
- Ashcroft, A.J., Davies F.E., Morgan, G.J. (2003). Aetiology of bone disease and the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *Lancet Oncol*, 4(5):284-92.
- Aslan, M. (2002). Kemik defektlerinin iyileşmesinde heterojen kemik greftinin ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu yönteminin etkilerinin incelenmesi ve karşılaştırılması. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 59.
- Astrand, J.A., Harding, A.K., Aspenberg, P., Tagil, M. (2006). Systemic zoledronate treatment both prevents resorption of allograft bone and increases the retention of new formed bone during revascularization and remodelling: A bone chamber study in rats. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 7(1):63.
- Bagi, C.M., Wilkie, D., Georgelos, K., Williams, D., Bertolini, D. (1997). Morphological and structural characteristics of the proximal femur in human and rat. *Bone*, 21(3):261-7.
- Ballı, B. (2004). Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. Bitirme tezi, İ.Ü. Dışhekimliği fakültesi, İstanbul.
- Bancroft, J.D., Stevens, A. (1996). Theory And Practice Of Histological Techniques (Fourth edition). Churchill Livingstone, New York, Chapter 15, *Bone*, 309-339.
- Banks, R., Forbes, M., Kinsey, S., Stanley, A., Ingham, E., Walters, C. (1998). Release of the angiogenic cytokine VEGF from platelets; significance for VEGF measurements and cancer biology. *Br J Cancer*, 77(6):956-64.
- Bauer, D.C., Sklarin, P.M., Stone, K.L., Black, D.M., Nevitt, M.C., Ensrud, K.E., Arnaud, C.D., Genant, H.K., Garnero, P., Delmas, P.D., Lawaetz, H., Cummings, S.R. (1999). Biochemical markers of bone turnover and prediction of hip bone loss in older women: the study of osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res*, 14(8):1404-1410.
- Beikler, T., Flemmig, T.F. (2003). Implants in the medically compromised patient. *Crit Rev Oral Biol Med*, 14(4):305-316.
- Benford, H.L., McGowan, N.W., Helfrich, M.H., Nuttall, M.E., Rogers, M.J. (2001). Visualization of bisphosphonate induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone*, 28(5):465-473.

- Berenson, J., Hirschberg, R. (2004). Safety and convenience of a 15-minute infusion of zoledronic acid. *The Oncologist*, 9(3):319-329.
- Biasotto, M., Chiandussi, S., Zacchigna, S., Moimas, S., Dore, F., Pozzato, G., Cavalli, F., Zanconati, F., Contardo, L., Giacca, M., Di, L.R. (2010). A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *J Oral Pathol Med*, 39(5):390-396.
- Bilgili, H., Kosar, A., Kurt, M., Önal, I.K., Göker, H., Çaptug, Ö., Shorbagi, A., Turgut, M., Kekilli, M., Kar, K.Ö., Kirazlı, S., Aksu, S., Haznedaroğlu, İ.Ç. (2009). Hemostatic efficacy of Ankaferd Blood Stopper® in a swine bleeding model. *Medical Principles and Practice*, 18(3):165-169.
- Bilston, L.E., Little, D.G., Smith, N.C., Williams, P., Briody, J. (2002). Zoledronic acid improves the mechanical properties of normal and healing bone. *Clinical Biomechanics*, 17(9):716-718.
- Black, D.M., Delmas, P.D., Eastell, R., Reid, I.R., Boonen, S., Cauley, J.A., Cosman, F., Lakatos, P., Leung, P.C., Man, Z., Mautalen, C., Mesenbrink, P., Hu, H., Caminis, J., Tong, K., Rosario-Jansen, T., Krasnow, J., Hue, T.F., Sellmeyer, D., Eriksen, E.F., Cummings SR; HORIZON Pivotal Fracture Trial. (2007). Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*, 356(18):1809-1822.
- Blomen L.J.M.J. (1995). History of the bisphosphonates: discovery and history of the non medical uses of bisphosphonates. *Bisphosphonate on Bones*, 111-124.
- Boby, J.D., Hacking, S.A., Krygier, J.J., Harvey, E.J., Little, D.G., Tanzer, M. (2005). Zoledronic acid causes enhancement of bone growth into porous implants. *Bone & Joint Journal*, 87(3):416-420.
- Bock, O., Felsenberg, D. (2008). Bisphosphonates in the management of postmenopausal osteoporosis-optimizing efficacy in clinical practice. *Clinical Interventions in Aging*, 3(2):279-297.
- Boissier, S., Ferreras, M., Peyruchaud, O., Magnetto, S., Ebetino, F.H., Colombel, M. (2000). Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *Cancer Research*, 60(11):2949-2954.
- Boyd, S.K., Moser, S., Kuhn, M., Klinck, R.J., Krauze, P.L., Muller, R., Gasser, J.A. (2006). Evaluation of three-dimensional image registration methodologies for in

- vivo micro-computed tomography. *Annals of Biomedical Engineering*, 34(10):1587-1599.
- Boyne, P.J., Marx, R.E., Nevins, M., Triplett, G., Lazaro, E., Lilly, L.C. (1997). A feasibility study evaluating rhbmp-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*, 17(1):11-25.
- Bölükbaşı, N. (2004). Alveol kemiği implant ilişkisi. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Implantoloji Anabilim Dalı, Seminer çalışması, İstanbul.
- Brennan, O., Kennedy, O.D., Lee, T.C., Rackard, S.M., O'Brien, F.J., McNamara, L.M. (2011). The effects of estrogen deficiency and bisphosphonate treatment on tissue mineralisation and stiffness in an ovine model of osteoporosis. *Journal of Biomechanics*, 44(3):386-390.
- Broughton, G., Janis, J.E., Attinger, C.E. (2007). Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg*, 117:1-31.
- Brown, J.P., Josse, R.G. (2002). Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Osteoporosis Society of Canada. *Osteoporosis update*, 1:19.
- Cao, T., Shirota, T., Han, Y., Tokugawa, Y., Motohashi, M., Yamazaki, M., Ohno, K., Michi, K. (1999). Mandibular bone changes in ovariectomized rabbits. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 28:51-52.
- Cao, T., Shirota, T., Yamazaki, M., Ohno, K., Michi, K.I. (2001) Bone mineral density in mandibles of ovariectomized rabbits. *Clin Oral Implants Res*, 12(6):604-648.
- Carswel, E.A., Old, L.J., Kassel, R.L., Gren, S., Fiore, N., Williamson, B. (1975). An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(9):3666-3670.
- Chen, D., Zhao, M., Mundy, G.R. (2004) Bone Morphogenetic Proteins. *Growth Factors*, 22(4): 233–241.
- Cheng, A., Mavrokokki, A., Carter, G., Stein, B., Fazzalari, N.L., Wilson, D.F., Goss, A.N. (2005). The dental implications of bisphosphonates and bone disease. *Australian Dental Journal*, 50: 4-13.
- Christiansen, C., Riis, B.J., Rodbro, P. (1987). Prediction of rapid bone loss in postmenopausal women. *The Lancet*, 329(8542):1105-1108.
- Chung, K.F., Barnes, P.J. (1999). Cytokines in asthma. *Thorax*, 54(9):825-57.
- Clara, M., Maskar, Ü. (1972). Histoloji I (2.Baskı). Sermet Matbaası, İstanbul.

- Clazardin, P. (2005). Antitumor activity of zoledronic acid. *Cancer treatment reviews*, 31:1-8.
- Coleman, R., Burkinshaw, R., Winter, M., Neville-Webbe, H., Lester, J., Woodward, E., Brown, J. (2011). Zoledronic acid. *Expert opinion on drug safety*, 10(1):133-145.
- Coleman, R.E. (2004). Bisphosphonates: clinical experience. *The Oncologist*, 9(Suppl):14-27.
- Coleman, R. (2011). The use of bisphosphonates in cancer treatment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1218(1):3-14.
- Consensus Development Conference on Osteoporosis. (1993). *Am J Med*, 95:5-16.
- Cormack, D.H. (1993). Essential Histology. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, Chapter 8, Dense Connective Tissue, Cartilage, Bone, and Joints, 159-190.
- Cowin, S. (2001). Bone Mechanics Handbook. CRC Press: Boca, Raton, London, New York, Washington. 1:1-68, 2: 1-24.
- Coxon, F.P., Helfrich, M.H., Van't Hof, R., Sebt, S., Ralston, S.H., Hamilton, A., Rogers, M.J. (2000). Protein geranylgeranylation is required for osteoclast formation, function, and survival: inhibition by bisphosphonates and GGTI-298. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15(8):1467-1476.
- Crépin, S., Laroche, M.L., Sarry, B., Merle, L. (2010). Osteonecrosis of the jaw induced by clodronate, an alkylbiphosphonate: case report and literature review. *European journal of clinical pharmacology*, 66(6):547-554.
- Currie, L.J., Sharpe, J.R., Martin, R. (2001). The use of fibrin glue in skin grafts and tissue-engineered skin replacements. *Plast Reconstr Surg*, 108:1713-26.
- Dale, L., Jones, C.M. (1999). BMP signalling in early *Xenopus* development. *Bioessays*, 21(9): 751–760.
- Darby, I., Chen, S., Buser, D. (2009). Ridge preservation techniques for implant therapy. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 24(Suppl):260–271.
- Darby, I., Chen, S., De Poi, R. (2008). Ridge preservation: what is it and when should it be considered. *Australian Dental Journal*, 53(1):11–21.
- Daroszewska, A., Ralston, S.H. (2005). Genetics of Paget's disease of bone. *Clinical Science*, 109(3):257-263.
- Deglurkar, M., Davy, D.T., Stewart, M., Goldberg, V.M., Welter, J.F. (2007). Evaluation of machining methods for trabecular metal implants in a rabbit intramedullary osseointegration model. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 80(2):528-540.

- Dempster, D.W., Birchman, R., Xu, R., Lindsay, R., Shen, V. (1995). Temporal changes in cancellous bone structure of rats immediately after ovariectomy. *Bone*, 16(1):157-61.
- Department of Health and Human Services (2004). Bone health and osteoporosis: a report of the Surgeon-General. Rockville: US Department of Health and Human Services, Office of the Surgeon General.
- Dequeker, J., Mundy, G.R. (2000). Management of osteoporosis. *Rheumatol*, 11:391-394.
- Devlin, H., Ferguson, M.W.J. (1990). The rate of incisor dentine calcification and of mandibular growth in the molar region of the ovariectomized rat. *Archives of oral biology*, 35(1):29-32.
- Dikicier, E., Karaçaylı, Ü., Dikicier, S., Günaydın, Y. (2014). Effect of systemic administered zoledronic acid on osseointegration of a titanium implant in ovariectomized rats. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 42(7):1106-1111.
- Dilşen, G. (2002). Osteoporozun Epidemiyolojisi, Osteoporoz (1. Baskı). Epsilon Matbaacılık, İstanbul, 11-23.
- Dimitrakopoulos, I., Magopoulos, C., Karakasis, D. (2006). Bisphosphonate-induced avascular osteonecrosis of the jaws: a clinical report of 11 cases. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 35(7):588-593.
- Doblare, M., Garcia, J.M. (2003). On the modelling bone tissue fracture and healing of the bone tissue. *Acta Cientifica Venezolana*, 54(1):58-75.
- Dolgitser, M., Stern, L., Katz, L.M., Doyle, J.J., Omar, M., Seton, M., Kahler, K.H. (2007). Bisphosphonate use in the treatment of Paget's disease of the bone: analysis of claims in a large database. *Managed care interface*, 20(2):33-40.
- Dunford, J.E., Thompson, K., Coxon, F.P., Luckman, S.P., Hahn, F.M., Poulter, C.D., Ebetino, F.H., Rogers, M.J. (2001). Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl disphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 296(2):235-242.
- Durie, B.G., Katz, M., Crowley, J. (2005). Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates. *N Engl J Med*, 353(1):99-102.
- Duthie, R.B. (1989). Bone and Joint Tissues. In: Kyle, J., Karey, L.C. (eds). *Scientific Foundations of Surgery* (4.ed). Heinemann Medikal Books, Londra, 150-166.
- Eastell, R., Walsh, J.S., Watts, N.B., Siris, E. (2011). Bisphosphonates for postmenopausal osteoporosis. *Bone*, 49(1):82-88.

- Egermann, M., Goldhahn, J., Schneider, E. (2005). Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporosis international*, 16(2):129-138.
- Elsubeihi, E.S., Bellows, C.G., Jia, Y., Heersche, J.N.M. (2007). Ovariectomy of 12-month-old rats: effects on osteoprogenitor numbers in bone cell populations isolated from femur and histomorphometric parameters of bone turnover in corresponding tibia. *Cell and Tissue Research*, 330(3):515–26.
- Erdemir, E.O., Duran, I., Haliloğlu, S. (2004). Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in patients with chronic periodontitis, *Journal of Clinical Periodontology*, 31(2):99-104.
- Erdoğan, D., Hatipoğlu, M., Görgün, M. ve Ilgaz, C. (1999). Genel Histoloji, Hatipoğlu Yayın Evi, Ankara, 107–117.
- Ergün, S., Güneri, P., Koca, H. (2008). Çene kemiklerinin yeni tehlikesi: bifosfonatlar. *Cumhuriyet Dental Journal*, 11(2):134-139.
- Erickson, G.F. (1987). The ovary: basic principles and concepts. In: Felig, P., Baxter, J.D., Broadus, A.E., Frohman, L.A., editors. *Endocrinology and metabolism* (2nd ed.). New York: McGraw-Hill Book Company, 905-83.
- Erkan, Ö. (2000). Postmenapozal osteoporozlu kadınlarda egzersizin kemik mineral yoğunluğu ve yaşam kalitesi üzerindeki etkileri. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon A.D. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Ertüngealp, E., Seyisoğlu, H. (Editörler). (2000). Menopoz ve osteoporoz tarihçesi. *Ulusal Menopoz ve Osteoporoz Derneği, İstanbul*, 1-10.
- Eryavuz, S.M. (2005). Osteoporozun Tanımı ve Sınıflandırılması (2. Baskı). Güneş Kitabevi, Ankara, 1-4.
- Evans, C.E., Braidman, I.P. (1994). Effects of two novel bisphosphonates on bone cells, in vitro. *Bone and Mineral*, 26(2):95-107.
- Fawcett, D.W., Jensch, R.P. (2002). Bloom & Fawcett's Concise Histology (Second Edition). Arnold, a member of the Hodder Headline Group, London, Chapter 6, Bone, 87-99.
- Ferrara, N., Gerber, H.P., LeCouter, J. (2003). The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine*, 9(6):669-76.
- Ferrara, N., Henzel, W.J. (1989). Pituitary follicular cells secrete a novel heparinbinding growth factor spesific for vascular endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 161(2):851-858.

- Feskanich, D., Willett, W., Colditz, G. (2002). Walking and leisure-time activity and risk of hip fracture in postmenopausal women. *Jama*, 288:2300-2306
- Fleisch, H. (1995). Bisphosphonates in Bone Disease From the Laboratory to the Patient (2. Baskı). Parthenon Publishing, İngiltere, 115-136.
- Fleisch, H. (1998). Bisphosphonates: mechanisms of actions. *Endocrine Reviews*, 19(1):80-100.
- Fonseca, R.J., Walker, R.V., Betts, N.J., Barber, H.D., Powers, M.P. (2005). Oral and Maxillofacial Trauma (3rd edition). Elsevier Saunders, China, 1:42-55.
- Food and Drug Administration (1994). Guidelines for Preclinical and Clinical Evaluation Agents Used in the Prevention or Treatment of Postmenopausal Osteoporosis. Rockville, MD, USA: Division of Metabolic and Endocrine Drug Products, Food and Drug Administration.
- Friedlander, A.H. (2002). The physiology, medical management and oral implications of menopause. *The Journal of the American Dental Association*, 133(1):73-81.
- Fujimoro, K., Bessho, K., Kusumoto, K., Konishi, Y., Ogowa, Y., Lizuka, T. (2001). Experimental osteoinduction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 in tissue with low blood flow: a study in rats. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 39(4):294-300.
- Gambert, S.R., Schultz, B.M., Handy, R.C. (1995). Osteoporosis clinical features prevention and treatment. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 24(2):317-371.
- Gao, Y., Luo, E., Hu, J., Xue, J., Zhu, S., Li, J. (2009). Effect of combined local treatment with zoledronic acid and basic fibroblast growth factor on implant fixation in ovariectomized rats. *Bone*, 44(2):225-232.
- Gao, Y., Zou, S., Liu, X., Bao, C., Hu, J. (2009). The effect of surface immobilized bisphosphonates on the fixation of hydroxyapatite-coated titanium implants in ovariectomized rats. *Biomaterials*, 30(9):1790-1796.
- Garant, P.R. (2003). Oral Cells And Tissues, Quintessence Publishing Co. Inc. Illinois: Chapter 7-8, 442-57p.
- Gartner, L.P., Hiatt, J.L. (2001). Color Textbook Of Histology (Second edition). W.B. Saunders Company, Philadelphia, Chapter 7, Cartilage and Bone, 129-153.
- Gasser, J.A., Green, J.R., Shen V., Ingold, P., Rebmann, A., Bhatnagar, A.S., Evans, D.B. (2006). A single intravenous administration of zoledronic acid prevents the bone

- loss and mechanical compromise induced by aromatase inhibition in rats. *Bone*, 39(4):787-795
- Geddes, A.D. (1996). Animals models of bone disease. In: Bilezikians, J.P., Raisz, L.G., Rodan, G.A., editors. *Principals of Bone Biology*. San Diego: Academic Press, 1343–54.
- Gehron-Robey, P., Boskey, A.L. (1996). *The biochemistry of bone in Osteoporosis*. Academic Pres.: San Diego.
- Gerber, H.P., Vu, T.H., Ryan, A.M., Kowalski, J., Werb, Z., Ferrara, N. (1999). VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nature medicine*, 5(6):623-628.
- Giannobile, W.V. (1996). Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone*, 19(1):23-37.
- Gilsanz, V., Roe, T.F., Gibbens, D.T., Schulz, E.E., Carlson, M.E., Gonzalez, O., Boechat, M.I. (1988). Effect of sex steroids on peak bone density of growing rabbits. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 255(4):416-421.
- Giro, G., Gonçalves, D., Sakakura, C.E., Pereira, R.M.R., Júnior, E.M., Orrico, S.R.P. (2008). Influence of estrogen deficiency and its treatment with alendronate and estrogen on bone density around osseointegrated implants: radiographic study in female rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 105(2):162-167.
- Glatt, M., Pataki, A., Evans, G.P., Hornby, S.B., Green, J.R. (2004). Loss of vertebral bone and mechanical strength in estrogen-deficient rats is prevented by long-term administration of zoledronic acid. *Osteoporosis International*, 15(9):707-715.
- Goaz, P.M., White, S.C. (1994). *Osteoporosis, Oral radiology principles and interpretation* (3.ed). Mosby-Year Book.
- Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. (2006). (Brunton, Lazo, Parker) Eleventh edition, Mc GrawHill.
- Göksoy, T. (2000). Osteoporoz Tanımı ve Giriş. In: Göksoy T. *Osteoporozda Tanı ve Tedavi* (1. Baskı). Özlem Grafik Matbaacılık, İstanbul, 3–6.
- Gönül, O. (2009). Oral cerrahi işlemlerde uygulanan lokal hemostatik ajanların tükürük ve doku parametreleri uterine etkilerinin incelenmesi. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İstanbul.

- Graves, D.T., Cochran, D. (2003). The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of periodontology*, 74(3):391-401.
- Green, J.R. (2004). Bisphosphonates: preclinical review. *The Oncologist*, 9(Supplement 4):3-13.
- Green, J.R. (2001). Chemical and biological prerequisites for novel bisphosphonate molecules: results of comparative preclinical studies. *Semin Oncol.*, 28:4-10.
- Greenspan, F.S. (1991). Basic and clinical endocrinology. Goldfien, A., Monroe, S.E., editors. Ovaries. Englewood Cliffs, CT: Prentice- Hall International Inc., Appleton & Lange, 442-8.
- Gregg, E.W., Cauley, J.A., Seeley, D.G., Ensrud, K.E., Bauer, D.C. (1998). Physical activity and osteoporotic fracture risk in older women. *Annals of internal medicine*, 129(2):81-88.
- Groeneveld, E.H., Burger, E.H. (2000). Bone morphogenetic proteins in human bone regeneration. *European journal of endocrinology*, 142(1):9-21.
- Groen, J.J., Duyvensz, F., Halsted, J.A. (1960). Diffuse alveolar atrophy of the jaw (non inflammatory form of paradental disease) and pre-senile osteoporosis. *Gerontologia clinica*, 2(2):68-86.
- Gustav, O.K. (1961). Textbook of Oral Surgery (2nd edition). Saint Louis: The C.V. Mosby Company.
- Güngör, F., Türker, M., Güngör, N., Erinanç, A., (1985). Çekim Yaralarında İndometasin'in Lokal ve Sistemik Tatbikinde Prostaglandin Aktivitesinin Deneysel Olarak Saptanması. *Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, II(1):133-144.
- Hahn, B.H. (1993). Osteopenic bone diseases. In: Mc. Carty, D.J., Koopman, W.J., editors. Arthritis and Allied Conditions (12th ed.). London, Lea Febiger, 1927-1954.
- Hikita, H., Miyazawa, K., Tabuchi, M., Kimura, M., Goto, S. (2009). Bisphosphonate administration prior to tooth extraction delays initial healing of the extraction socket in rats. *Journal of bone and mineral metabolism*, 27(6):663-72.
- Hino, S., Murase, R., Terakado, N., Shintani, S., Hamakawa, H. (2005). Response of diffuse sclerosing osteomyelitis of the mandible to alendronate: follow-up study by ^{99m}Tc scintigraphy. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 34(5):576-578.

- Hobar, P. (1992). Implantation: bone, cartilage, and allografts. *Selected Readings Plast Surg*, 7:1–2.
- Hoeben, A., Landuyt, B., Highley, M.S., Wildiers, H., Van Oosterom, A.T., De Bruijn, E.A. (2004). Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacological reviews*, 56(4):549-580.
- Hollinger, J.O., Buck, C.D., Bruder P.S. (1999). Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy. In “Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Chicago: Quintessence, 17-53.
- Horner, K., Devlin, H., Alsop, C.W., Hodgkinson, I.M., Adams, J.E. (1996). Mandibular bone mineral density as a predictor of skeletal osteoporosis. *The British Journal of Radiology*, 69(827):1019-1025.
- Hsieh, Y.D., Devlin, H., McCord, F. (1995). The effect of ovariectomy on the healing tooth socket of the rat. *Archives of Oral Biology*, 40(6):529-31.
- Hughes, D.E., MacDonald, B.R., Russell, R.G., Gowen, M. (1989). Inhibition of osteoclast-like cell formation by bisphosphonates in long-term cultures of human bone marrow. *Journal of Clinical Investigation*, 83(6):1930-1935.
- Im, G.I., Qureshi, S.A., Kenney, J., Rubash, R.E., Shanbhag, A.S. (2004). Osteoblast proliferation and maturation by bisphosphonates. *Biomaterials*, 25(18):4105-4115.
- Abtahi, J., Tengvall, P., Aspenberg, P. (2010). Bisphosphonate coating might improve fixation of dental implants in the maxilla: a pilot study. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 39(7):673-677.
- Jee, J.H., Lee W., Lee B.D. (2010). The influence of alendronate on the healing of extraction sockets of ovariectomized rats assessed by in vivo micro-computed tomography. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 110(2):47-53.
- Jee, W.S.S., Cowin, S.C. editor. (2001) Integrated bone tissue physiology: Anatomy and physiology. Bone Mechanics Handbook (2nd ed.). CRC press, Florida, 1-68.
- Jeffcoat, M.K., Chestnut, C.H. (1993). Systemic osteoporosis and oral bone loss: evidence shows increased risk factors. *The Journal of the American Dental Association*, 124(11):49-56.
- Jergas, M., Glüer, C.C. (1997). Assessment of fracture risk by bone density measurements. In *Seminars in Nuclear Medicine*, 27(3):261–275.

- Junqueira, L.C., Carneiro, J. (2003). Basic Histology (10th ed.). New York, McGraw-Hill, 144-146.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J. (2006). Temel Histoloji, Nobel Tıp Kitabevleri (Çeviri: Aytekin, Y., Solakoğlu, S.), İstanbul, 141–154.
- Junguiera, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. (1998). Temel Histoloji (8.Baskı). Barış Kitabevi Ltd. Sti., İstanbul.
- Kalu, D.N. (1991). The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone and Mineral*, 15(3):175-191.
- Kanis, J.A. (1994). Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. *Osteoporosis international*, 4(6):368-381.
- Kanis, J.A., Melton, L.J., Christiansen, C., Johnston, C.C., Khaltsev, N. (1994). The diagnosis of osteoporosis. *Journal of bone and mineral research*, 9(8):1137-1141
- Kawamoto, S., Nagaoka, E. (2000). The effect of oestrogen deficiency on the alveolar bone resorption caused by traumatic occlusion. *Journal of oral rehabilitation*, 27(7):587–94.
- Kayaalp, O. (2009). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Pelikan Yayınları, İstanbul.
- Kayalar, G., Cevikol, A., Yavuzer, G., Sanisoglu, Y., Cakci, A., Arasil, T. (2009). The value of calcaneal bone mass measurement using a dual Xray laser Calscan device in risk screening for osteoporosis. *Clinics*, 64(8):757-762.
- Keen, R. (2007). Osteoporosis: strategies for prevention and management. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 21(1):109-122.
- Khair, O.A., Davies, R.J., Devalia, J.L. (1996). Bacterial-induced release of inflammatory mediators by bronchial epithelial cells. *European Respiratory Journal*, 9(9):1913-1922.
- Kierszenbaum, A.L. (2006). Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Patolojiye Giriş. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Kimmel, D.B. (1996). Animal models for in vivo experimentation in osteoporosis research. In: Marcus, R., Feldman, D., Kelsey, J., editors. Osteoporosis. Academic Press, San Diego, 671–90.
- Kimmel, D.B. (2007). Mechanism of action, pharmacokinetic profile, clinical applications of nitrogen containing bisphosphonates. *Journal of dental research*, 86(11):1022-1033.

- Kinnon, M.J. (1988). Osteoporosis. *Phys Ther*, 10:1533-1540.
- Kocaelli, H.A. (2000). Korona stimülasyonunun ağız cerrahisi girişimlerinde iyileşme sürecinin etkisinin deneysel araştırılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 88s.
- Kribbs, P.J. (1990). Comparison of mandibular bone in normal and osteoporotic women. *The journal of prosthetic dentistry*, 63(2):218-222.
- Kubler, N.R., Reuther, J.F., Faller, G., Kirchner, T., Ruppert, R. and Sebald, W. (1998). Inductive properties of recombinant human BMP-2 produced in a bacterial expression system. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 27(4):305-309.
- Kuchuk, N.O., Pluijm, S.M., Van Schoor, N.M., Looman, C.W., Smit, J.H., Lips, P. (2009). Relationships of serum 25-hydroxyvitamin D to bone mineral density and serum parathyroid hormone and markers of bone turnover in older persons. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(4):1244-1250.
- Kusumoto, K., Bessho, K., Fujimura, K. and Akioka, J. (1997). Comparison of ectopic osteoinduction in vivo by recombinant human bmp-2 and recombinant xenopus bmp-4/7 heterodimer. *Biochemical and biophysical research communications*, 239(2):575-579.
- Kusumoto, K., Bessho, K., Fujimura, K., Konishi, Y., Ogawa, Y., Lizuka, T. (1996). Selfregenerating bone implant: ectopic osteoinduction following intramuscular implantation of a combination of rhBMP-2, atelopeptide type I collagen and porous hydroxyapatite. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 24(6):360-365.
- Leeson, T.S., Leeson, R.C. (1981). Histology. Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders company, 145-163.
- Lespessailles, E., Jaffre, C., Beaupied, H., Nanyan, P., Dolleans, E., Benhamou, C.L., Courteix, D. (2009). Does exercise modify the effects of zoledronic acid on bone mass, microarchitecture, biomechanics, and turnover in ovariectomized rats?. *Calcified tissue international*, 85(2):146-157.
- Licata, A.A. (2007). Update on therapy for osteoporosis. *Orthopaedic Nursing*, 26(3):162-166.
- Li, E.C., Davis, L.E. (2003). Zoledronic acid: a new parenteral bisphosphonate. *Clinical therapeutics*, 25(11):2669-2708.
- Lindhe, J., Niklaus, P., Lang, T.K. (2008). Bone as a Tissue, in *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Blackwell, 86-98.

- Lipton, A. (2007). Efficacy and safety of intravenous bisphosphonates in patients with bone metastases caused by metastatic breast cancer. *Clinical breast cancer*, 7:14-20.
- Little, D.G., McDonald, M., Bransford, R., Godfrey, C.B., Amanat, N. (2005). Manipulation of the anabolic and catabolic responses with OP-1 and zoledronic acid in a rat critical defect model. *Journal of Bone and Mineral Research*, 20(11):2044-2052.
- Little, D.G., Smith, N.C., Williams, P.R., Briody, J.N., Bilston, L.E., Smith, E.J., Gardiner, E.M., Cowell, C.T. (2003). Zoledronic acid prevents osteopenia and increases bone strength in a rabbit model of distraction osteogenesis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 18(7):1300-1307.
- Luckman, S.P., Coxon, F.P., Ebetino, F.H., Russell, R.G.G., Rogers, M.J. (1998). Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J774 macrophages. *Journal of Bone and Mineral Research*, 13(11):1668-1678.
- Luckman, S.P., Hughes, D.E., Coxon, F.P., Graham, R., Russell, R.G., Rogers, M.J. (1998). Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *Journal of Bone and Mineral Research*, 13(4):581-589.
- Luvizuto, E.R., Dias, S.M.D., Queiroz, T.P., Okamoto, T., Garcia, I.R., Okamoto, R., Dornelles, R.C.M. (2010). Osteocalcin immunolabeling during the alveolar healing process in ovariectomized rats treated with estrogen or raloxifene. *Bone*, 46(4):1021-1029.
- Luvizuto, E.R., Queiroz, T.P., Dias, S.M.D., Okamoto, T., Dornelles, R.C.M., Garcia, I.R., Okamoto, R. (2010). Histomorphometric analysis and immunolocalization of RANKL and OPG during the alveolar healing process in female ovariectomized rats treated with oestrogen or raloxifene. *Archives of oral biology*, 55(1):52-59.
- Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E. (Eds.). (1999). *Tissue Engineering, Applications In Maxillofacial Surgery And Periodontics*. Quintessence Publishing Co, Carol Stream, Illionis, Chapter 2, *Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy*, 614:17-55.
- MacLean, C., Newberry, S., Maglione, M., McMahon, M., Ranganath, V., Suttorp, M., Mojica, W., Timmer, M., Alexander, A., McNamara, M., Desai, S.B., Zhou,

- A., Chen, S., Carter, J., Tringale, C., Valentine, D., Johnsen, B., Grossman, J. (2008). Systematic Review: Comparative Effectiveness of Treatments to Prevent Fractures in Men and Women with Low Bone Density or Osteoporosis. *Annals of internal medicine*, 148(3):197-213.
- Maloney, J.P., Silliman, C.C., Ambruso, D.D., Wang, J., Tuder, R.M., Voelkel, N.F. (1998). In vitro release of vascular endothelial growth factor during platelet aggregation. *The American journal of Physiology*, 2:554-6.
- Markiewicz, M.R., Margarone, J.E., Campbell, J.H., Aguirre, A. (2005). Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a review of current knowledge. *The Journal of American Dental Association*, 136(12):1669-74.
- Marks, S.C., Popoff, S.N. (1988). Bone cell biology: the regulation of development, structure, and function in the skeleton. *American Journal of Anatomy*, 183(1):1-44.
- Martinez, H., Davarpanah, M., Missika, P., Celletti, R., Lazzara, R. (2001). Optimal implant stabilization in low density bone. *Clinical Oral Implants Research*, 12(5):423-432.
- Martin, R.B., Burr, D.B. (1989). Mechanical adaptation, in *Structure, Function and Adaptation Of Compact Bone*. Raven Press, New York.
- Marx, R.E. (2009). Oral & Intravenous Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaws. History, Etiology, Prevention, and Treatment. *Ann R Coll Surg Engl*, 91:446-450.
- Marx, R.E., Sawatari, Y., Fortin, M., Broumand, V. (2005). Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 63(11):1567-1575.
- McLeod, N.M.H., Davies, B.J.B., Brennan, P.A. (2007). Bisphosphonate osteonecrosis of the jaws; an increasing problem for the dental practitioner. *British dental journal*, 203(11):641-644.
- Mehler, M.F., Mabie, P.C., Zhang, D., Kessler, J.A. (1997). Bone morphogenetic proteins in the nervous system. *Trends in Neurosciences*, 20(7):309-317.
- Menkes, C.J. (1994). Metabolic bone diseases. *Curr Opin Rheumatol*, 6:319-320.
- Menschutkin, N. (1865). Ueber die Einwirkung des Chlorazetyls auf phosphorige Soure. *European Journal of Organic Chemistry*, 133(3):317-320.

- Mercier, P. (1988) Ridge reconstruction with hydroxylapatite: Part 1. Anatomy of the residual ridge. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology*, 65(5):505-510.
- Merigo, E., Manfredi, M., Meleti, M., Corradi, D., Vescovi, P. (2005). Jaw bone necrosis without previous dental extractions associated with the use of bisphosphonates (pamidronate and zoledronate): a four-case report. *Journal of oral pathology & medicine*, 34(10):613-617.
- Meryl, S.L. (1997). *Metabolic Bone Diseases in Text book of Rheumatology* (5. ed.). London, WB Saunders Co., 1563–1572.
- Meunier, P.J., Arlot, M., Chavassieux, P., Yates, A.J. (1999). The effects of alendronate on bone turnover and bone quality. *International journal of clinical practice*, Supplement, 101:14-17.
- Mezyk-Kopec, R., Bzowska, M., Potempa, J., Bzowska, M., Jura, N., Sroka, A., Black, R.A., Bereta, J. (2005). Inactivation of membrane tumor necrosis factor alpha by gingipains from *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity*, 73(3):1506-1514.
- Migliorati, C.A., Casiglia, J., Epstein, J., Jacobsen, P.L., Siegel, M.A., Woo, S.B. (2005). Managing the care of patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis: an American Academy of Oral Medicine position paper. *The Journal of the American Dental Association*, 136(12):1658-1668.
- Miller, M.D. (1996). *Review of Orthopaedics*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1–36.
- Miller, P.D. (2008). Bisphosphonates: Pharmacology and use in the treatment of osteoporosis. In: Marcus, R., Feldman, D., Nelson, D.A., Rosen, C.J., (Eds). *Osteoporosis* (3.Ed.). Vol 2, ch 74, Elsevier American Pres, San Diego, USA, 1725-1741.
- Miyozono, K. (2000). Positive and negative regulation of TGF- β signalling. *J Cell Sci*, 113:1101-1109.
- Mori, H., Manabe, M., Kurachi, Y., Nagumo, M. (1997). Osseointegration of dental implants in rabbit bone with low mineral density. *J Oral Maxillofac Surg*, 55(4):351–61.
- Motohashi, M., Shirota, T., Tokugawa, Y., Ohno, K., Michi, K., Yamaguchi, A. (1999). Bone reactions around hydroxyapatite-coated implants in ovariectomized rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 87:145-52.

- Mundy, G.R., Martin, T.J. (1993). *Physiology and Pharmacology of Bone*. Springer Verlag, USA.
- Murakami, H., Takahashi, N., Sasaki, T., Udagawa, N., Tanaka, S., Nakamura, I., Zhang, D., Barbier, A., Suda, T. (1995). A possible mechanism of the specific action of bisphosphonates on osteoclasts: tiludronate preferentially affects polarized osteoclasts having ruffled borders. *Bone*, 17(2):137-144.
- Müftüoğlu, S. (1993). Kemik Nasıl Oluşur. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 26:907.
- Nair Pn, P.R., Schug, J. (2004). Observations on healing of human tooth extraction sockets implanted with bioabsorbable polylacticpolyglycolic acids (PLGA) copolymer root replicas: a clinical, radiographic, and histologic follow-up report of 8 cases. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 97(5): 559-69.
- Neufeld,G., Cohen, T., Gengrinovitch, S., Poltorak, Z. (1999). Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *Faseb J*, 13:9-22.
- Nielson, O.S., Munro, A.J., Tannock, I.F. (1990). Bone metastasis: Pathophysiology and management policy. *J Clin Oncol*, 9:509-524.
- Nisengard, R.C., Newman, M.G., Sanz, M. (1996). Host response: Basic concepts In *Clinical Periodontology*.
- Novartis AG. (2004 a) Aredia: Pamidronate disodium for injection. Prescribing Information (<http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/aredia.pdf>).
- Novartis AG. (2011 a) Zometa: Zoledronic acid injection. Prescribing Information (<http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/Zometa.pdf>).
- Ohnishi, H., Nakamura, T., Narusawa, K., Murakami, H., Abe, M., Barbier, A., Suzuki, K. (1997). Bisphosphonate tiludronate increases bone strength by improving mass and structure in established osteopenia after ovariectomy in rats. *Bone*, 21(4):335-343.
- Omura, S., Mizuki, N., Kawabe, R., Ota, S., Kobayashi, S., Fujita, K. (1998). A carrier for clinical use of recombinant human bmp2: dehydrothermally cross linked composite of fibrillar and denatured atelocollagen sponge. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 27:129-34.
- Otto, S., Schreyer, C., Hafner, S., Mast, G., Ehrenfeld, M., Stürzenbaum, S., Pautke, C. (2012). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws e characteristics, risk factors, clinical features, and impact on oncological treatment. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 40(4):303-309.

- Ott, S.M. (2005). Long-term safety of bisphosphonates. *J Clin Endocrinol Metab*, 90:1897-99.
- Owens, G., Jackson, R., Lewiecki, E.M. (2007). An integrating approach: Bisphosphonate Management for the Treatment of Osteoporosis. *Am J Manag Care*, 13(Suppl 11):290-308.
- Özbayrak, T. (1990). Dişhekimliği Cerrahisi. İstanbul Renkiş Ofset, İstanbul.
- Özeç, İ., Kılıç, E., Gümüş, C., Göze, F. (2007). Lokal olarak üç farklı dozda simvastatin uygulamasının kemik defekti iyileşmesi üzerine etkisinin değerlendirilmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hek Fak Derg*, 10(2):82-86.
- Özeç, İ., Yeler, H. (2003). Bone morphogenetic proteinler ve osteoindüksiyon. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hek Fak Derg*, 6(1):31-36.
- Özyiğit, H.A. (2007). Deneysel olarak oluşturulan defektlerde titanyum partikülleri ve değişik greft materyallerinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması.
- Paker, S. (1993). Histoloji (Baskı 2). Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı. Yayın No: 32.
- Pampu, A.A., Dolanmaz, D., Tüz, H.H., Avunduk, M.C., Kişnişci, R.S. (2008). Histomorphometric Evaluation of the Effects of Zoledronic Acid on Mandibular Distraction Osteogenesis in Rabbits. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 66(5):905-910.
- Pampu, A.A., Dolanmaz, D., Tüz, H.H., Karabacakoglu, A. (2006). Experimental evaluation of the effects of zoledronic acid on regenerate bone formation and osteoporosis in mandibular distraction osteogenesis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 64(8):1232-1236.
- Papapoulos, S.E. (2006). Bisphosphonate actions: physical chemistry revisited. *Bone*, 38:613-616.
- Park, B.W., Hah, Y.S., Kim, D.R., Kim, J.R., Byun, J.H. (2007). Osteogenic phenotypes and mineralization of cultured human periosteal-derived cells. *Archives of Oral Biology*, 52(10):983-989 .
- Parsons, J. (1982). Bone tissue: an overview of structure and function. *Clin Invest Med*, 5(2-3):141-6.
- Perez-Lopez, F.R. (2004). Postmenopausal osteoporosis and alendronate. *Maturitas*, 48(3):179-192.

- Position paper. (1996). The potential role of growth and differentiation factors in periodontal regeneration. *Journal of Periodontology*, 67(5):545- 53.
- Qi, M., Hu, J., Li, J., Li, J., Dong, W., Feng, X., Yu, J. (2012). Effect of zoledronate acid treatment on osseointegration and fixation of implants in autologous iliac bone grafts in ovariectomized rabbits. *Bone*, 50(1):119-127.
- Räkel, A., Boucher, A., Ste-Marie, L.G. (2011). Role of zoledronic acid in the prevention and treatment of osteoporosis. *Clinical Interventions in Aging*, 6:89-99.
- Reddi, A.H. (1997). Bone morphogenetic proteins: an conventional approach to isolation of first mammalian morphogens. *Cytokine Growth Factor Rev*, 8(1):11-20.
- Reddi, A.H. (2000). Morphogenetic messages are in the extracellular matrix: biotechnology from bench to bedside. *Biochem Soc Trans*, 28(4):345-9.
- Reid, I.R. (2006). Emerging Issues With Bisphosphonates. *Rheum Dis Clin N Am*, 32(4):691-702.
- Reinwald, S., Burr, D. (2008). Review of nonprimate, large animal models for osteoporosis research. *J Bone Miner Res*, 23(9):1353–68.
- Rhee, S.T., Tong, L., Buchman, S.R. (2004). Fracture healing and bone graft repair. In: Thaller, S.R., McDonald, W.S. (Eds). *Facial Trauma*, Newyork: Marcel Dekker Inc, 95-136.
- Ripamonti, U., Duneas, N. (1998). Tissue morphogenesis and regeneration by bone morphogenetic proteins. *Plast Reconstr Surg*, 101:227-39.
- Rizzoli, R., Bonjour, J.P., Ferrari, S.L. (2001). Osteoporosis, genetics and hormones. *J Mol Endocrinol*, 26(2):79-94.
- Rodan, G.A., Fleisch, H.A. (1996). Bisphosphonates: mechanisms of action. *Journal of Clinical Investigation*, 97(12):2692-2696.
- Ross, M.H., Pawlina, W. (2006). *Histology. A Text and Atlas* (5th ed). Lippincott Williams & Wilkins.
- Rossomando, E.F., Kennedy, J.E., Hadjimichael, J. (1990). Tumor necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Arch Oral Biol*, 35(6):431-434.
- Roy, H., Bhardwaj, S., Yla-Hertualla, S. (2006). Biology of vascular endothelial growth factors. Minireview, Federation of European Biochemical Societies, Published by Elsevier B.V., 580(12):2879-2887.
- Ruggiero, S.L., Fantasia, J., Carlson, E. (2006). Bisphosphonate-related osteonecrosis of

- the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 102(4):433-441.
- Ruggiero, S.L., Mehrotra, B., Rosenberg, T.J., Engroff, S.L. (2004). Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62(5):527-534.
- Rusell, R.G., Rogers, M.J. (1999). Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone*, 25(1):97-106.
- Sahni, M., Guenther, H.L., Fleisch, H., Collin, P., Martin, T.J. (1993). Bisphosphonates Act on Bone Resorption Through the Mediation of Osteoblasts. *J Clin Invest*, 91(5):2004-2011.
- Sambrook, P., Cooper, C. (2006). Osteoporosis. *Lancet*, 367(9527):2010-2018.
- Seeger, L.L. (1997). Bone density determination. *Spine (Phila Pa 1976)*, 22(Suppl 24):49-57.
- Sener, I., Bereket, C., Kosker, H., Turer, A., Tek, M., Kaplan, S. (2013). The effects of zoledronic acid on mandibular fracture healing in an osteoporotic model: a stereological study. *J Craniofac Surg*, 24(4):1221-4.
- Senger, D.R., Galli, S.J., Dvorak, A.M., Perruzzi, C.A., Harvey, V.S., Dvorak, H.F. (1983). Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*, 219(4587):983-5.
- Seto, I., Asahina, I., Oda, M., Enomoto, S. (2001). Reconstruction of the primate mandible with a combination graft of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and bone marrow. *J Oral Maxillofac Surg*, 59(1):53-61.
- Sevcik, M.A., Luger, N.M., Mach, D.B., Sabino, M.A.C., Peters, C.M., Ghilardi, J.R., Schwei, M.J., Röhrich, H., Felipe, C.D., Kuskowski, M.A., Mantyh, P.W. (2004). Bone cancer pain: the effects of the bisphosphonate alendronate on pain, skeletal remodeling, tumor growth and tumor necrosis. *Pain*, 111(1-2):169-180.
- Sevil, F. (2006). Tavşan Femur'unun Morfometrik ve Biyomekanik Özellikleri Üzerine Ovariektominin Etkisi. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Shafer, W., Hine, M., Levy, B. (1966). A Textbook of Oral Pathology. W.B Saunders Company, 2TH ED, 494-497.

- Shimizu, M., Furuya, R., Kawawa, T., Sasaki, T. (2000). Bone wound healing after maxillary molar extraction in ovariectomized aged rats: quantitative backscattered electron image analysis. *Anat Rec*, 259(1):76-85.
- Shoji, K., Basso, N., Elsubeihi, E.S., Heersche, J.N.M. (2008). Short-term effect of ovariectomy on osteoprogenitors in the healing rat mandibular incisor extraction socket. *Osteoporosis International*, 19(8):1193-1201.
- Shoji, K., Elsubeihi, E. S., Heersche, J. N. (2011). Effects of ovariectomy on turnover of alveolar bone in the healed extraction socket in rat edentulous mandible. *Archives of oral biology*, 56(2):114-120.
- Sikavitsas, V.I., Temenoff, J.S., Mikos, A.G. (2001). Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials*; 22(19):2581-2593.
- Smith, É. M. (2011). Treatments for osteoporosis in people with a disability. *PM&R*, 3(2):143-152.
- Smith, R., Russell, R.G., Bishop, M. (1971). Bisphosphonates and Paget's disease. *Lancet*, 1:945-947.
- Sone, H., Sakauchi, M., Takahashi, A., Suzuki, H., Inoue, N., Lida, K., Shimano, H., Toyoshima, H., Kawakami, Y., Okuda, Y., Matsuo, K. (2001). Elevated levels of vascular endothelial growth factor in the sera of patients with rheumatoid arthritis correlation with disease activity. *Life Sciences*, 69(16):1861-1869.
- Soydan, N. (1985). Genel Histoloji. G.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul.
- Soydan, N. (1992). Genel Histoloji. G. Ü. Dişhekimliği Fakültesi. G.Ü.Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul, 50-85.
- Stashenko, P., Fujiyoshi, P., Obernesser, M.S., Prostack, L., Haffajee, A.D., Socransky, S.S. (1997). Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *Journal of clinical Periodontology*, 18(7):548-554.
- Street, J., Bao, M., De Guzman, L., Bunting, S., Peale, F.V., Ferrara, N. (2002). VEGF stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(15):9656-9661.
- Suzuki, T., Bessho, K., Segami, N., Lizuka, T., Nojima, T. (2001). Immunohistochemical localization of bone morphogenetic protein2 in the oral and maxillofacial area of the human embryo. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 39(4):289-293.
- Sweet, M.G., Sweet, J.M., Jeremiah, M.P., Galazka, S.S. (2009). Diagnosis and treatment of osteoporosis. *Am Fam Physician*, 79(3):193-200.

- Tagil, M., Aspenberg, P., Astrand, J. (2006). Systemic zoledronate precoating of a bone graft reduces bone resorption during remodelling. *Acta Orthopaedica*, 77(1):23-26.
- Taguchi, A., Tanimoto, K., Suei, Y., Ohama, K., Wada, T. (1996). Relationship between the mandibular and lumbar vertebral bone mineral density at different postmenopausal stages. *Dentomaxillofacial Radiology*, 25(3):130-135.
- Taguchi, A., Tanimoto, K., Suei, Y., Otani, K., Wada, T. (1995). Oral signs as indicators of possible osteoporosis in elderly women. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Oral Endodontology*, 80(5):612-616.
- Taguchi, A., Tanimoto, K., Suei, Y., Wada, T. (1995). Tooth loss and mandibular osteopenia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 79(1):127-132.
- Tanaka, M., Ejiri, S., Toyooka, E., Kohno, S., Ozawa, H. (2002). Effects of ovariectomy on trabecular structures of rat alveolar bone. *Journal of periodontal research*, 37(2):161-5.
- Tanaka, M., Toyooka, E., Kohno, S., Ozawa, H., Ejiri, S. (2003). Long-term changes in trabecular structure of aged rat alveolar bone after ovariectomy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 95(4):495-502.
- Tanaka, S., Shimizu, M., Debari, K., Furuya, R., Kawawa, T., Sasaki, T. (2001). Acute effects of ovariectomy on wound healing of alveolar bone after maxillary molar extraction in aged rats. *The Anatomical Record*, 262(2):203-12.
- Tatlı, U., Üstün, Y., Kürkçü, M., Erdoğan, Ö., Gürbüz, C.C., Özgür, H., Polat, S. (2011). Effects of zoledronic acid on healing of mandibular fractures: an experimental study in rabbits. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 69(6):1726-1735.
- Ten Cate ART (1999). *Oral Histology: Development, Structure and Function* (5 ed.). Mosby-Year book, Toronto.
- Testa, U., Pannitteri, G., Condorelli, G.L. (2008). Vascular endothelial growth factors in cardiovascular medicine. *Journal of Cardiovascular Medicine*, 9(12):1190-221.
- The Orthoteers Orthopedic Education Resource. (10 January 2001). Bone & fracture mechanics, Bone-structure & function, Available at: <http://www.orthoteers.co.uk>, Giriş tarihi 24 Şubat 2004.
- Thibodeau, G.A., Patton, K.T. (2003). *Anatomy and Physiology* (5 ed.). Mosby Inc., China, 190–202.

- Tıraş, B., Taşkıran, Ç. (2005). Postmenopozal Osteoporozda tedavi Modaliteleri. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi (Elektronik Dergi)*, 2:21-30.
- Tomin, E., Beksaç, B., Lane, M.L. (2002). Amerika Birleşik Devletleri'nde ortopedik girişimlerinde otoplastiklerin yerine kullanılan materyallere toplu bakış. *J Arthroplasty*, 13(2):114-129.
- Tonino, R.P., Meunier, P.J., Emkey, R., Rodriguez-Portales, J.A., Menkes, C.J., Wasnich, R.D., Bone, H.G., Santora, A.C., Wu, M., Desai, R., Ross, P.D. (2000). Skeletal benefits of alendronate: 7-year treatment of postmenopausal osteoporotic women. Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(9):3109-3115.
- Turgut, B., Güler, M., Demir, T., Türkçüoğlu, P., Çeliker, Ü. (2007). Oküler anjiyogenezde vasküler endotelial büyüme faktörünün rolü. *Türkiye Klinikleri Journal of Ophthalmology*, 16(1):38-46.
- Turner, A.S. (2001). Animal models of osteoporosis – necessity and limitations. *Eur Cell Mater*, 1:66-81.
- Turner, R.T., Maran, A., Lotinun, S., Hefferan, T., Evans, G.L., Zhang, M., Sibonga, J.D. (2001). Animal models for osteoporosis. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2(1):117-127.
- Urist, M.R. (1965). Bone: formation by autoinduction. *Science*, 150(698): 893-9.
- Valimaki, V.V., Moritz, N., Yrjans, J.J., Vuorio, E., Aro, H.T. (2006). Effect of zoledronic acid on incorporation of a bioceramic bone graft substitute. *Bone*, 38(3):432-443.
- Van Beek, E., Lowik, C., Van der Pluijm, G., Papapoulos, S. (1999). The role of geranylgeranylation in bone resorption and its suppression by bisphosphonates in fetal bone explants in vitro: a clue to the mechanism of action of nitrogen-containing bisphosphonates. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14(5):722-729.
- Van Beek, E.R., Lowik, C.W.G.M., Papapoulos, S.E. (2002). Bisphosphonates suppress bone resorption by a direct effect on early osteoclast precursors without affecting the osteoclastogenic capacity of osteogenic cells: the role of protein geranylgeranylation in the action of nitrogen-containing bisphosphonates on osteoclast precursors. *Bone*, 30(1):64-70.

- Van de Putte, K.A., Urist, M.R. (1965). 23 Osteogenesis in the interior of intramuscular implants of decalcified bone matrix. *Clinical orthopaedics and related research*, 43:257-270.
- Von Wowern, N. (2001). General and oral aspects of osteoporosis: a review. *Clinical Oral Investigations*, 5(2):71-82.
- Von Wowern, N., Kollerup, G. (1992). Symptomatic osteoporosis: a risk factor for residual ridge reduction of the jaws. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 67(5):656-660.
- Walsh, W.R., Sherman, P., Howlett, C.R., Sonnabend, D.H., Ehrlich, M.G. (1997). Fracture healing in a rat osteopenia model. *Clinical orthopaedics and related research*, 342:218-227.
- Wark, J.D. (1991). Osteoporosis: pathogenesis, prevention and treatment of osteoporosis. *Am J Med*, 90:107-110.
- Wasnich, R.D. (1997). Epidemiology of Osteoporosis. In Epidemiology of osteoporosis in the United States of America. *Osteoporos Int*, 7(Suppl 3):68-72.
- Watson, E.L., Katz, R.V., Adelezzi, R., Gift, H.C., Dunn, S.M. (1995). The measurement of mandibular cortical bone height in osteoporotic vs. non-osteoporotic postmenopausal women. *Special Care in Dentistry*, 15(3):124-8.
- Webb, J.C.J., Tricker, J. (2000). A Review of Fracture Healing. *Current Orthopaedics*, 14(6):457-463.
- Weiss, L., Greep, R.O. (1977). Histology (4th ed). New York, USA: McGraw-Hill Book Company.
- White, S.C. (2002). Oral radiographic predictors of osteoporosis. *Dentomaxillofacial Radiology*, 31(29):84-92.
- Widler, L., Jaeggi, K.A., Glatt, M., Müller, K., Bachmann, R., Bisping, M., Born, A.R., Cortesi, R., Guiglia, G., Jeker, H., Klein, R., Ramseier, U., Schmid, J., Schreiber, G., Seltenmeyer, Y., Green, J.R. (2002). Highly potent geminal bisphosphonates. From pamidronate disodium (Aredia) to zoledronic acid (Zometa). *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(17):3721-3738.
- Wolfe, M.W., Salkeld, S.L., Cook, S.D. (1999). Bone morphogenetic proteins in the treatment of non-unions and bone defects: historical perspective and current knowledge. *The University of Pennsylvania Orthopaedic Journal*, 12:1-6.
- Wood, J., Bonjean, K., Ruetz, S., Bellahcène, A., Devy, L., Foidart, J.M., Castronovo, V., Green, J.R. (2002). Novel antiangiogenic effects of bisphosphonate compound

- zoledronic acid. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 302(3):1055-1061.
- Woo, S.B., Hellstein, J.W., Kalmar, J.R. (2006). Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med*, 144(10):753-61.
- World Health Organisation (WHO) (1993). Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med*, 94(6):646-650.
- Wozney, J.M., Rosen, V. (1998). Bone morphogenetic protein and bone morphogenetic protein gene family in bone formation and repair. *Clinical Orthopedics and Related Research*, 346:26-37.
- Wozney, J.M., Rosen, V., Celeste, A.J., Mitsock, L.M., Whitters, M.J., Kriz, R.W., Hewick, R.M., Wang, E.A. (1988). Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*, 242(4885):1528-1534.
- Wozney, J. M. (1998). The bone morphogenetic protein family: multifunctional cellular regulators in the embryo and adult. *European journal of oral sciences*, 106:(Suppl 1):160-166.
- Wozney, J.M. (1995). The potential role of bone morphogenetic proteins in periodontal reconstruction. *Journal of Periodontology*, 66(6):506-510.
- Yamane, A., Fukui, T., Chiba, M. (1997). In vitro measurement of orthodontic tooth movement in rats given beta aminopropionitrile or hydrocortisone using a time-lapse videotape recorder. *The European Journal of Orthodontics*, 19(1):21-28.
- Yamazaki, M., Shirota, T., Tokugawa, Y., Motohashi, M., Ohno, K., Michi, K., Yamauchi, A. (1999). Bone reactions to titanium screw implants in ovariectomized animals. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 87(4):411-8.
- Yang, N.N., Byrant, H.U., Hardikar, S., Sato, M., Galvin, R.J.S., Glasebrook, A.L., Termine, J.D. (1996). Estrogen and raloxifene stimulate transforming growth factor -3 gene expression in rat bone: A potential mechanism for estrogen- or raloxifene- mediated bone maintenance. *Endocrinology*, 137(5):2075-84.
- Yao, W., Cheng, Z., Koester, K.J., Ager, J.W., Balooch, M., Pham, A., Chefo, S., Buse, C., Ritchie, R.O., Lane, N.E. (2007). The degree of bone mineralization is maintained with single intravenous bisphosphonates in aged estrogen-deficient rats and is a strong predictor of bone strength. *Bone*, 41(5):804-812.
- Yasko, A.W., Lane, J.M., Fellingner, E.J., Rosen, V., Wozney, J.M. and Wang, E.A. (1992). The healing of segmental bone defects, induced by recombinant human

- bone morphogenetic protein (rhBMP-2). A radiographic, histological, and biomechanical study in rats. *J Bone Joint Surg Am*, 74(5):659-70.
- Yıldırım, A., Tunik, S., Çetin, Ç., Akkuş, M. (2009). Osteogenezde fibroblast büyüme faktörleri (FBF) ve Kemik morfogenetik proteinlerin (KMP) rolü. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 10(2):135-140.
- Yılmaz, C. (1997). Osteoporozun etyopatogenezi (1. Baskı). Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 30-48.
- Yılmaz C. (1998). Osteoporozun Etyopatogenezi. In: Koloğlu, S. Osteoporoz (1. Baskı). Ajanstürk Gazetecilik ve matbaacılık, Ankara, 23-46.
- Yılmaz, H.H., Yasar, F. (2003). Osteoporoz ve Dişhekimiği. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 10(4): 59-64.
- Zhang, F., Richards, L., Angel, M.F., Zhang, J., Liu, H., Dorsett- Martin, W. Lineaweaver WC: Accelerating flap maturation by vascular endothelium growth factor in a rat tube flap model. *British Journal of Plastic Surgery*, 55(1):59-63.
- Zhao, J.H., Tsai, C.H., Chang, Y.C. (2011). Clinical and histologic evaluations of healing in an extraction socket filled with platelet-rich fibrin. *Journal of Dental Sciences*, 6(2):116-122.

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Sayı : 65202830 /41
Konu : Etik Kurul Kararı.

06.03.2014

Sayın
Yrd.Doç.Dr.Peyami Turgut HOCAOĞLU
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 06.03.2014 tarihinde Prof.Dr.Haki KARA başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

Yrd.Doç.Dr.Peyami Turgut HOCAOĞLU'nun yürütücülüğünü yapmış olduğu 03.03.2014 tarih ve 24 sayılı "Overleri alınan tavşanlarda, intravenöz tek doz zoledronik asit uygulamasının diş çekim bölgesindeki kemik iyileştirmesine olan etkisinin deneysel olarak incelenmesi." isimli Araştırma Projesi Doktora Tezi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Eray BULUT
Üye

Kablnadı
Prof.Dr.Mustafa TURAN
Üye

Doç.Dr.Ihsan HUBBEZOĞLU
Üye

Doç.Dr.Zübeyde AKIN DOĞLAT
Üye

Doç.Dr.Bülent SARAC
Üye

Kablnadı
Doç.Dr.Mehmet TUZCU
Üye

Kablnadı
Yrd.Doç.Dr.Gülşay YILDIRIM
Üye

Yrd.Doç.Dr.Hakan İŞİDAN
Üye

Uz.Vet.Hek.Yücel YALMAN
Üye - Başkanvekili

Kablnadı
Semiha EKİNCİ
Sivil Üye

Kablnadı

Kablnadı
Turhan DUYMUŞ
Sivil Üye

Kablnadı
Prof.Dr.Haki KARA
Başkan

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Esra ALTUNSOY
Doğum Yeri ve Tarihi	Suşehri, 01.05.1987
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 58140- SİVAS
E-posta Adresi	dtesraaltunsoy@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Kazım Ayan Anadolu Lisesi, 2001-2005
Yüksek Lisans	Selçuk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, 2005-2010
Doktora	Cumhuriyet Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 2010- 2017

İş Tecrübesi

Sivas Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi	Diş Hekimi - Halen
Cumhuriyet Üniversitesi	Doktora Öğrencisi 2010-2017