



T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOLEDRONİK ASİDİN KEMİK DEFEKTLERİNDEKİ KEMİK İYİLEŞMESİNE
ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

ALP KAAAN ÖZTOPRAK

DOKTORA TEZİ

AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

SİVAS
2012

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ZOLEDRONİK ASİDİN KEMİK DEFEKTLERİNDEKİ KEMİK
İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ**

ALP KAAAN ÖZTOPRAK

DOKTORA TEZİ

AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. ALİ KEMAL ÖZDEMİR

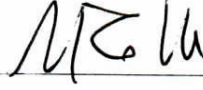
SİVAS
2012

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan(Danışman) Prof. Dr. Ali Kemal ÖZDEMİR



Üye Prof. Dr. Melahat ÖĞÜTCEN TOLLER



Üye Prof. Dr. Hasan YELER



Üye Yrd. Doç. Dr. Hasan GARİP



Üye Yrd. Doç. Dr. Osman Ufuk TAŞDEMİR



ONAY

Bu tez çalışması 28/02/2012 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Ali Altuğ BİÇAKÇI
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

ÖZET

ZOLEDRONİK ASİDİN KEMİK DEFEKTLERİNDEKİ KEMİK İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

Dt. Kaan ÖZTOPRAK

Doktora Tezi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ali Kemal Özdemir

2012, 87 sayfa

Bu çalışmada Erkek Wistar albino rat mandibulasında oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesinde zoledronik asidin lokal ve sistemik kullanımı ile kontrol grubundaki kemik iyileşmelerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada yeni oluşan kemik hacmi miktarı, osteoklast sayıları ve osteoblast sayıları histopatolojik olarak değerlendirildi.

İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, osteoblast ve osteoklast sayılarında gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Kemik iyileşmesi karşılaştırıldığında lokal ilaç uygulanan gruptaki kemik iyileşmesindeki fark diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p<0.05$). Sistemik ilaç uygulanan grup ile kontrol grubu arasındaki fark anlamsız bulundu ($p>0.05$).

Sonuç olarak; kemik defektlerinde lokal olarak uygulanan zoledronik asidin geleneksel greftleme yöntemlerine alternatif olabileceği kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Zoledronik asit, bifosfonat, defekt, rat.

ABSTRACT

RESEARCH OF THE EFFECTS OF ZOLEDRONIC ACID IN EXPERIMENTAL BONE DEFECT HEALING

Kaan ÖZTOPRAK, DDS

Doctor of Philosophy (PhD) Thesis, Department of Oral and Maxillofacial
Surgery

Supervisor: Prof. Dr. Ali Kemal Özdemir, Professor

2012, 87 pages

In our study we use male Wistar albino rats and we processed bone defect on the right side of the mandible. The use of local and systemic zoledronic acid on the healing of bone was compared with the control group.

In this study the amount of ossification, osteoclast and osteoblast numbers of counts were evaluated histopathologically.

Statistical analysis was evaluated, the number of osteoblast and osteoclast found no significant difference between groups ($p > 0.05$). Bone healing compared to other groups of local drug administered group difference was significant ($p < 0.05$). We found bone healing insignificant between systemic drug treatment group and the control groups ($p > 0.05$).

In conclusion, zoledronic acid, when applied locally to bone defects, could be an alternative to traditional methods of grafting.

Key words: Zoledronic acid, bisphosphonate, defect, rats.

TEŞEKKÜR

Danıőmanım Prof. Dr. Ali Kemal Özdemir'e yoğun emeğinden dolayı teşekkür ederim.

Her konuda sabırla yardımcı olan annem Remziye Öztoprak ve babam Muzaffer Öztoprak'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
TEŞEKKÜR.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
ÇİZELGELER DİZİNİ	XI
KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1 GİRİŞ	1
2 GENEL BİLGİLER	3
2.1 Kemik Dokusu	3
2.1.1 Kemik Matriksi.....	3
2.1.1.1 Organik Kısım.....	4
2.1.1.2 İnorganik Kısım.....	4
2.1.2 Kemik Hücreleri.....	5
2.1.2.1 Osteoprogenitor Hücreler.....	5
2.1.2.2 Osteoblastlar.....	5
2.1.2.3 Osteositler.....	6
2.1.2.4 Osteoklastlar	7
2.1.3 Periosteum Ve Endosteum.....	8
2.2 Kemik Tipleri.....	8
2.2.1 Primer Kemik.....	9
2.2.2 Sekonder Kemik.....	9
2.2.2.1 Sponjeoz Kemik.....	9
2.2.2.2 Kortikal Kemik.....	9
2.3 Osteogenesis.....	10
2.3.1 Endokondral Kemikleşme.....	10
2.3.2 İntramembranöz Kemikleşme.....	11
2.3.3 Kalsifikasyon Mekanizması.....	11
2.3.4 Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenmesi (Remodelling).....	12
2.3.5 Kemiğin Yeniden Şekillenmesinde Lokal ve Sistemik Düzenleyiciler.....	12
2.3.5.1 Lokal Düzenleyiciler.....	12
2.3.5.2 Sistemik Düzenleyiciler.....	13
2.3.6 Kemik İyileşme Süreci.....	13
2.3.6.1 Primer İyileşme.....	13
2.3.6.2 Sekonder İyileşme.....	14
2.3.6.2.1 Erken İnflamatuar Dönem.....	14
2.3.6.2.2 Tamir Dönemi.....	15
2.3.6.2.3 Yeniden Yapılanma Dönemi.....	15
2.3.7 Kemik Dokusunun İncelenmesi.....	16
2.3.7.1 Dekalsifikasyon Yöntemi.....	16
2.3.7.2 Masserasyon Yöntemi.....	16
2.4 Bifosfonatlar	16
2.4.1 Genel Bilgi.....	16
2.4.2 Bifosfonatların Kimyasal Yapısı.....	17
2.4.3 Bifosfonatların Etki Mekanizması.....	18

2.4.4	Farmakodinamik Özellikleri.....	19
2.4.5	Farmakokinetik Etkisi.....	19
2.4.6	Kullanım Alanları.....	20
2.4.7	Toksik Etki.....	21
2.4.8	Yan Etki.....	22
2.4.9	Bifosfonatlara Bağlı Olarak Çenelerde Görülen Osteonekroz.....	22
2.5	Zoledronik Asit.....	24
2.5.1	Kimyasal Yapı.....	24
2.5.2	Farmakokinetik Özellikleri.....	25
3	GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1	Lokal İlacın Hazırlanması.....	29
3.2	Cerrahi Yöntem.....	29
3.3	Deney Hayvanlarının Bakımı.....	33
3.4	Doku Takibi ve Değerlendirmesi.....	33
3.5	İstatistiksel Yöntem.....	35
4	BULGULAR.....	36
4.1	Histolojik Değerlendirme Bulguları.....	36
5	TARTIŞMA.....	50
6	SONUÇLAR.....	63
	KAYNAKLAR.....	64
	ÖZGEÇMİŞ.....	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Zoledronik asitin kimyasal yapısı

Şekil 3.1: Çalışmada kullanılan zoledronik asit

Şekil 3.2: Çalışma bölgesinin operasyon öncesi tıraş edilip dezenfekte edildikten sonraki görüntüsü

Şekil 3.3: Rat mandibulasında açılacak defektin anatomik lokasyonu

Şekil 3.4: Çalışmada kullanılan trefan frez

Şekil 3.5: Kortikal tabakası çevreden 5mm çapında alınmış görüntü

Şekil 3.6: Oluşan defekt alanı görüntüsü

Şekil 3.7: 0,125mm³lük zoledronik asit emdirilmiş jelatin sünger

Şekil 3.8: Operasyon bölgesinin primer sutureasyon sonrası görüntüsü.

Şekil 4.1: Kontrol 7 gün grubunun mikroskopik görüntüsü.

Şekil 4.2: Lokal 7 gün grubunun mikroskopik görüntüsü.

Şekil 4.3: Sistemik 7 gün grubunun mikroskopik görüntüsü.

Şekil 4.4: Kontrol 30 gün grubunun mikroskopik görüntüsü.

Şekil 4.5: Lokal 30 gün grubunun mikroskopik görüntüsü.

Şekil 4.6: Lokal 30 gün grubunun mikroskopik görüntüsü.

Şekil 4.7: Sistemik 30 gün grubunun mikroskopik görüntüsü.

Şekil 4.8: 7. gün kemik iyileşmesinin gruplara göre dağılımı

Şekil 4.9: 30. gün kemik iyileşmesinin gruplara göre dağılımı

Şekil 4.10: 7. gün osteoblast sayılarının gruplara göre dağılımı

Şekil 4.11: 30. gün osteoblast sayılarının gruplara göre dağılımı

Şekil 4.12: 7. gün osteoklast sayılarının gruplara göre dağılımı

Şekil 4.13: 30. gün osteoklast sayılarının gruplara göre dağılımı

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1: Kemik iyileşme skorları

Çizelge 4.1: Kemik iyileşme skorları

Çizelge 4.2: Kemik iyileşmesi 7. Gün grupları arasındaki fark

Çizelge 4.3: Kemik iyileşmesi 30. Gün grupları arasındaki fark

Çizelge 4.4: Kemik iyileşmesi 30. Gün grupları ikili karşılaştırma

Çizelge 4.5: 40x mikroskop büyütme alanında (0,103mm²) sayılan osteoblast sayıları

Çizelge 4.6: 40x mikroskop büyütme alanında (0,103mm²) sayılan osteoklast sayıları

Çizelge 4.7: 7.gün deneylerinde osteoblast sayıları arasındaki fark

Çizelge 4.8: 30.gün deneylerinde osteoblast sayıları arasındaki fark

Çizelge 4.9: 7.gün deneylerinde osteoklast sayıları arasındaki fark

Çizelge 4.10: 30.gün deneylerinde osteoklast sayıları arasındaki fark

KISALTMALAR DİZİNİ

ZA	: Zoledronik Asit
μm	: Mikrometre
YM-175	: İnkadronat Disodyum
GGPP	: Geranilgeranildifosfat
FPP	: Farnesildifosfat
ATP	: Adenosin Trifosfat
ONJ	: Osteo Necrotic Jaw
FPPS	: Farnesyl Pyrophosphate Synthase

1. GİRİŞ

Oral ve maksillofasiyal cerrahi, ağız ve çene bölgesindeki cerrahi tedavileri içeren diş hekimliğinin bir dalıdır. Çeneler bölgesine yapılan cerrahi müdahalelerin büyük bir kısmı sert dokuya, dolayısıyla kemiğe yöneliktir. İyileşme bakımından da kemik iyileşmesi önem arz etmektedir, çünkü yumuşak dokular kemiğe göre hızlı iyileşme kapasitesinden dolayı kemik iyileşmesi kadar sorun teşkil etmezler. Özellikle kist ve tümör operasyonlarından sonra ortaya çıkan kemik defektleri, kemik dokusunun devamlılığını ve direncini bozabilen sık karşılaşılan bir durumdur. Ağız ve çene bölgesinin estetik ve fonksiyonel öneminden dolayı, destek yapı olan çene kemiğindeki bu defektlerin bir an önce iyileşmesi hem hekim hem de hasta tarafından arzu edilen bir durumdur. Bu yüzden araştırmalar kemik iyileşmesini olumlu yönde etkileyen faktörler üzerine yoğunlaşmıştır.

Bu konuda biyomateryal yardımıyla ya da herhangi bir biyomateryal olmadan defekt iyileşmesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Çalışmaların temel amacı; bu bölgenin yeni kemik yapımıyla eski fonksiyon ve estetik yapıya kavuşturulmasını sağlamak olmuş ve bunun için lokal veya sistemik olarak etkili ilaçlar ve materyaller kullanılmıştır^{1,2}. Lokal olarak kullanılan materyaller kemik greftleri ve biyomateryaller iken sistemik olarak kullanılanlar osteoblastik aktiviteyi artırıp osteoid madde yapımını artıran ilaçlardır³. Altın standart olarak nitelendirilen, bireyin kendisinde verici bölgeden alınıp defekt bölgesine yerleştirilen otojen kemik greft materyalleri, verici bölgenin morbiditesi ve alınan materyalin sınırlı miktarda olması, uzamış cerrahi süresi ve artmış hasta beklentileri gibi nedenlerden dolayı araştırmacıları bu tedavinin alternatifini bulmaya yönlendirmiştir⁴. Allogreftler ise immunolojik uyumsuzluk, erken rezorpsiyona uğramaları gibi nedenlerden, alloplastlar ise geç rezorbe olmaları ile yeterli klinik başarıyı verememesinden dolayı bugüne kadar ideal bir materyal bulunamamıştır⁵. Yapılan bazı çalışmalarda boş bırakılan kemik defektinin, kemik greftleri ile doldurulan defektler kadar iyi iyileşebildiği gösterilmiştir^{6,7,8}.

Bifosfonatlar kemik rezorpsiyonunu güçlü inhibe eden maddelerdir. Bifosfonatlarla ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada toplam kemik mineral içeriğinde artış gözlenmiştir⁹. Bifosfonatların sistemik uygulamasının dışında, lokal uygulanmasının da kemik rezorpsiyonunu azalttığı görülmüştür. Tek doz lokal

bifosfonat uygulamasının kemik mineraline fazla affinitesi olmasından dolayı kemiğe yeterli oranda katıldığını belirtmişlerdir^{10,11}.

Zoledronik asit (ZA) bisfosfonat 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 uygulanmaktadır¹². Zoledronik asitin, yaygın olarak kullanılan olan alendronattan 100 kat daha etkili olduğu belirtilmiştir¹³.

Bu çalışma, zoledronik asidin lokal olarak kemik defektlerinde ve sistemik uygulandığında kemik iyileşmesini ne yönde etkileyeceği ve çene cerrahisinde klinik bir potansiyel oluşturup oluşturamayacağını tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik dokusu

Kemik, yetişkin iskeletinin en önemli yapı taşını oluşturur. İnsan vücudunun en sert dokularından birisidir. Ayrıca kırık dokusundan sonra darbelere karşı en çok dayanıklı olan dokudur. Yumuşak dokulardan meydana gelmiş yapıları destekler. Kranium ve toraks boşluklarındaki hayati organları korur. Kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğinin de yatağıdır. Ayrıca vücut sıvılarındaki kalsiyum, fosfat gibi iyon konsantrasyonlarının da sabit kalabilmesi için bu önemli iyonların kontrollü olarak serbest hale getirilebilmelerini veya depolanabilmelerini sağlar¹⁴. Bu işlevlere ek olarak, kaldıraçlardan meydana gelen sistemleri oluşturup, çizgili kas kasılmalarının doğurduğu kuvvetleri artırarak vücut hareketlerine dönüştürür.

Kemik özel bir bağ dokusudur. Burada hücreler arası madde kalsifiye olmuştur(kemik matriksi). Dört ayrı hücre tipi taşır: Matriksin lakuna adı verilen kavitelerinde yerleşmiş olan osteositler, matriksin organik kısımlarının sentezini yapan osteoblastlar, kemik dokusunun rezorpsiyonu ve remodelasyonunu sağlayan çok nüveli dev hücre olan osteoklastlar ve kemik öncü hücreleri olan osteoprogenitör hücreler.

Metabolitler difüzyonla kalsifiye kemik matriksinden geçemezler; dolayısıyla osteositler ile kan kapillerleri arasındaki madde alışverişi, matriksi ince ve silindirik olarak delip geçen kanalcıklar içinden sağlanır. Bu kanalcıklar osteositlerin ince uzun sitoplazmik uzantıları aracılığı ile komşu osteositlere, kemiğin iç ve dış yüzeylerine, matriksin içinden seyreden kan damarları ile ilişkilerini sağlar. Bütün kemikler iç yüzeylerde endosteum ve dış yüzeylerde de periosteum adı verilen osteojenik hücrelere sahip tabakalar ile örtülüdür¹⁴.

2.1.1 Kemik matriksi

İnorganik maddeler, kemiğin kuru ağırlığının %50'sini oluşturur. Özellikle kalsiyum ve fosfat çoktur. Ayrıca bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum da vardır. Kalsiyum ve fosfor, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ kompozisyonunda birleşerek hidroksiapatiti oluşturur. Organik madde tip 1 kollajenden ve proteinler ile ilgili glikozaminoglikanları içeren amorf temel maddeden oluşur. Hidroksiapatit ile kollajen lifler arasındaki ilişki, kemiğin karakteristik sertliğinden ve dayanıklılığından sorumludur. Kemik dekalsifiye edildikten sonra şeklini korur, fakat bir tendon kadar esnek hale gelir. Çoğunluğu

kollajenden oluşan matriksin organik kısımlarının ortadan kaldırılışında da kemiğin orijinal şekli bozulmaz ama kolayca kırılabilir hale gelmektedir. Lamellar kemik yaklaşık %8 su ve %92 katı materyalden oluşur. Katı materyal %21 organik matriks ve %71 inorganik matriks olmak üzere ikiye ayrılır¹⁵.

2.1.1.1 Organik kısım

Organik yapının % 90-96'sı, bağ dokusunun ana bileşeni olan ve tüm vücut proteinlerinin 1/3'ünü oluşturan kollajendir. Kemik kollajen diğer bölgelerde görülen kollajenden, mineralize olması ve birbirlerine paralel seyreden lamellar denilen bantlar şeklinde döşenmesi yönünden farklılık gösterir. Kemiğin organik yapısında kollajen dışında, non-kollajenöz proteinler olarak da adlandırılan proteoglikanlar ve glikoproteinler bulunur. Proteoglikanlara örnek olarak çeşitli glikozaminoglikanlardan (GAGs) oluşan, versican decorin biglycan, fibromodulin, osteoglisin ve osteoaderin verilebilir. Glikoproteinler arasında ise osteonektin, trombospondin, fibronektin, vitronektin, fibrilin, osteopontin ve kemik sialoproteini sayılabilir. Non-kollajenöz proteinlerin büyüme faktörlerinin salınımında, hücrelerin inorganik matrikse tutunmalarında ve organik matriksin kalsifikasyonunda etkili oldukları ileri sürülmüştür¹⁶⁻²⁰.

2.1.1.2 İnorganik kısım

İnorganik matriks olarak da adlandırılan kemiğin mineralize kısmı, kemiğin kuru ağırlığının % 60-70'ini oluşturmakla birlikte, kemik dokusunun direncinde ve sertliğinde de önemli bir rol oynar. Ayrıca vücuttaki kalsiyumun % 99'u, fosforun %85'i, sodyum ve magnezyumun yaklaşık % 40-60'ı iskelet sistemindedir. Bunların yanı sıra, bikarbonat, sitrat ve potasyum da bulunur. Kemiğin mineralize kısmının büyük çoğunluğu kalsiyum, fosfat ve hidroksil iyonlarından oluşmuş kristal yapıdaki hidroksiapatittir. Röntgen ışını "difraksiyon yöntemi" ile yapılan çalışmalarda, kalsiyum ve fosforun hidroksiapatit kristallerini meydana getirdiği görülmüştür. Kemik hidroksiapatit kristalleri, kollajen liflerin yanında amorf bir madde ile çevrili halde lokalizedirler. Hidroksiapatitin yüzeyindeki iyonlar suya doyurulduğu için, kristalin etrafı su ve iyonlardan oluşmuş bir tabaka ile kaplanmıştır. Hidrasyon kabuğu adı verilen bu tabaka, vücut sıvıları ile kristal arasındaki iyon alışverişini kolaylaştırır.

İnorganik matriks, hemostaz için gerekli mineralleri sağlayarak, fizyolojik bir rol üstlenir. İskelet sistemindeki kalsiyum, fosfat ve magnezyum gibi minerallerin dengesi, D₃ vitamini, paratiroid hormon ve kalsitonin tarafından düzenlenir. Hidroksiapatit ile kollajen lifleri arasındaki ilişki, kemiğin özelliği olan sertliğinden ve dayanıklılığından da sorumludur^{14,16,18,21,22,23}.

2.1.2 Kemik hücreleri

2.1.2.1 Osteoprogenitör hücreler

Osteoprogenitör hücreler, soluk boyanan oval çekirdekli, soluk sitoplazmalı yassıca hücrelerdir. Normal kemik gelişiminde aktiftirler. Yine yetişkinlerde kırık iyileşme sırasında aktifleşirler. Bölünüp çoğalırken osteoblast ve osteoklastlara dönüşürler. Bu hücrelerin yağ hücresi, fibroblast ve kemik iliğindeki kan yapıcı hücrelere dönüşebildiği de gösterilmiştir²⁴. Periosteumun iç tarafında, Havers kanallarında ve endosteumda bulunurlar. Embriyonik mezenkimden köken alarak kemik büyümesinde aktif rol oynarlar ve mitoz ile bölünerek osteoblastlara farklılaşabilirler. Düşük oksijen konsantrasyonlarında kondrojenik hücrelere dönüşebilirler. Bu hücreler henüz spesifik bir doku hücresine farklılaşmamış bir grup olup, hayatları boyunca çoğalabilme özelliğine sahiptir. Farklılaşmamış kök hücre klonları oluşturdukları gibi, geçiş hücrelerine farklılaşıp gelişerek; kemik, kırık, ligament, tendon ve yağ gibi bağ dokusu hücreleri de oluşturabilirler^{25,26}.

2.1.2.2 Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik matriksinin organik kısımlarının sentezinden (tip 1 kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinler) sorumludurlar. Kemiğin inorganik kısımlarının yapılabilmesi osteoblastların varlığına bağlıdır. Osteoblastlar kemik yüzeylerinde epitel hücrelerini andıracak şekilde yan yana dizilirler. Morfolojik görünümleri sentez durumunda olup olmamalarına bağlıdır. Matriks sentezini yapmaya başladıklarında şekilleri kübikten prizmatikçe kadar değişebilir. Alkalen fosfataz seviyesi artar ve sitoplazmaları bazofilik hale gelir. Sentez faaliyetleri azaldıkça yassılaşırlar ve alkalen fosfataz aktiviteleri yavaşladıkça, bazofilik özellikleri de azalmaktadır¹⁴.

Osteoblastların komşu osteoblastlar ile temaslarını sağlayan sitoplazmik uzantıları vardır. Bu uzantılar, hücre kendi etrafını matriks ile sarmaya başladığı zaman daha da belirgin hale gelir. Osteoblastlar yeni sentezi yapılmış matriks ile sarıldığında osteosit adını alırlar. Hücre ve sitoplazmik uzantıların etrafında matriksin oluşması lakuna ve kanalcıkları belirgin hale getirir. Matriks sentezi sırasında osteoblastlar ultra strüktürel olarak aktif protein sentezi yapan ve salgılayan hücrelere benzerler¹⁴.

Osteoblastlar kutuplaşmış hücrelerdir ve sitoplazmasında büyük miktarda alkalin fosfataz enzimi bulunmaktadır. İçerdiği bu enzimin yalnız matriks yapımıyla ilgili olmayıp, kalsifikasyonla da ilişkisi olduğu düşünülmektedir. Matriksin sekresyonu, daha önce yapılmış kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblast yüzeylerinden olur. Böylece yeni fakat henüz kalsifiye olmamış matriks, osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında yer alır. Bu olaya “kemik apozisyonu” denir ve zamanla kalsiyum tuzlarının çökmesi ile tamamlanır. Bu olayın osteoblastların salgıladığı alkalin fosfataz, yerel olarak inorganik fosfat konsantrasyonunu arttırdığından ya da kollajeni aktive ettiğinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Bir miktar alkalin fosfataz difüzyonla kana geçtiğinden, alkalin fosfatazın kandaki düzeyi kemik yapım hızını yansıtır^{14,24}.

2.1.2.3 Osteositler

Osteoblastlardan kaynaklanan osteositler, matriks lamelleri arasında bulunan lakunalar içine yerleşmişlerdir. Her lakunada sadece bir osteosit vardır. Osteositlerin sitoplazmik uzantıları ince silindirik kanalcıklarla sarılmıştır. Komşu osteositler sitoplazmik uzantılarının birbirleri arasında yaptıkları hücre bağlantıları ile iletişimi oluşturup, besin maddelerinin hücrelerden hücreye geçişini sağlarlar. Osteositler ile kan damarları arasında cereyan eden bir kısım moleküler değişim, osteositler (ve uzantıları) ile kemik matriksi arasında bulunan çok az miktardaki madde aracılığı ile de olur. Bu değişim aşağı yukarı 15 hücrelik bir osteosit zincirine destek sağlayabilmektedir¹⁴.

Osteositler osteoblastlarla mukayese edildiğinde, yassı elips şeklindedirler. Endoplazmik retikulumları ve golgi kompleksleri dikkat çekecek kadar küçülmüştür. Nükleer kromatinleri daha yoğundur. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığı ile aktif olarak ilgilidirler. Osteositlerin ölümünü takiben matriks rezorpsiyonu görülür^{1,14}.

Osteositlerin işlevine yönelik başlıca iki varsayım bulunmaktadır. Bunlardan ilki, osteositlerin, osteoblastların olgun şekilleri olduğu ve canlı kaldıkları süre içinde buldukları matrisin devamlılığını korudukları yönündedir. Osteositlerin kemik içindeki işlevlerine ilişkin ikinci varsayım ise, osteoliz yaparak kan kalsiyum düzeyini dengelediğidir²⁵.

2.1.2.4 Osteoklastlar

Osteoklastlar çok büyük, ileri derecede dallanmış ve hareketli hücrelerdir. Hücre gövdesinin genişlemiş kısmında 5-50 veya daha fazla nüve olması tek hücreli birçok hücrenin kaynaşmasından oluştukları izlenimini vermektedir. Hücrenin dalları oldukça düzensiz, farklı biçim ve kalınlıktadır. Bu hücreler kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış, howship lakunası adı verilen çukurcularda bulunurlar. Osteoklastlar kan kaynaklı monositlerin birleşmesi ile meydana geldikleri için “mononükleer fagositoz sistem”e dahildirler^{25,14}.

Osteoklastların sitoplazmaları genellikle asidofiliktir. Aktif osteoklastlarda, kemik matriksine bakan yüzey, düzensiz olarak katlanıp çoğu kez dallanarak girintili çıkıntılı hale gelen tüysü bir kenarı oluşturur. Bu yapı küçük partiküllerin tuzaga düşürülüp enzimatik aktivite ile karşı karşıya getirilmesi için uygun ortamın oluşturulması ile birlikte, aktif rezorpsiyon alanını da genişletir. Hücrede pek çok lizozomla birlikte, bol miktarda serbest polizom, bir parça granüler endoplazmik retikulum, çok sayıda mitokondri ve iyi gelişmiş golgi kompleksi vardır. Kalsiyum içeren kristaller kıvrımlar arasında görüldüğü gibi, sitoplazmik vakuollerde de görülmüştür. Bu vakuoller belki de osteoklastların yüzey membranlarından kaynaklanmaktadır. Osteoklastların kıvrımlarına yakın ekstraselüler alanlardaki kollajen liflerin birbirinden ayrıldığı da bildirilmiştir. Fakat tüm bu olaylar, hiçbir zaman hücrenin sitoplazması içinde cereyan etmez. Osteoklastlar kemik matriksine hücum eden asit, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgırlar. Böylece kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale getirirler ve kemik rezorpsiyonu sırasında meydana gelen artıkların da ortadan kaldırılmasında aktif olarak rol alırlar¹⁴.

Osteoklastlar mitoz bölünme yapmazlar. Osteoklastlar osteoblastlarla birlikte mekanik streslere bağlı olarak kemiğin şekillenmesine, plastik etkinliğini en iyi şekilde yapabilmesine imkan sağrlarlar. Kemikte depolanmış kalsiyumun salınımını sağrlarlar²⁵.

2.1.3 Periosteum ve endosteum

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan tabakalarla örtülüdür. Dıştakin periosteum içtekin endosteum denir¹⁴.

Periosteumun dış tabakası kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmuştur. Demetler halinde periostal kollajen liflerden oluşan Sharpey lifleri, matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar. Sharpey liflerinin çevresindeki matriks kalsifiye olmamıştır ya da az kalsifiyedir. Bu liflerin sayısı buldukları anatomik bölgeye göre farklılık göstermektedir. Kafatası kemiklerinde, tendon ve kasların yapışma yerlerinde fazladır²⁴.

Hücreden daha zengin olan periosteumun iç tabakası bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan yassı hücrelerden zengindir. Bu osteoprogenitör hücreler, konumları, yassı şekilleri, çok az miktarda granüler endoplazmik retikulumları ve az gelişmiş golgi kompleksleri ile tanınırlar. Otoradyografik çalışmalar, osteoblastlarda görülen thymidine'yi aldıklarını göstermiştir. Bu hücreler kemiğin büyümesi ve onarımında başlıca rolü oynarlar¹⁴.

Endosteum kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Böylece endosteum periosteumdan incedir. Endosteum retiküler bağ dokusundan oluşmuştur ve hem osteojenik, hem hemopoetik özellik göstermektedir. Gelişim sona erdikten sonra da osteojenik etkinliğini sürdürmektedir²⁵.

Periosteum ve endosteumun temel işlevleri, kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamaktır. Bu nedenle kemik cerrahisinde periosteum ve endosteumun korunmasına çok dikkat edilir¹⁴.

2.2 Kemik Tipleri

Kemiğin mikroskopik olarak incelenmesi sonucu, iki farklı tip kemik bulunduğu ortaya konmuştur. İki kemik doku çeşidi aynı yapı taşlarından oluşur; ancak liflerinin farklı konumu nedeniyle farklı histolojik özellik göstermektedirler^{14,25}.

2.2.1 Primer Kemik

Olgunlaşmamış, nonlameller ya da kaba lifli kemik olarak da adlandırılırlar. Primer kemik; embriyolojik gelişim sürecinde, kırık ve diğer nedenlerle ilişkili onarım işlemlerinde ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Geçicidir ve yetişkinlerde, kafadaki yassı kemik eklemleri, alveol kemiği ve tendonların kemiğe tutunduğu yerler gibi birkaç yer dışında, yerini sekonder kemiğe bırakır. Sekonder kemiğe oranla daha az mineral ve daha fazla osteosit içerir. Yeniden yapılanma ile de kortikal veya kansellöz kemiğe dönüşür. Primer kemik rastgele ve değişik yönlere dağılmış ince kollajen lifleri ile özellik kazanmaktadır¹⁴.

2.2.2 Sekonder Kemik

Olgun ya da lameller kemik olarak da adlandırılırlar. Genellikle yetişkinlerde görülen kemik tipidir. Sekonder kemiğin lameller halinde organize olmuş kollajen lif dağılımının aksine, primer kemik rastgele ve değişik yönlere dağılmış ince kollajen lifleri ile özellik kazanmaktadır¹⁴.

Erişkinlerde sadece sekonder kemik dokusu bulunur. Sekonder kemik dokusunun spongioz kemik (süngerimsi, kansellöz) ve kortikal kemik (kompakt, lameller) olmak üzere iki türü vardır.

2.2.2.1 Spongioz kemik

Kısa ve uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımları ve yassı kemiklerin iç yüzeylerinde bulunur. Birbiriyle anastomozlaşan ince kemik trabeküllerinden oluşmuştur. Trabeküllerin arasında kemik iliği ile dolu, düzensiz şekilli boşluklar vardır. Bunlar kemik iliğinde bol bulunan kan damarları ve sitoplazma uzantıları aracılığıyla besin maddelerini alırlar¹⁴.

2.2.2.2 Kortikal kemik

Tüm kemiklerin dış yüzeylerinde bulunur. Nonlameller kemikten yeniden yapılanma sonucu meydana gelir. Yassı kemiklerin iç ve dış tabakalarını, uzun kemiklerin dış yüzünü oluşturur. Kortikal kemiğin ana yapısı, "Havers Sistem" olarak ta adlandırılan

osteondur. Osteon; uzunlamasına çizgili vasküler havers kanalları saran silindirik şekilli vasküler kemikten oluşmuştur. Horizontal dizilimli volkman kanalları komşu osteonları birleştirir. Kortikal kemiğin mekanik gücü, osteonların sıkı dizilimine bağlıdır¹⁴.

2.3 Osteogenezis

Kemiklerin büyümesi genetik ve fiziksel etkenlerle yakından ilgilidir. Kemiğin enine büyümesi, genişlemesi yüzeyindeki periost tabakasından oluşan osteoblastlar sayesinde gerçekleşir. Kemiklerin boylarının uzaması ise kıkırdak taslağın yeni kemik dokusuyla düzenli olarak yer değiştirdiği endokondral kemikleşme sayesinde olur. Embriyoda 2 tip kemikleşme gözlenir²⁵.

İnsan iskelet yapısında, kemikler embriyonik gelişimde iki farklı yolla oluşurlar. Bu durum, farklı bir kemik tiplendirmesini beraberinde taşımaktadır^{14,25}.

- 1) Endokondral kemikleşme,
- 2) İntramembranöz kemikleşme

2.3.1 Endokondral kemikleşme

Daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksinin çökmesi ile gelişir. Kemik oluşumu için kıkırdak çatının varlığı gereklidir. Uzun ve kısa kemikler bu yolla kemikleşir. Endokondral kemikleşme iki aşamada oluşur:

A- Hyalin kıkırdak bir çatının oluşması

B- Kıkırdak yapının büyümesi ve kemik çatı için bir model olması, rezorpsiyonu ve yeni kemik oluşumu.

Kemik oluşacak yerde hyalin kıkırdak bir model oluşur. Kıkırdak model içindeki kondrositler hipertrofiye uğrar, sitoplazmalarında glikojen depolarlar ve vakuolize hale gelirler. Kondrositler hipertrofi sonucu kalsifiye hale gelirler. Diyafiz kıkırdağındaki perikondrium damarlanır. Kıkırdak hücreleri osteoprogenitör hücrelere döner, perikondrium periosta döner. Yeni osteoblastlar kemik matriksi salgırlar ve subperiosteal kemik manşet yapısını kıkırdak yüzey üzerinde intramembranöz kemikleşme yolu ile oluştururlar. Kemik manşet kondrositlerin beslenmesine engel olur. Oluşan iskemi, kondrositlerde önce hipertrofiye, ardında diyafizin orta kısmından

başlayarak tahrip olup, ölmelerine neden olur. Kıkırdak modelin ortasında birbiriyle devamlı boş kaviteler oluşur ve bunlar ilerideki kemik iliği kavitesini meydana getirir. Kemik yapının aralarında osteoklastlar sayesinde periosteal delikler açılır ve bu delikler osteoprogenitör hücreler, hematopoetik hücreler ve kan damarları ile kıkırdak modele gerekli besin ve oksijeni sağlarlar. Damarlarla gelen kalsiyum ve fosfor iyonları, alkalen fosfataz aracılığı ile birleşerek kıkırdak matrikse çöker ve böylece diyafizde bir kemikleşme merkezi ortaya çıkar. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara farklılaşarak kalsifiye kıkırdak / kalsifiye kemik kompleksi haline gelir^{14,25}.

2.3.2 İntramembranöz kemikleşme

Osteoblastların salgılandıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonudur. Mezenkimal dokular içerisindeki kemik oluşumudur. Çoğu yassı kemik bu yolla iyileşir. Organizmada kafatası, sternum, pelvis gibi yassı kemiklerde, yüz kemiklerinde, mandibulanın processus coronoideus ve simfizisi dışındaki bölgelerinde, kısa ve uzun kemiklerin kompakt kısımlarında görülür. Mezenkimal hücreler osteoblastlara farklılaşarak kemik matriksi oluştururlar. Oluşturdukları trabeküler kemik yapıları primer kemikleşme merkezi olarak adlandırılır. Trabeküllerin kollajen yapıları birbirine paralel yapıda değildir. Kalsifikasyon ve osteoid oluşumunu takiben osteoblastlar osteosit haline gelir. Mezenkimal hücrelerin mitotik çoğalması ile osteoprogenitör hücreler ve osteoblastlar oluşur ve yeni kemik oluşumu devam eder. Kansellöz yapı içerisindeki trabeküler yapı yeterli olunca içerisindeki interstisyel vasküler bağ dokusu kemik iliği haline gelir. Oluşan birçok kemikleşme merkezi birleşerek oksipital kemik gibi yapıları yaparlar. Fontaneller birleşmemiş kemikleşme merkezleridir. Kalsifiye olmayan mezenkimal hücreler periost ve endosteuma döner. Periostun iç tabakası ve duranın periosteal tabakası kompakt kemiğe dönerek iç ve dış tabakayı yaparlar^{14,16,25}.

2.3.3 Kalsifikasyon Mekanizması

Henüz kalsiyum fosfatın kemik matriksi üzerine çöküşünü açıklayabilen, genel olarak kabul edilmiş bir hipotez yoktur. Kalsifikasyonun, kalsiyum tuzlarının kollajen lifler üzerine çökmesi ile başladığı bilinmektedir. Sitoplazma içi veziküller içinde kalsiyum tuzlarının çökmesi belki de osteoblastların yardımı ile hızlandırılıp yoğunlaştırılır ve gerektiğinde hücre dışı aralığa salgılanır. Kemikleşme yüzeylerinde bulunan

osteoblastların ürettikleri alkalen fosfataz henüz bilinmeyen bir yolla kalsifikasyona yardım etmektedir. Osteoid maddenin oluşumunu 4-8 gün sonra kalsifikasyon izler. Bu bölgeye kalsifikasyon çizgisi denir^{14,25}.

2.3.4 Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenmesi (Remodelling)

Kemiğin büyümesi, daha önce oluşmuş dokunun bir bölümü yıkılırken aynı anda başka bir bölümünün yapımı ile gerçekleşir (kemik yapım hızı kemik kaybından daha fazladır). Böylece kemik büyürken şekli de korunmaktadır¹⁴.

Osteogenezis sürecinde kemiklerin dış şekillerinin aynı kalması periostun bir yerinde apozisyon ve buna karşıt biçimde bir başka yerde rezorpsiyonu birlikte kapsamaktadır²⁵.

Kemik karşılaştığı değişik kuvvetlerin etkisiyle içyapısını yeniden şekillendirebilir. Örneğin, ortodontik apareyler aracılığı ile dişler ve çene kemiğine uygulanan kuvvetler bozuk pozisyonlu dişlerin düzeltilmesini sağlar. Kuvvetin çektiği yerlerde kemik yapımı ve ittiği yerlerde de rezorpsiyon olur. Böylece çene kemiğinin yeniden şekillenmesi ile dişlerin pozisyonları gerektiği gibi değiştirilebilir. Bu yeniden şekil alma yeteneği tüm kemikler için geçerlidir. Kemik şekillenmesi bütün hayat boyu devam etmektedir^{14,25}.

2.3.5 Kemiğin Yeniden Şekillenmesinde Lokal ve Sistemik Düzenleyiciler

2.3.5.1 Lokal düzenleyiciler

a. Polipeptit yapıdakiler: Hücre proliferasyonunu arttıranlar.

-Ekstrasellüler (EGF, TGF, FGF, PDGF, insülin, vb.)

-İntrasellüler (lenfosit, makrofaj, osteoblast kökenli olabilirler)

b. Nonpolipeptit yapıdakiler:

-Prostaglandinler (rezorpsiyonda aktif mediyatörler),

-Florid (kemikte hidroksil iyonları ile yer değiştirerek florohidroksiapatit kristalleri oluşturur; kalsiyum çözünürlüğünü azaltır),

-Bifosfonat (kemik rezorpsiyonunu inhibe ederek matriks oluşumunu artırır)

-Adenozinler,

-Fosfat,

-Pirofosfat,

2.3.5.2 Sistemik düzenleyiciler

Çeşitli hormon ve bileşikler, reseptörler aracılığıyla hedef hücelere etki ederler. Bunlar: Parathormon, kalsitonin (osteoklast rezorpsiyonunu inhibe eder), vitamin D, glukokortikoidler, cinsiyet hormonları (östrojen, androjen ve progesteron), tiroit hormonları, vitamin A ve vitamin K gibi maddelerdir²⁷.

2.3.6 Kemik İyileşmesi Süreci

Dıştan veya içten gelen zorlamalarla kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Fizyolojik reaksiyonlar, bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kemik, skar dokusu oluşturmaz ve yeniden yapılanmayla iyileşir. Kemiğin iyileşme potansiyeli bir dizi biyokimyasal, biyomekanik, hücresel, hormonal ve patolojik mekanizmalardan etkilenir. Devamlı biçimde birbirini takip eden depozisyon, rezorpsiyon ve yeniden biçimlendirme olayları iyileşme sürecini oluştururlar²⁸⁻³⁰. Kemik greftlerinin kemik dokusuyla bütünleşme süreci de uzun kemik kırıklarının iyileşmesine benzer. Dokunun orijinal fiziksel ve mekanik özelliklerinin geri kazandırıldığı iyileşme sürecini etkileyen bir dizi sistemik ve lokal faktör bulunmaktadır. Kırık iyileşmesi, kırık olduğu andan itibaren başlar, düzenli kemik doku ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder³¹.

Kemik defektinin iyileşme aşamasında bir dizi fizyolojik süreç gerçekleşir. Yumuşak dokunun iyileşme sürecindeki skar dokusunun oluşumu, kemik defektlerinin iyileşme sürecinde gözlenmez. Kemik dokusunda oluşan hasarlar genelde iki şekilde iyileşir:

2.3.6.1 Primer iyileşme

Kırık parçalar temas halindedir. İntramembranöz kemikleşme ile kortikal tabakaların doğrudan yeniden şekillenmesi gerçekleşir.

2.3.6.2 Sekonder iyileşme

Endokondral kemikleşme gözlenir. Değişik özelliklere sahip hücre topluluklarının çoğalarak, farklılaşarak ve matriksi oluşturarak birlikte işlev görmelerini gerektirir.

Kemik iyileşmesinin 3 evresi vardır³¹⁻³⁵. Bunlar:

- 1) Erken inflamatuvar dönem
- 2) Tamir dönemi ve
- 3) Yeniden yapılanma fazıdır.

2.3.6.2.1 Erken İnflamatuvar Dönem

Kırık oluşumu ile birlikte o bölgede inflamasyon başlar ve yaklaşık olarak 2-3 hafta devam eder. İnflamasyon, kallus şekillenmesini teşvik etmede önemli rol oynar ve kırıkta ya da kemik formu oluşuncaya kadar devam eder. Kemiğin rejenerasyonunda, parathormon, kalsitonin, vitamin D metabolitleri ve alkalın fosfataz gibi birçok faktör rol oynar ve bunların kan plazmasındaki seviyeleri artar³⁶. İnflamatuvar fazda, ilk birkaç saat ile birkaç gün içinde defekt bölgesinde hematoma gelişir. Hematom, kırık iyileşmesi için gerekli iki önemli faktörü sağlar. Birincisi, oluşan hematoma ya da kan pıhtısı kemik ucu ve komşu yumuşak dokuların arasını doldurarak kırık bölgesinde çok az da olsa mekanik bir stabilite sağlar. Hematomun ikinci önemli özelliği ise; kırık bölgesine matriks oluşumunu başlatan, osteoblastlara ve kondroblastlara dönüşen, olgunlaşmamış osteoblast ve kondrosit hücrelerini getirir. Yara bölgesindeki hematomdan IL-1 (interleukin-1), IL-6 (interleukin-6), PDGF, TGF ve VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) gibi büyüme faktörleri salgılanmaktadır^{14,31,36,37}. Daha sonra, trombositlerden transforming growth factor beta (TGF) ve platelet derived growth factor (PDGF) gibi, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli rol oynayan faktörler salgılanır. İnflamatuvar hücreler (makrofajlar, monositler, lenfositler ve polimorfonükleer hücreler) ve fibroblastlar, prostoglandin etkileşimi ile kemiğe infiltre olurlar. Bu aşamada defekt bölgesinde granülasyon dokusu oluşumu, vasküler doku ve mezenkimal hücre göçü başlar³⁸.

Bu erken dönem iyileşme süreci için gerekli olan temel besinler ve oksijen, açığa çıkan süngerimsi kemik ve kaslar tarafından sağlanır. Bu olayların meydana geldiği ilk

hafta içerisinde antiinflamatuvar ya da sitotoksik ilaçların kullanımının inflamatuvar cevabı değiştirebileceği ve iyileşmeyi olumsuz etkileyebileceği düşünülmektedir²⁸⁻³⁰.

2.3.6.2.2 Tamir Dönemi

Bu fazda ise fibroblastlar, vasküler göçe yardım etmek üzere stromaya yerleşirler. Vasküler göç arttıkça, kollajen matriks belirginleşir ve bu esnada osteoidler oluşur. Takiben mineralizasyon ve defekt alanında, kırığın bağ dokusunda ortaya çıkan küçük kırıkta parçacıklarının endokondral kemikleşmesi yoluyla primer kemik (yumuşak kallus) meydana gelir. İlk 4-6 haftalık süre içinde oluşan bu kallusun, basınca karşı direnci düşüktür. Kırık kallusun farklı bölgelerinde (periost-eksternal ve medulla-internal) aynı zamanlarda intramembranöz ve endokondral kemikleşme meydana gelir³⁷. Başlangıçta oluşan kallus yumuşaktır. Daha sonra, osteoblastlardan osteoid üretilir ve kondroblastlar da osteoblastlara dönüşür. Yavaş yavaş ortama kalsiyum tuzlarının (hidroksiapatit) da çökmesi sonucu ön kallus (fibrokartilagenöz) şekillenmiş olur. Oluşan kallus serttir (sekonder kemik) ancak hala dayanıksızdır. Ön kallusun yerini yavaş yavaş kemiksi kallus alır. Bu aşamaya 4-6 haftada ulaşılır. Kırık, kallus ile köprülendiği zaman üçüncü faz olan yeniden yapılanma aşaması başlar³⁶.

2.3.6.2.3 Yeniden Yapılanma Dönemi

Defekt alanında kallus oluşumu başladığı zaman, remodelling aşaması başlar. Oluşan büyük defekt kallusu, normal kemik iliği boyutuna ulaşmaya kadar osteoblastlar tarafından yıkılır. Bunun sonucunda havers sistemi bulunan lameller kemik yapısı oluşur. Bu süreç yıllar boyu devam edebilir³⁸.

Kemikleşme ilerledikçe kırık parçaların hareketi giderek azalır ve kırık bölgesinde daha sağlam bir yapı elde edilir ki, bu sağlamlık derecesi, kırık bölgesinin başarılı iyileşmesinde belirleyici rol oynamaktadır. Kallusun primer kemik dokusu zamanla rezorbe olur ve yerini sekonder kemiğe bırakır ve böylece kemiğin özgün yapısı yeniden oluşmaktadır^{14,39}.

Kırık iyileşmesi süreci, kemiğin eski şekil, yapı ve mekanik gücüne kavuştuğu yeniden şekillendirme safhasıyla sona erer. Yeniden şekillendirme işlemi kemiğe gelen mekanik yüklere bağlıdır ve bu safhanın tamamlanması aylar hatta yıllar alabilir. Kırık

bölgesinin aksiyal kuvvetlere maruz kalması nedeniyle kemik dokusu genellikle ihtiyaç duyulan yerlerde depolanırken ihtiyaç olmayan bölgelerde rezorbe olur. Yeni gelişen bu kemik dokusu ideal sertliğine ortalama 3-6 ayda kavuşur²⁸⁻³⁰.

2.3.7 Kemik Dokusunun İncelenmesi

Kemik dokusu sert bir doku olduğundan diğer dokulardan farklı incelenir, bunun için iki yöntem vardır:

2.3.7.1 Dekalsifikasyon Yöntemi

Kemik dokusunu kimyasal maddelerle, özellikle asitlerle, kesilebilir düzeyde yumuşatan bir yöntemdir. Yumuşamadan sonra, bilinen yöntemlerle kesilerek inceleme yapılır.

2.3.7.2 Masserasyon Yöntemi

Kemiğin kurutulularak incelenmesi yöntemidir. Kemik kuruma evresinde organik maddeler çürütülür. Daha sonra kemikten kesilen küçük parçalar, bileme ya da zımpara ile iyice inceltir. İnceltilecek parça lam-lamel arasına konur ve incelenir, çürüyen organik maddeler (kanalcıklar ve lakunalar) boş olacağından bu bölgeler siyah renkte görülürler⁴⁰.

2.4 Bifosfonatlar

2.4.1 Genel bilgi

Bifosfonatlar farmakolojide kemik kaybını önleyen ilaçlar olarak bilinir. Bu bileşikler, kemik mineralizasyonunun fizyolojik bir inhibitörü olan pirofosfatların stabil karbon analoglarıdır⁴¹.

Osteoklastik aktivitenin potansiyel inhibitörleridir. Bifosfonatlar, 1990'lı yılların başında yapılan sınıflamaya göre başlıca 3 gruba ayrılmaktadır. Birinci jenerasyonu, alkil derivatları olan etidronatın temsil ettiği grup, ikinci jenerasyonu ise alendronat ve pamidronat gibi terminal gruba sahip aminobifosfonatların temsil ettiği grup

oluşturur. Üçüncü jenerasyon ise, siklik yan zincirleri olan zoledronat, risedronat, ibandronat gibi nitrojen içerikli bifosfonatlardan oluşmaktadır⁴².

İlaç jenerasyonları arasında bifosfonatların antirezorptif özellikleri katlanarak artmaktadır^{43,44}. Bifosfonat grubu ilaçlar ayrıca azot içeren (alendronat, risedronat, pamidronat, ibandronat, zoledronik asit) ve azot içermeyenler (etidronat, klodronat) olarak da iki gruba ayrılır⁴⁵.

2.4.2 Bifosfonatların kimyasal yapısı

Yapısında iki fosfonat (PO_3) grubu bulundurduğu için bifosfonat denilmiştir. İki fosfonatı birbirine oksijen yerine karbon atomuna fosfo-eter bağlarla bağlanmıştır. İnorganik pirofosfatın stabil analoglarıdır. Bu şekilde molekülün kimyasal ve enzimatik yıkımı zorlaştırılmıştır. Bunun sonucu olarak, bu moleküller vücutta metabolize edilmeden dışarı atılırlar⁴⁶.

Bifosfonatların omurga yapısını, ortak karbon atomunu paylaşan iki fosfat molekülü oluşturur. Omurgadaki iki fosfatın iki fonksiyonu vardır. Birincisi kemik dokusundaki minerallere bağlanmaları, diğeri de hücresel yolla gerçekleşen kemik yıkımını engelleyici aktiviteleridir. Fosfat grubundaki kimyasal modifikasyonlar, molekülün kemik mineraline afinitesini ve biyokimyasal etkinliğini önemli ölçüde azaltır^{47,48}.

Ortadaki karbon atomuna bağlı R1 ve R2 yan grupları, bifosfonatlar arasındaki aktivite farklılıklarından sorumlu yapılardır. Bu yan grupların farklılaşmasıyla değişik bifosfonat türevleri elde edilmiştir⁴⁹. Bifosfonatlar, farklı moleküler etki mekanizmalarına göre azot içeren (Pamidronat, alendronat, risedronat, ibandronat, zoledronat) ve içermeyen (Klodronat ve etidronat) bifosfonatlar olarak ikiye ayrılır. Azot içermeyenler metalik olarak yapısına ATP'yi katarak ATP'nin hidrolize edilemeyen analoglarına dönüşürler. Bu ATP bağlı bifosfonatlar, ATP'ye bağımlı hücre içi enzimleri engelleyebilirler. Daha etkili potansiyeli olan azot içeren bifosfonatlar ise, mevolanat yolağındaki enzim olan farnezil difosfat sentezini inhibe eder⁵⁰.

2.4.2 Bifosfonatların etki mekanizması

Bifosfonatların etki mekanizması “osteoklastlara etki ederek kemik rezorpsiyonunun azaltılması” olarak özetlenebilir. Bifosfonatlar, fizyolojik dozlarda verildiğinde, kemiğe yüksek afiniteleri nedeniyle kemik matriksine kolaylıkla bağlanır^{46,51}. Hidroksiapatit kristallerine bağlanırlar ve uzun süre inorganik yapıda kalırlar. Tekrarlanan dozlarda da kemik yüzeylerinde tabakalar halinde birikir. Kemik rezorpsiyonunda rol alan hücrelerin başında gelen osteoklastlar da kemik yüzeyine tutunduktan sonra kemiği rezorbe ederken orada bulunan bifosfonat moleküllerini hücre içine alır. Hücre içine alınan bifosfonat bileşiği, bir dizi enzimatik reaksiyon sonucunda aktif osteoklastın yüzeyindeki girintili çıkıntılı yapıyı bozarak kemik yüzeyine tutunmuş olan aktif osteoklastın buradan kopmasına ve sonuçta hücrenin fonksiyon görememesine yol açar. Kemik yüzeyinden ayrılan osteoklastlar zamanla apoptoza uğrar ve kemik rezorpsiyonu engellenmiş olur^{41,52,53}. Kemik metabolizmasına, osteoklastların hem aktivitesini hem de sayısını azaltarak etki etmektedir⁵¹.

Bifosfonatlar ayrıca osteoblastların osteoklastlara sinyallerini değiştirerek, osteoklastların etkinliğini dolaylı olarak da inhibe eder. Ayrıca osteoblastların osteoklastları rezorpsiyon yerine çeken ve onların ömrünü uzatan faktörün salınımını da inhibe eder⁴⁵.

Moleküler düzeyde, alkil zincirlerindeki nitrojen atomu, osteoklastlar üzerinde toksik etki yaratır veya osteoklastlardaki spesifik hücre içi mekanizmalara zarar verir⁵⁴. Klodronat ve etidronat gibi nitrojen içermeyen bifosfonatlar, osteoklastlar tarafından metabolize edilerek nonhidrolize ATP analoglarına dönüşür. Sitotoksik olan bu metabolitlerin hücre içinde birikimi sonucunda osteoklast fonksiyonu inhibe edilir ve osteoklast apoptozisi gerçekleşir. Pamidronat, alendronat ve risedronat gibi nitrojen içeren bifosfonatlar ise, nitrojen içermeyen bifosfonatların aksine metabolize edilemez. Kolesterol ve izopentenildifosfat, farnesildifosfat (FPP) ve geranilgeranildifosfat (GGPP) gibi izoprenoid lipidlerin sentezinden sorumlu olan, dolayısıyla osteoklast fonksiyonunda önemli olan mevalonat mekanizmasını inhibe ederek etki gösterir^{55,56}.

FPP ve GGPP, osteoklast fonksiyonundaki düzenleyici proteinler olan Ras, Rho ve Rac gibi proteinlerin (guanosine triphosphate-binding proteins) prenilasyonu için gerekmektedir. Nitrojen içeren bifosfonatların mevalonat mekanizmasındaki inhibisyonu sonucu hücre proliferasyonu, hayatta kalma süresi ve iskeletsel

organizasyondan sorumlu olan bu sinyal moleküllerin prenilasyonu gerçekleşemediğinden osteoklast fonksiyonu engellenmekte ve osteoklastların apoptozu meydana gelmektedir^{56,57}.

Doku düzeyinde, tüm aktif bifosfonatların, kemik yapım-yıkımında azalmaya yol açtığı gözlenmiştir. Hücresel düzeyde de, bifosfonatların hedef hücresinin osteoklast olduğu bilinmektedir. Bifosfonatlar osteoklastik kemik rezorpsiyonunu muhtemelen dört farklı şekilde engeller:

- 1) Osteoklastların kemik yüzeyinde toplanmasını engellemek,
- 2) Kemik yüzeyinde osteoklast aktivitesini inhibe etmek,
- 3) Osteoklastların hayat sürelerini kısaltmak,
- 4) Kemik mineralinin çözünme hızını azaltmak. Bu etki direkt veya indirekt yollarla oluşturulabilir⁵⁸.

Bifosfonatların, antianjiojenik ve antineoplastik etkileri ile tümör hücrelerinin apoptozisine neden olduğu, özellikle pamidronat ve zoledronat gibi nitrojen içerikli bifosfonatların ise, tümör hücrelerinin kemik matriksine adezyonunu engellediği in vitro çalışmalarda gösterilmiştir^{59,60}.

2.4.4 Farmakodinamik özellikleri

Bifosfonatlar hem oral hem de intravenöz olarak alınabilir. Emilimleri ince barsaktan olur. Oral yolla alındıklarında çok azı emilebilen bifosfonat dozunun sadece %1'i bile etkindir. Bu yüzden yemeklerden 2 saat önce alınmaları daha uygundur⁴¹.

Vücutta kan ile dağılır, kemiklerde depo edilir ve böbreklerden hiçbir değişime uğramadan atılırlar. Başka farmakolojik ajanlarla etkileşimleri gözlenmemiştir. Bu bileşiklerin farmakodinamiğini gastrointestinal yol, kan, kemik ve böbrekler belirler⁶¹.

2.4.5 Farmakokinetik etkisi

Oral olarak alınan bifosfonatların bağırsaktan emilimi dozun %0.6 - %5'i arasındaki oldukça az olan bir miktardır. Bu miktar, ilaç kalsiyum ve demir içerikli gıdalarla beraber tüketildiğinde daha da azalır. Bifosfonatların plazmadaki yarı ömürleri 0.3-2 saat gibi kısa bir süredir. İlacın %20 - %60'lık kısmı kemik tarafından emilir, bu durum

bifosfonatların hidroksiapatit kristallerine karşı gösterdiği afinite ile açıklanabilir⁵². Geri kalanı da olduğu gibi idrar ile vücuttan atılır. Düşük dozlarda verildiğinde osteoklastlarda depo edilen bifosfonatlar, yüksek dozlarda uygulandığında ise rezorpsiyon ve apozisyon alanlarında depo edilir⁵².

İskelet sisteminden bu ilacın eliminasyonu çok yavaş bir şekilde aktif kemik rezorpsiyonu sırasında gerçekleşmektedir^{43,44}. Bu nedenle, bifosfonatların kemikteki yarılanma ömürleri 1-10 yıl arasında değişmek üzere çok uzundur. Bazı bifosfonatlar hayat boyu kemikte kalabilmektedir⁶².

2.4.6 Bifosfonatların kullanım alanları

Bifosfonatlar başlıca, kemik metastazlarının önlenmesi ve tedavisinde^{55,60,63,64}, orta ve şiddetli malign hastalıklara bağlı artmış kan kalsiyum seviyesinin düzenlenmesinde^{60,63,64}, kemik kanserlerinde ağrının azaltılmasında^{46,64,65}, multipl miyeloma olgularında^{46,55,60}, Paget hastalığı ile osteoporoz tedavisinde kullanılmaktadır^{46,55,60,63,64,66}.

Osteoklastlarda apoptoza yol açan bifosfonatların tümör hücreleri üzerine de direkt apoptotik etkileri bulunmaktadır. Oral klodronat, intravenöz pamidronat ve zoledronik asit kemik metastazlarında sıklıkla kullanılan bifosfonatlardır⁶⁷.

Klinik kullanımda en etkin bifosfonat olan zoledronik asitin, metastatik meme kanseri, multipl miyeloma, maligniteye bağlı hiperkalsemi, Paget hastalığı ve solid tümörlerin kemik metastazlarında etkinliği kanıtlanmıştır. Pamidronat ile karşılaştırıldığında, maligniteye bağlı hiperkalsemi ve iskeletsel komplikasyonların azaltılmasında da daha etkin olduğu saptanmıştır⁶⁸. Paget hastalığı, bifosfonatların kullanımıyla, doza bağımlı olarak kemik rezorpsiyonunun inhibe edilebildiği ilk klinik hastalıktır. Paget hastalığının patogenezi kısaca, artan osteoklast sayısı ve aktivitesi olarak açıklanabilir. Tedavisinde önce etidronat kullanılmış, daha sonraları da endikasyonu sadece Paget hastalığı ile sınırlı olan tiludronat kullanılmaya başlanmıştır. Uzun yıllar boyunca intravenöz olarak pamidronat da etkin bir şekilde kullanıldıysa da, son yıllarda daha uzun etki süreli zoledronat daha çok tercih edilir hale gelmiştir⁶⁹.

Osteoporoz, özellikle post-menopozal dönemdeki kadınlarda karşılaşılan önemli bir problemdir. Bifosfonatların klinik uygulamalarıyla son 15 yılda osteoporoz tedavisinde oral bifosfonat kullanımında hızlı bir gelişim olmuştur. Alendronat,

risedronat, etidronat ve ibandronat birçok ülkede post-menopozal osteoporoz tedavisinde anti-rezorptif özellikleri nedeniyle sık kullanılan bifosfonatlar olarak bildirilmiştir^{42,60,70}.

Oral bifosfonatlar tedavide genellikle günlük dozlar şeklinde uygulanmaktadır. Bununla birlikte, alendronat ve risedronat gibi bifosfonatların haftalık doz uygulamaları da geliştirilmiştir. Günümüzde en sık olarak kullanılan bifosfonat çeşitleri ve kullanım alanlarını kısaca özetlemek gerekirse: Etidronat, kemik yaralanmalarından oluşan hipertrofik kalsifikasyonların tedavisinde ve Paget hastalığı tedavisinde oral yolla kullanılan ve azot içermeyen bir bifosfonattır. Sınıfının etki gücü en az olan bifosfonat çeşididir⁴¹. Alendronat oral yolla alınan ve osteoporoz ile osteopenide en sık tercih edilen azot içerikli bifosfonattır. Yarılanma ömrü 10 yıldan uzundur⁴¹. Risedronat, azot içerikli diğer bir bifosfonattır. Alendronattan sonra osteoporoz ve osteopenide en sık kullanılan ikinci bifosfonattır. Yarılanma ömrü de alendronat gibi 10 yıldan uzundur⁴¹. İbandronat, azot içerikli bir bifosfonattır ve yarılanma ömrü 10 yıldan uzundur⁴¹. Osteoporoz için alınan diğer ilaçların aksine ayda bir kez 150mg dozunda ya da 2,5mg'lık günlük dozlar halinde kullanılabilir. Pamidronat, multipl myelom, metastatik meme kanseri, metastatik prostat kanseri, maligniteye bağlı hiperkalsemi olgularında kullanılır⁷¹. 3-4 haftada bir, 90mg dozunda infüzyonla verilir. Zoledronat günümüzde bilinen en güçlü bifosfonattır. 3-4 haftada 1 defa 15 dakikalık infüzyon şeklinde 4mg olarak uygulanır⁷². Zoledronatın 4mg dozu, etidronattan 10.000 kat daha etkili bulunmuştur⁴¹. Yarılanma ömrü 10 yıldan fazla, hatta ömür boyudur.

2.4.7 Bifosfonatların toksik etkileri

Bifosfonatların toksik etkileri ilaçtan ilaca değişiklik göstermekle birlikte yumuşak dokular ve plazmadan hızlı bir şekilde uzaklaştırılmasına ve ekstrasellüler sıvıda kısa sürede bulunmasına bağlı olarak toksisiteyi oldukça azdır. Akut toksisite hipokalsemiye bağlı olarak oluşabilmekte, kronik toksisite ise fosfat atomuna bağlı olarak böbreklerde görülebilmektedir^{73,74}. Etidronat için belirtilen ve diğer bifosfonatlarda görülmeyen toksisite ise kemik mineralizasyonunun önlenmesi ve osteomalaziye yol açmasıdır¹³.

2.4.8 Bifosfonatların yan etkileri

Sistemik kullanılan bu ilaçlar genel olarak vücut tarafından iyi tolere edilebilmektedir. En sık karın ağrısı, bulantı, hazımsızlık, ishal gibi gastrointestinal semptomlara sebep olurlar. Ayrıca bu ilaçlar, kısa süreli tat alma bozukluğu ve serum kalsiyum seviyesinde düşüş, nadir olarak da hipersensitivite reaksiyonlarına neden olurlar. Bifosfonatların hipersensitivite gösteren bireylerde, hipokalsemide, böbrek yetmezliğinde, ileri derecede gastrointestinal sistem rahatsızlığı olan bireylerde kullanımı kontrendikedir^{43,44}.

Bifosfonatların hem düşük oral emilim sorununu hem de sindirim sistemi yan etkilerini gidermek amacıyla intravenöz ve perkütan uygulamaları yapılmaktadır⁷⁵. Paget hastalığı nedeniyle yüksek doz bifosfonat kullanan hastalarda bulantı ve diyare oluşmakta bununla birlikte özellikle pamidronatın tekrarlayan intravenöz uygulamalarından sonra renal hasar ve göz enfeksiyonlarının geliştiği bildirilmiştir^{13,76}.

Bunların dışında diş hekimliği açısından direkt önemi olan yan etkiler gözlenmektedir. Bunlardan bir tanesi oral kavitede ülserasyonlar ki muhtemelen bu ülserasyonlar ilacın oral kavitede fazla kalması nedeniyle gelişmektedir⁷⁷. Bir diğeri ise kronik bifosfonat tedavileri sonucunda çene kemiğinde osteonekroz gelişebilmesidir⁶⁸.

2.4.9 Bifosfonatlara bağlı olarak çenelerde görülen osteonekroz

İlk kez 2003 yılında Marx tarafından tanımlanan bifosfonata bağlı çene kemiklerinin osteonekrozu (ONJ) günümüzde giderek büyüyen ve diş hekimlerinin sıkça karşılaşmaya başladıkları majör sorunlardan biridir⁴¹. Osteonekroz oluşumundaki risk faktörleri arasında en önemlisi bifosfonatın tipi ve verilen total dozdur. Özellikle intravenöz bifosfonatlar ile tedavi edilen kanser hastalarında osteonekroz oluşma riski, oral bifosfonat kullanımına oranla çok daha yüksektir. Bununla birlikte oral bifosfonat kullanan hastalarda da bildirilmiş osteonekroz olguları bulunmaktadır. Bunlara ek olarak kanser teşhisi, travma veya cerrahi hikâyesi, kötü ağız hijyeni, dental enfeksiyonlar, kortikosteroid tedavisi, immün sistemin baskılanması, vasküler yetersizlikler, hastanın yaşlı olması bu komplikasyonun ortaya çıkışında hazırlayıcı faktörlerdir⁷⁸.

Olgularla ilgili tipik semptomlar ağrı, yumuşak dokuda ödem, enfeksiyon, dişlerde hareketlilik, halitozis, pürülan akıntı ve ekspoze nekrotik kemiktir. Semptomlar spontan olarak gelişebildiği gibi sıklıkla diş çekimi sonrası da görülebilir⁷⁹.

Olguların yaklaşık %70'i mandibula molar bölgesinde, %30'u ise posterior maksiller bölgede saptanmıştır. Olguların sadece maksilla ve mandibulada görülmesi, diş çekimi, periodontal lezyonlar, protez irritasyonu gibi nedenlerle bakterilerin kemiği kontamine etmesiyle ilişkilendirilmiştir. Uzun süre bifosfonat kullanımına bağlı olarak maksilla ve mandibuladaki kanlanmanın bozulduğu ve çekim uygulandığında bu açık yara yerinin mevcut oral mikroflora içinde iyileşme gösteremediği düşünülmektedir. Vücuttaki diğer kemiklerin yumuşak doku ile iyi bir şekilde kapandığı ve mikrofloraları tarafından iyi bir şekilde korunduğu da göz önünde bulundurulmalıdır⁴⁶. Ayrıca bifosfonatlar çene kemikleri gibi yüksek metabolizma hızı gösteren kemiklerde selektif olarak depolanmaktadır⁶⁰. Kullanılan bifosfonatlar doza, kullanım süresine, devamlı kullanım olup olmadığına, ilacın cinsine göre etki gösterirler⁸⁰.

Düşük ilaç konsantrasyonlarının başlangıç safhasında osteoklastik aktivite azalır, denge osteoblastik aktiviteye kayar ve kemik formasyonunda artışa sebep olur. İlaç konsantrasyonunun arttığı orta aşamada osteoklastik aktivite daha da azalır bu da yeni kemikteki damarlanmayı ve osteoblastik aktivitenin azalmasını başlatır ve kemik tamiri ve kemik turnoverında azalma gözlenir. Maksilla ve mandibulada alveoler kemikte ilaç birikiminin arttığı sonraki safhalarda osteoklastik aktivitenin seviyesi hastalıklı kemiğin ortadan kaldırılmasını sağlayamayacak kadar azalır ve yeni kemik damarlanmadan yoksun olarak oluşur. Aşırı ilaç birikiminin son safhasında programlanmış hücre ölümü hızlı bir şekilde gerçekleşir. Kemik rejenerasyonu çığnemenin oluşturduğu mikrotravmadan dolayı mümkün olmayabilir ve sonunda osteonekroz oluşabilir. Bunlara diş çekimi, travma, sekonder enfeksiyon, periodontal hastalıklar da eklenince osteonekroz oluşumu hızlanabilir^{80,81}.

Bifosfonata bağlı osteonekroz gelişimi, oral bifosfonatlarda sürekli kullanımın 3. yılı itibariyle görülmeye başlanırken bu zaman dilimi intravenöz uygulanan bifosfonatlarda 6 aydan daha kısa sürelerle kadar düşebilir. Oluşumunu takiben etkin bir tedavi protokolü olmayan bu vakalarda önleyici tedaviler önem kazanır. Sistemik uzun süreli antibiyotik kullanımı, antiseptik gargaralar ile semptomlar hafifletilmeye çalışılır. Penisilin ilk tercih edilen antibiyotiktir; klindamisin Eikenella ve Moraxella'ya karşı etkisiz, Actinomyces'lere karşı da zayıf etkili olduğundan tercih edilmez⁴¹. İnvaziv

cerrahi girişimler genelde durumun daha da kötüleşmesine yol açar. Bu nedenle tedavide asıl amaç sekonder enfeksiyon kontrolüdür. Penisilin veya ikinci jenerasyon sefalosporinler, klorheksidin gargaraları, periyodik minör debridman ve yara yerinin düzenli lavajı tedavinin temelini oluşturmaktadır⁴⁶. Koruyucu hekimlik açısından, bifosfonat kullanılacak olan hastaların rutin dental muayenelerinin yapılması ve gerekli oral cerrahi girişimlerin tamamlanması sonrasında bifosfonat tedavisine başlanması önerilmektedir. Li ve ark.⁸² sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada, uzun dönem inkadronat disodyum (YM-175) kullanımının, özellikle de yüksek doz kullanımının, femur kırığı iyileşmesini geciktirdiğini belirtmiştir. Buna karşın kırığın mekanik bütünlüğü olumsuz etkilenmemiştir.

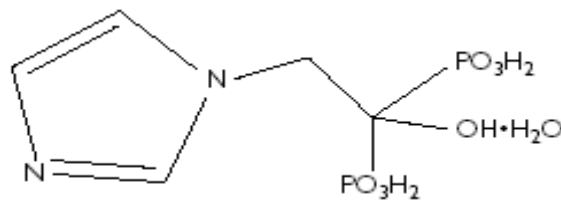
Bifosfonatların bu olumsuz etkilerinden bahseden yayınların hepsinin ortak özelliği, bu etkilerin ilacın uzun dönem kullanımı sonunda gözlenmesidir. Bifosfonat tedavisinin endike olduğu bir başka rahatsızlık da osteogenezis imperfektadır. Bu hastalığın şiddetli formlarında bifosfonatlar semptomatik bir tedavi haline gelmiştir⁸³⁻⁸⁶. Bu vakalarda bifosfonat kullanımı sonrası bildirilen osteonekroz vakası bulunmamaktadır.

2.5 Zoledronik asit

Zoledronik asit, imidazol halkalı yan zinciri olan, heterosiklik azot içeren üçüncü kuşak bir bifosfonattır. Diğer bifosfonatlardan farkı halka yapısında ikinci azot atomunun bulunmasıdır. Bu yapısı ile diğer bifosfonatlardan ayrılır ve diğerlerinden farklı etkiye sahip olmasını muhtemelen bu yapıya borçludur⁸⁷.

2.5.1 Kimyasal yapı

Zoledronik asit kimyasal olarak bifosfonik asit monohidrat (1 hidroksi 2 imidazol-1-yl-fosfono etil) olarak adlandırılır ve yapısal formülü Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Zoledronik asitin kimyasal yapısı.

Beyaz bir kristal toz şeklinde olup 290.1 g/Mol molekül ağırlığındadır. Suda ve sodyum hidroksit solüsyonlarında çözünebilme özelliğine sahiptir. Zoledronat infüzyon solüsyonu için üretilen flakon (ZOMETA® 4mg/5ml), 4 mg zoledronik aside eşdeğer 4.264 mg zoledronik asit monohidrat ve yardımcı madde olarak mannitol, sodyum sitrat ve enjeksiyonluk su içermektedir⁷².

2.5.2 Farmakokinetik özellikleri

Zoledronik asit infüzyonu sonrasında vücutta ilacın plazma konsantrasyonları hızla artmakta, infüzyon periyodunun sonunda doruk düzeyine ulaşmakta, ardından 4 saat sonra doruk düzeyinin %10'unun altına ve 24 saat sonra da %1'inin altına inecek şekilde hızlı bir azalma göstermektedir. Daha sonra, 28. günde ikinci ilaç infüzyonu uygulanıncaya kadar doruk düzeyinin % 0.1'ini almayacak şekilde oldukça düşük bir konsantrasyonda uzun bir periyot oluşmaktadır⁷².

Her 28 günde bir verilen ilacın tekrarlanan dozlarından sonra ilaç birikimi olmamaktadır. Zoledronik asit metabolize olmaz ve değişmeden böbrekten atılır. İlk 24 saatte, uygulanan dozun % 39 ± 16'sı idrarda bulunur, kalanı ise kemik dokuya bağlanır. Kemik dokusundan çok yavaş bir şekilde sistemik dolaşıma geri serbestlenir ve böbrekten atılır. Bifosfonatların kandaki biyolojik yarı ömürleri çok kısadır. Kemik dokusundaki yarı ömürleri ise yıllarla ifade edilecek kadar uzundur⁷².

Zoledronik asitin in vitro olarak osteoklastların matürasyonu ve işlevi üzerinde doğrudan etkili olduğu gösterilmiştir⁸⁸. Zoledronik asit ayrıca olgun osteoklastların işlevsel etkinliğini de baskılamaktadır. In vivo ve in vitro çalışmalar zoledronik asitin çeşitli uyaranlara cevap olarak olgun osteoklastlar tarafından oluşturulan kemik rezorpsiyonunu diğer bifosfonatlara göre daha güçlü olarak inhibe ettiğini göstermiştir. Tiroparatiroidektomize ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada 1,25- dihidroksivitamin D3 verilerek oluşturulan osteoklast kaynaklı kemik rezorpsiyonu ve hiperkalsemi modelinde pamidronata göre 850 kat potent olduğu saptanmıştır. Buna ilaveten intak sıçanlarda tibial kemik yoğunluğunun %50 artırılmasında pamidronata göre 200 kat, trabeküler kalsiyum içeriğinin %50 artırılmasında 100 kattan fazla potent olduğu bulunmuştur⁸⁹.

Renal tolerabilite ise pamidronattan üç kat daha iyidir. Mineralizasyon üzerinde etkisinin olmaması, östrojen eksikliğinin yaptığı değişiklikleri engellemesi de önemlidir⁹⁰.

Kemik iliği stromal hücreleri, kemik rezorpsiyonunu başlatan major metalloproteinazı (MMP-I) yapar, IL-1 β ise bunun üst regülasyonunu sağlar. Zoledronat bu işlemleri inhibe etmektedir⁹¹. Zoledronat'ın bir miktar direkt anti-kanser aktivitesi ve malign kemik hastalıklarında kullanılma potansiyeli vardır. Kemik metastazlarında Faz I ve Faz II çalışmalar tamamlanmıştır⁹². Faz III çalışmalarda; osteolitik, osteoblastik lezyonlu kemik metastazlarının tedavisinde emniyetli ve etkin bulunmuştur⁹³. Zoledronatta, pamidronata göre daha hızlı etki, kalsiyumu daha çabuk normalleştirme, daha uzun süreli relapsız dönem görülmektedir^{92,94}.

Fötal fare kalvaryum kemiğinden elde edilen hücre kültüründe ZA'nın osteoklast formasyonunu doza bağımlı olarak azalttığı bulunmuştur. Bununla birlikte osteoblast proliferasyonu ve DNA (deoksiribonükleik asit) sentezi üzerine yüksek konsantrasyonlara kadar etki göstermemiştir⁹⁵.

Mevalonat gidiş yolunun engellenmesi üzerinde yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada eşit konsantrasyonlarda ZA ve risedronat protein frenilasyonunu total olarak inhibe ederken pamidronat kısmen etkilemiş, klodronat, etidronat ve tiludronat etki göstermemiştir⁹⁶.

Büyümekte olan ratların ZA ile kısa dönem tedavisi, pamidronat ile karşılaştırıldığında, kortikal kemiği etkilemeden, trabeküler kemikte kalsiyum ve hidroksiprolin içerik ile radyografik dansiteyi önemli ölçüde arttırmıştır⁹⁷.

Birçok in vivo deney, östrojen eksikliği olan hayvanlarda ZA'nın kemik kütlelerini, yapısını ve gücünü koruduğunu göstermiştir. Overektomili ratlarda haftalık 1.5 mg/kg subkütan ZA enjeksiyonu lumbar vertebranın dansitesini korumuş ve overektomi sonrası 52. haftada mekanik gücü sağlamıştır⁹⁸. Benzer şekilde, overektomili yetişkin rhesus maymunlarında uzun dönem ZA tedavisi iyi tolere edilmiş ve doza bağlı olarak artmış kemik döngüsünü ve kemik kaybını, kemik mineralizasyonunu kötü yönde etkilemeden, etkin biçimde baskılamıştır⁹⁹.

Benford ve ark.'nın¹⁰⁰ osteoklast apoptozisi üzerinde yaptıkları in vitro çalışmada azot içeren ve içermeyen bifosfonatların etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Çalışmada tüm bifosfonatlar apoptozise neden olurken, ZA'nın diğerlerine oranla

osteoklast apoptozisinin bir belirteci olan caspase-3 benzeri proteazların aktivasyonunu daha fazla artırdığı ve FPPS'yi daha potent bir şekilde inhibe ettiği saptanmıştır.

ZA'nın tümör hücresinin kemik yüzeylerine ataçmanını ve meme ve prostat kanseri hücrelerinin kemiğe invazyonunu engellediği rapor edilmiştir¹⁰¹. Diğer bifosfonat ilaçlara oranla çok daha düşük konsantrasyonlarının prostat kanser hücresi gelişimini engellediği belirtilmektedir¹⁰².

Osteoklastlar üzerine etkileri bilinen bifosfonat ilaçların aynı zamanda osteoblastlar üzerine de direk etkileri bulunmaktadır. ZA ve pamidronat osteoklast proliferasyonunu eşit potensitede inhibe ederken, etidronat daha az potent etki göstermiştir. Bununla birlikte etidronat kemik formasyonu üzerine etki göstermezken, ZA ve pamidronatın kemik formasyonunu ve osteoblast farklılaşmasını artırdığı gösterilmiştir¹⁰³.

Osteoporoz modelleri üzerinde ZA'nın kemik mineral yoğunluğu, kemik mimarisi ve dayanıklılığı ve biyokimyasal belirteçlere etkisinin araştırıldığı çalışmalar, ZA'nın kemik üzerine pozitif etkilerini göstermektedir^{99,104}. Overektomize ratlarda 52 hafta boyunca değişik dozlarda verilen ZA'nın tüm vücut, lomber spin ve femurdaki kemik kaybını doza bağımlı olarak engellediği tespit edilmiştir¹⁰⁴. Erişkin overektomize maymunlarda yapılan çalışmada 16 aylık ZA tedavisi sonunda kortikal kemik porozitesindeki artışın engellendiği bununla birlikte üriner belirteçler kemik yıkımının belirgin derecede düştüğünü, kemik yapımının arttığını göstermiştir⁹⁹.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmanın deneysel kısmı Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma Laboratuvarında, histolojik inceleme ise Gazi Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Oral Patoloji Bilim Dalında gerçekleştirildi. Bu çalışma için C.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu'ndan 02/12/2009 tarih ve 178 sayılı karar ile onay alındı. Çalışma ortalama 300 g ağırlığında ve yetişkin 48 adet erkek Wistar albino rat üzerinde yapıldı.

Deneysel hayvanları 3 ana gruba ayrıldı:

1.grup: Kontrol grubu (16 hayvan)

2.grup: Lokal zoledronat grubu (16 hayvan)

3.grup: Sistemik zoledronat grubu (16 hayvan)

Her grup kendi içerisinde 7 gün ve 30 gün olmak üzere ikiye ayrıldı. Hayvanlara lokal ve sistemik uygulama için zoledronik asit (Zometa, Novartis AG, ABD) kullanıldı. (Şekil 3.1)



Şekil 3.1: Çalışmada kullanılan zoledronik asit

3.1 Lokal ilacın hazırlanması

1cm³ hacmindeki standart jelatin sünger, steril ortamda bisturi yardımıyla 8 eşit parçaya bölünerek 0,125cm³ 'lük parçalar elde edildi. Daha önceden yapılan in vitro çalışmalarda uygun konsantrasyonun 30 µM olduğu bulunmuştur fakat çalışmamızda in vivo ortamda bir miktar ZA'in plazma yolu ile atılacağını varsayarak 50 µM konsantrasyonunda çözelti hazırlandı. Oluşturulan bu parçalar, hazırlanan 50µM konsantrasyonundaki ZA çözeltisinde 2 saat bekletildi¹⁰⁵.

3.2 Cerrahi Yöntem

Deneklerin tümüne anestezi için intramuskuler yolla Ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) 90 mg/kg ve Xylazine (Rompun, Bayer, Almanya) 3 mg/kg uygulanmıştır. Anestezi sonrası denek mandibularlarının sağ tarafındaki tüyler tıraş edildi. asepsi ve antisepsi kurallarına dikkat edilerek, operasyon sahası povidon-iyot (Batticon, Adeka, Türkiye) ile temizlendikten sonra (Şekil 3.2) steril örtüler ile operasyon sahası açıkta kalacak şekilde örtüldü.

Mandibulanın sağ tarafında korpus üzerinde 15 numaralı bisturi ile 1,5 cm uzunluğunda cilt insizyonu yapıldı. Daha sonra masseter kas insizyonla kesildikten sonra periost elevatörü ile kemik yüzeyi açığa çıkarıldı (Şekil 3.3). Korpus üzerinde dış çapı 5mm olan trefan (Şekil 3.4) frez ile su soğutması altında 1mm derinliğinde kemik osteotomisi yapıldı. Daha sonra bisturi yardımı ile ortada kalan disk şeklindeki kortikal kemik alındı (Şekil 3.5, 3.6). Lokal ZA grubunda defekt bölgesine önceden hazırlanan ZA solüsyonu emdirilmiş jelatin sünger konuldu (Şekil 3.7). Diğer gruplarda ise defekt boş bırakılarak kas ve cilt altı dokuları 3/0 poliglaktin suture (Vicryl, Ethicon, Belgium) ile primer olarak kapatıldı (Şekil 3.8). Sistemik ZA grubundaki hayvanlara operasyondan hemen sonra tek doz (0.1mg/kg) ZA, serum fizyolojik içerisinde dilüe edildikten sonra intraperitoneal olarak verildi.



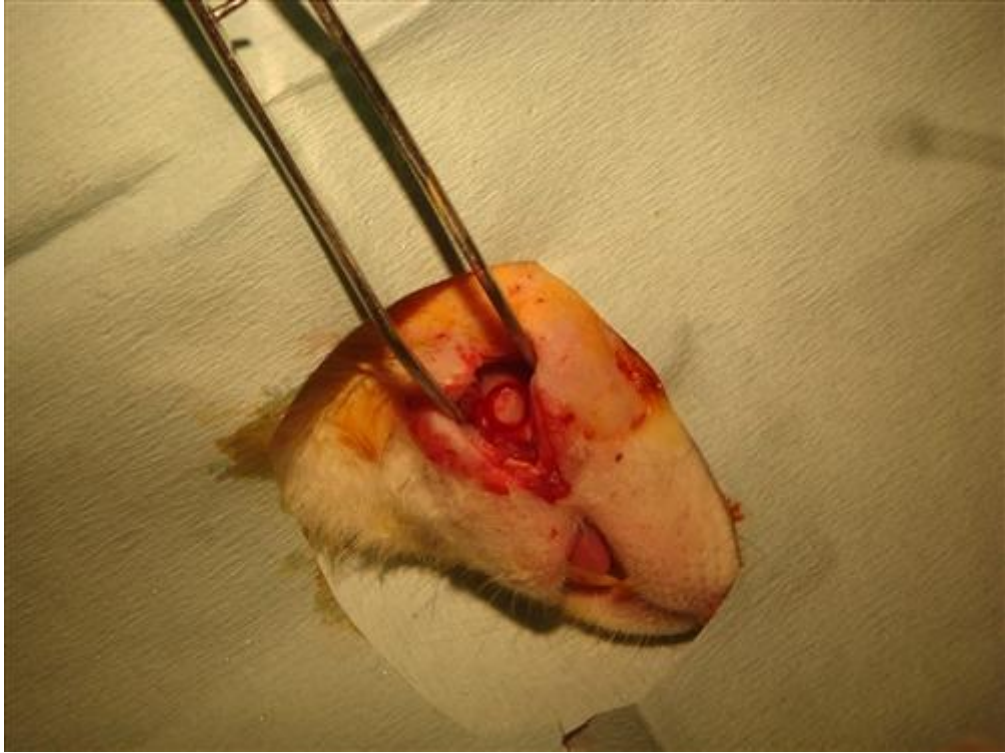
Şekil 3.2: Çalışma bölgesinin operasyon öncesi tıraş edilip dezenfekte edildikten sonraki görüntüsü



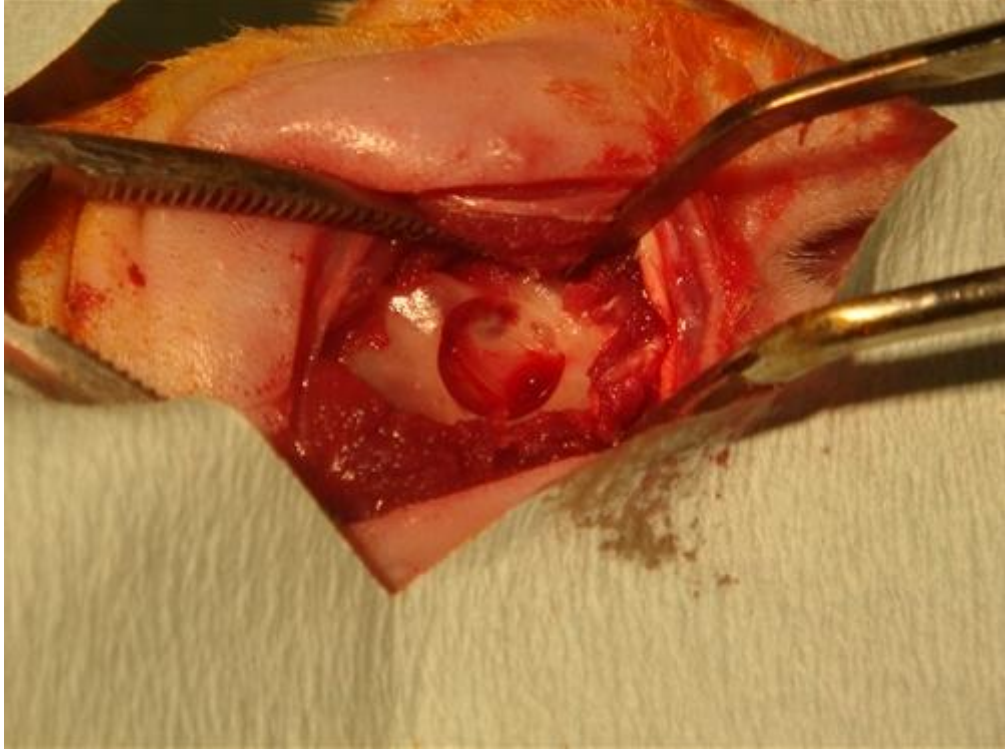
Şekil 3.3: Rat mandibulasında açılacak defektin anatomik lokasyonu



Şekil 3.4: Çalışmada kullanılan trefan frez (Ø 5mm)



Şekil 3.5: Kortikal tabakası 5mm çapında alınmış rat mandibulası



Şekil 3.6: Oluşan defekt alanı



Şekil 3.7: Zoledronik asit emdirilmiş jelatin sünger



Şekil 3.8: Operasyon bölgesinin primer suture sonrası görüntüsü.

3.3. Deneysel Hayvanların Bakımı

Hayvanlara postoperatif dönemde analjezik olarak Carprofen 4 mg/kg (Rimadyl, Pfizer, ABD) subkutan ve antibakteriyel olarak Ceftriaxon 25 mg/kg (Rocephin, Roche, Basel, İsviçre) intramuskuler yolla 5 gün boyunca uygulandı. 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık periyoduyla polikarbon kafeslerde deney süresince yaşatıldı. Sıcaklık ortalama 22-24 °C ve %55-70 nemli ortam sağlandı. Deneysel hayvanları operasyon sonrası dönemde rat yemi ve yeteri kadar su ile beslendi.

3.4. Doku Takibi ve Değerlendirmesi

Ratlar cerrahi işlem sonrası 7. ve 30. günde 200mg/kg sodyum pentobarbital (Petotal, Abbot, ABD) ile sakrifiye edildi ve mandibulaları çıkartıldı. Bu işlemden sonra örnekler alt gruplara ayrıldı. Gruplandırılan mandibulalar eksize edildikten hemen sonra %10 tamponlanmış formaldehitte 48 saat tespit edildi. Akan musluk suyunda yıkanan dokular yumuşak dokulardan temizlenerek defekt sahaları açığa çıkartıldı.

Elde edilen örnekler, %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonunda 24-72 saat fikse edildikten sonra %10'luk asetik asit içinde dekalsifikasyonları sağlandı. Üç günde

bir asetik asit solüsyonları değiştirilmek suretiyle, 2-3 haftada dekalsifikasyonları tamamlanan örnekler bir gece boyunca akarsuda yıkanıp, rutin doku takip prosedürünü takiben parafin bloklara gömüldü. Dokulardan, adheziv lamlara (Surgipath, X-tra Adhesive Microslides, Illinois, USA) 4µm kalınlığında hemotoksilen-eozin boyaması için, kademeli olarak kesitler alındı.

Histopatolojik inceleme için rutin hemaotoksilen-eozin ile boyanan kesitler, 65°C'de etüv içinde deparafinize edilip, sırasıyla 30'ar dakika ksilol ve alkolde bekletildikten sonra çeşme suyunda yıkanıp boyama işlemine tabi tutuldu. Vakalara ait tüm histopatolojik değerlendirmeler Leica DM 4000 B (Leica Microsystems GmbH, Germany) ışık mikroskopunda yapıldı.

Örneklere ait kesitlerde, başta defekt alanındaki yeni kemik dolumu olmak üzere, osteoblastik ve osteoklastik aktivite, inflamatuvar cevap ve olası yabancı cisim reaksiyonu incelendi. Osteoblastlar ve osteoklastlar 40x büyütmede (0,103mm²) defektin 5 ayrı bölgesinden fotoğrafları alınarak sayıldı ve 5 bölgenin ortalamaları alındı.

Defekt alanının iyileşme ve kemikleşme miktarı Çizelge 3.1'e göre derecelendirildi¹⁴.

Defekt içi doku yapısı	Derece
İyileşme yok	0
Fibröz doku baskın	1
Spikuler kemik oluşumu	2
Spikuler ve trabeküler kemik	3
Trabeküler ve kompakt kemik	4

Çizelge 3.1: Kemik iyileşme skorları

3.5 İstatistiksel yöntem

İstatistiksel analiz SPSS 17.0 for Windows programı yardımıyla yapıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri (ortalama, ortanca, standart sapma, minimum ve maksimum) verildi, gruplar arası karşılaştırmalar normal dağılıma uygunluk varsayımı altında Varyans Analizi(ANOVA) ya da Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapıldı, gruplar arası fark bulunan verilerin ikili karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmanın hiçbir aşamasında sakrifikasyon süresine kadar deney hayvanlarından ölen olmadı. Primer kapatılan yaraların hiçbirinde iltihaplanma veya enfeksiyon gözlenmedi.

4.1 Histolojik Değerlendirme Bulguları

Defektlerin bazılarının tabanında diş germi olduğu gözlendi, fakat bunun kemik iyileşmesini olumsuz yönde etkilemediği görüldü.

Kontrol 7. Gün Bulguları

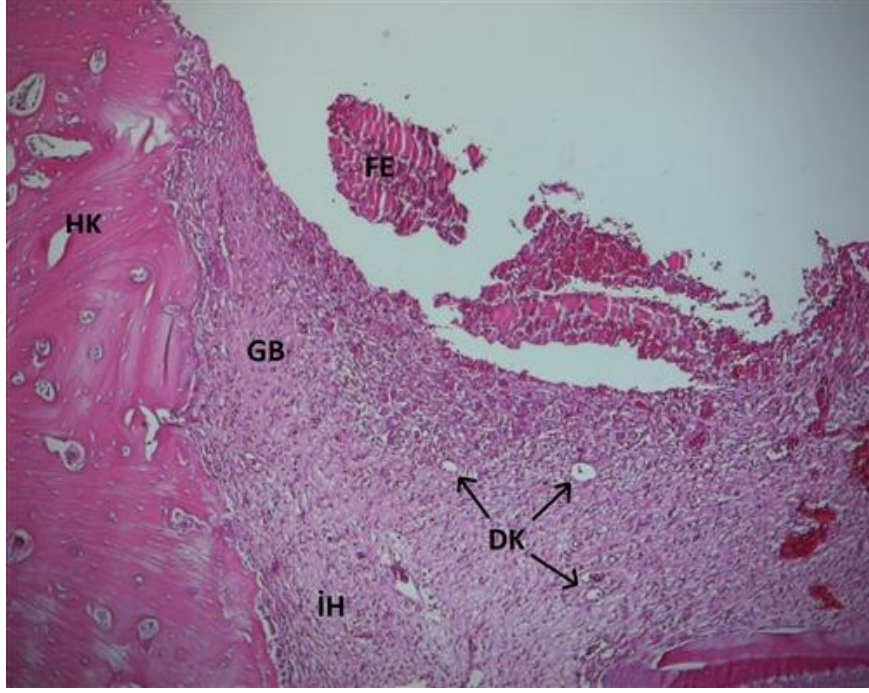
Defektler tamamen vaskularize gevşek bağ dokusu ile dolu olup, aktif kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve geniş serbest kanama alanları içermektedir. Yeni kemik yapımına rastlanmamıştır. Bazı örneklerde lenfoid agregatlara ve apse formasyonuna rastlanmıştır (Şekil 4.1).

Lokal 7. Gün Bulguları

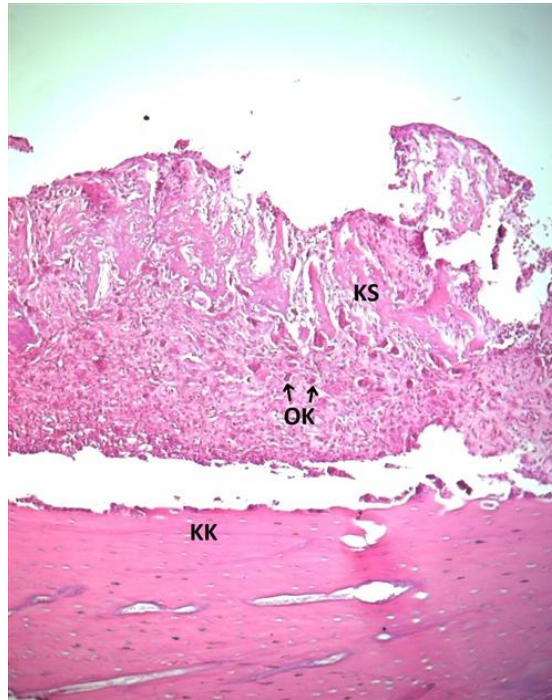
Defekt yüzeyi fibrin eksuda ile kaplı ve akut inflamatuvar hücre infiltrasyonu mevcut olduğu görüldü. Yeni kemik oluşumu izlenmedi. Bir örnekte defekt alanın içindeki inflamatuvar infiltratta osteoklast tipi dev hücre varlığı izlendi. Diğer bir örnekte defekt kenarlarında yeni kemik yapımı dikkati çekmiştir. Osteoid matriks ve bu matriksi çevreleyen osteoblastlar görülmektedir. Sınırlı alanda izlenen bu yeni kemik yapımı defektin her iki kenarında da mevcuttur. Aynı örnekte defekt içinde yabancı cisim varlığı (muhtemelen jelatin sünger) ve bu cisim etrafında çok çekirdekli yabancı cisim dev hücreleri izlendi. Diğer örneklerde jelatin süngerin kalıntılarına rastlanmadı (Şekil 4.2).

Sistemik 7. Gün Bulguları

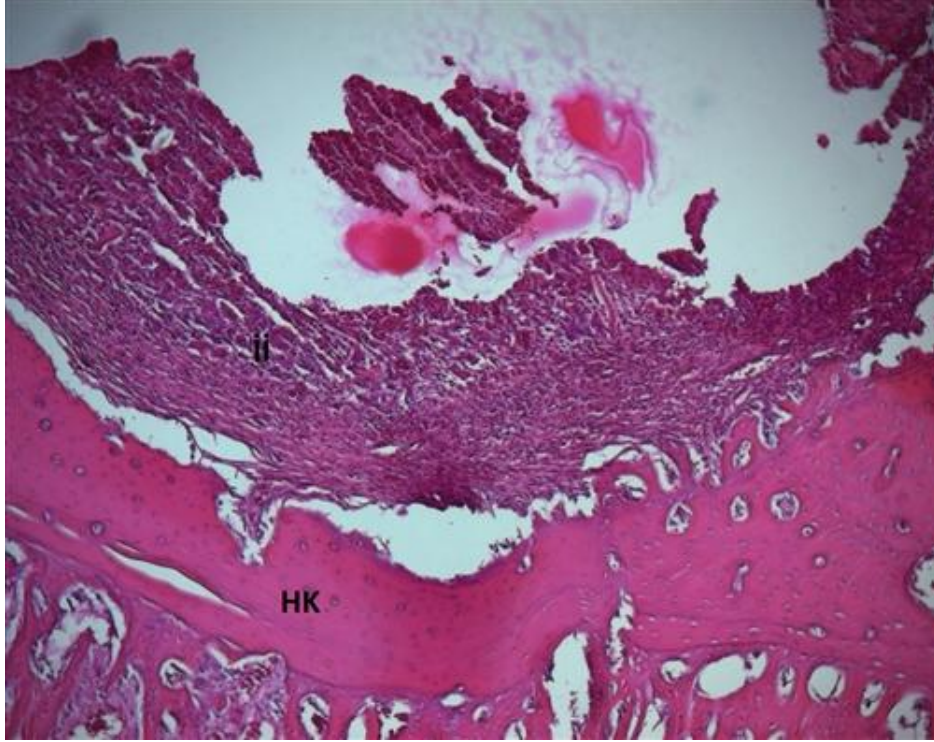
Tüm örneklerde, defekt alanının tamamıyla gevşek vaskularize bağ dokusu ile dolu olduğu yaygın serbest kanama alanları ve yer yer apse formasyonu gösteren nötrofilden zengin akut inflamatuvar hücre infiltrasyonu içerdiği görülmüştür. Yeni kemik yapımı veya artmış osteoblastik veya osteoklastik aktivite izlenmemiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.1: Kontrol 7. gün grubunda henüz inflamatuvar cevap görülmemekte. (HK: konak kemik, GB: gevşek bağ dokusu, İH: inflamatuvar hücreler, DK: dilate kapillerler, FE: fibrin eksüda, HE X40)



Şekil 4.2: Lokal 7. gün grubunda yeni spikuler kemik oluşumunun başladığı görülmekte. Aynı matriksin içinde osteoklast hücreleri gösterilmektedir. (KS: kemik spikuler, OK: osteoklast, KK: kompakt kemik, HE X40)



Şekil 4.3: Sistemik 7. gün grubunda inflamatuvar hücreler görülürken kemik oluşumu daha başlamamış. (İİ: inflamatuvar infiltrat, HK: konak kemik, HE X40)

Kontrol 30. Gün Bulguları

Defekt alanını kapatan yeni yapılmış trabeküler kemik ile dolduğu görüldü. Bunun altında aktif bağ dokusu içinde geniş alanlarda yeni kemik trabekülleri görülmekteydi (Şekil 4.4).

Lokal 30. Gün Bulguları

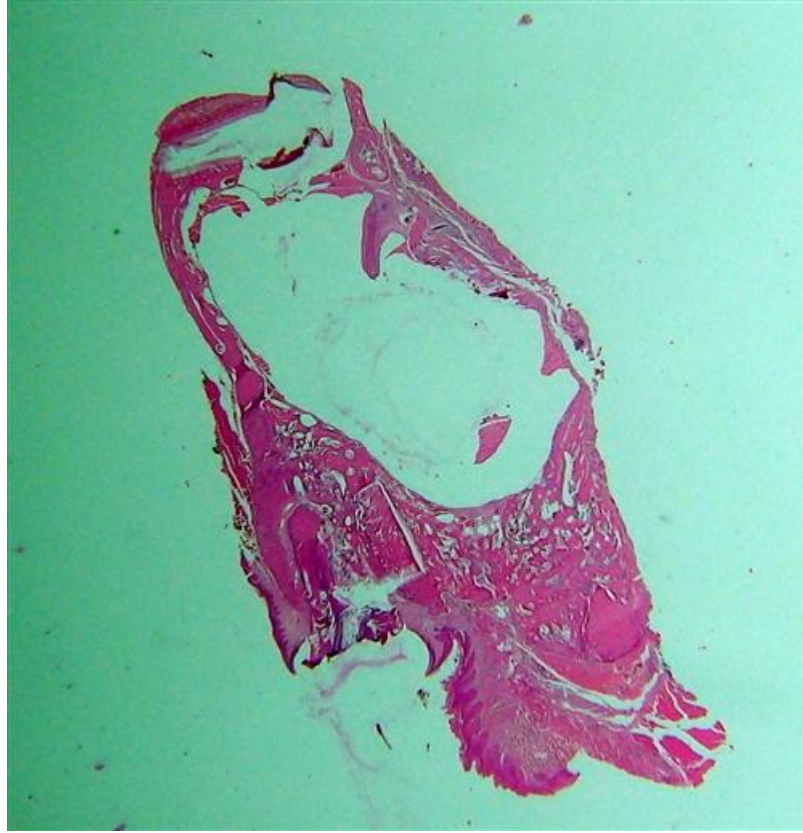
Boş defekt alanının tavanının muhtemel periosteal aktivite ile kapandığı izlenmiş olup, defekt alanı içinde nekrotik kemik speküllerinin varlığı dikkati çekmiştir. Örneklerin 7'sinde bu yeni oluşan kemik çatı gözlenmiştir (Şekil 4.5). Lokal olarak uygulanan materyale karşı gelişmiş herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu gözlenmemiştir. Nekrotik kemik spekülleri etrafında veya gömülmüş olarak osteoblastik veya osteoklastik aktivite görülmemiştir (Şekil 4.6).

Sistemik 30. Gün Bulguları

Lokal 30. gün grubuna benzer iyileşme görüldü. Yeni kemik trabeküllerinin bazı örneklerde düzenli biçimde oluştuğu gözlemlendi. Bağ dokusuna pek rastlanmadı (Şekil 4.7).



Şekil 4.4: Kontrol 30. gün grubunda defekt tabanında diş olduğu görülmekte. (YK: yeni kemik, TD: tübüler dentin, DTV: defekt tavanı, HE X40)



Şekil 4.5: Lokal 30. gün grubunda defekt tavanında oluşan kemik çatı daha net görülmektedir. (HE X40)



Şekil 4.6: Lokal 30. günde defekt tavanında oluşan kemik çatı görülmekte. (YK: yeni kemik, DTV: defekt tavanı, DTB: defekt tabanı, HE X40)



Şekil 4.7: Sistemik 30. günde oluşan trabeküler kemik görülmekte (TK:trabeküler kemik, DTB: defekt tabanı, HE X40)

7. gün tüm gruplar ve 30. gün tüm gruplar arasındaki kemik iyileşmesi istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p<0,05$).

7. gün kontrol grubu ve 30. gün kontrol grubu arasındaki kemik iyileşmesi istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p<0,05$).

7. gün lokal grubu ve 30. gün lokal grubu arasındaki kemik iyileşmesi istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p<0,05$).

7. gün sistemik grubu ve 30. gün sistemik grubu arasındaki kemik iyileşmesi istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p<0,05$).

Kemik iyileşme skorları Çizelge 4.1’de verilmiştir

Denekler Gruplar	1	2	3	4	5	6	7	8
K7	0	2	1	1	1	1	1	1
K30	2	2	3	3	3	3	3	3
L7	2	1	1	2	2	0	2	2
L30	4	4	4	3	4	3	4	4
S7	1	1	1	2	0	1	0	1
S30	3	2	3	3	3	1	3	3

Çizelge 4.1: Kemik iyileşme skorları (K7: kontrol 7 gün, K30: kontrol 30 gün, L7: lokal 7 gün, L30: lokal 30 gün, S7: sistemik 7 gün, S30: sistemik 30 gün)

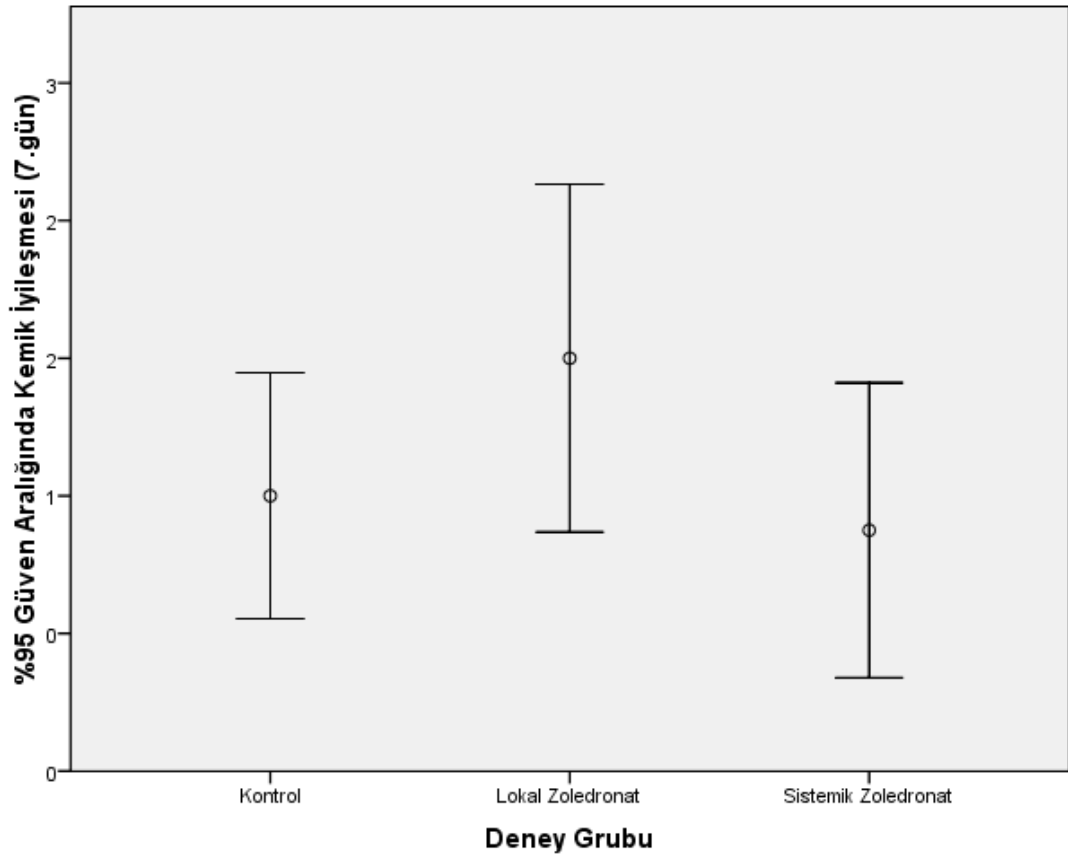
Gruplar yeni kemik alanı yönünden ikişerli olarak karşılaştırıldığında 7. gün grupları arasındaki fark anlamlı değildir (Çizelge 4.4). 30. gün gruplarında ise kontrol ile lokal ve sistemik ile lokal grupları arasındaki fark önemli iken kontrol ve sistemik gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0,05$). (Çizelge 4.5).

Kemik iyileşmesi (7.Gün) Çizelge 4.2 ve Şekil 4.8’de verilmiştir.

Deney Grubu	N	Ortalama	Ortanca	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p*
Kontrol	8	1,00	1	0,53	0	2	0.127
Lokal ZA	8	1,50	2	0,76	0	2	
Sistemik ZA	8	0,88	1	0,64	0	2	
Toplam	24	1,13	1	0,68	0	2	

*Kruskal-Wallis testi

Çizelge 4.2: Kemik iyileşmesi 7. gün grupları arasında anlamlı olarak farklı değildir ($p>0,05$)



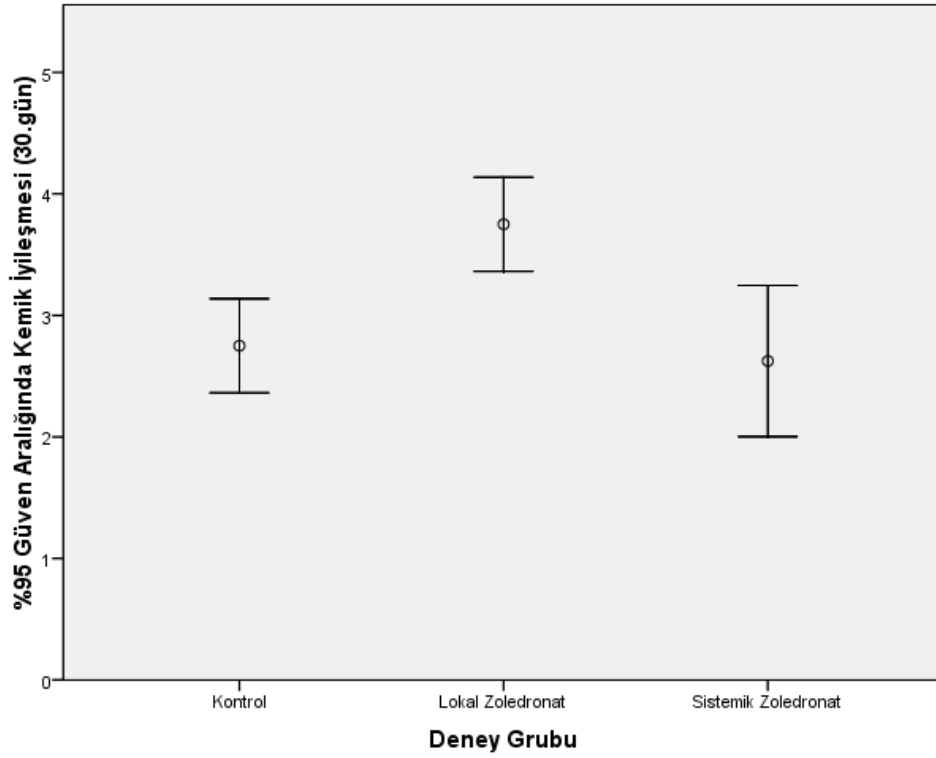
Şekil 4.8: 7. gün kemik iyileşmesinin gruplara göre dağılımı

Kemik İyileşmesi (30.Gün) Çizelge 4.3 ve Şekil 4.9’da verilmiştir. Kemik iyileşmesinin 30. gün grupları arasındaki farkı anlamlıdır ($p<0,05$)

Deney Grubu	N	Ortalama	Ortanca	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p*
Kontrol	8	2,75	3	0,46	2	3	0.002
Lokal ZA	8	3,75	4	0,46	3	4	
Sistemik ZA	8	2,63	3	0,74	1	3	
Toplam	24	3,04	3	0,75	1	4	

*Kruskal-Wallis testi

Çizelge 4.3: Kemik iyileşmesinin 30. gün grupları arasındaki farkı anlamlıdır ($p<0,05$)



Şekil 4.9: 30. gün kemik iyileşmesinin gruplara göre dağılımı

Kemik İyileşmesi (30.Gün) İkili Karşılaştırması Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Deney Gruplarının İkili Karşılaştırılması	p*
Kontrol vs. Lokal Zoledronat	0.003
Kontrol vs. Sistemik Zoledronat	0.890
Lokal Zoledronat vs. Sistemik Zoledronat	0.003

*Mann-Whitney U testi (anlamlılık sınırı bonferroni düzeltmesiyle 0.05/3=0.0167)

Çizelge 4.4: Lokal grubun kemik iyileşmesinin diğer gruplarla arasındaki fark anlamlıdır (p<0,0167)

Osteoblast sayıları Çizelge 4.5’te verilmiştir

Denekler Gruplar	1	2	3	4	5	6	7	8
K7	95	50	64	24	19	30	40	22
K30	26	46	39	40	54	29	60	50
L7	30	60	41	24	16	19	50	46
L30	48	61	72	54	40	30	30	58
S7	20	30	21	20	24	61	16	30
S30	80	41	38	28	84	42	46	45

Çizelge 4.5: X40 büyütme alanında (0,103mm²) sayılan osteoblast sayıları

Osteoklast sayıları Çizelge 4.6'te verilmiştir.

Denekler Gruplar	1	2	3	4	5	6	7	8
K7	2	5	6	7	5	3	4	6
K30	1	2	5	7	2	1	3	6
L7	3	2	1	3	5	4	3	7
L30	4	1	1	1	2	4	2	1
S7	3	6	6	4	2	1	12	5
S30	2	1	4	3	1	10	1	5

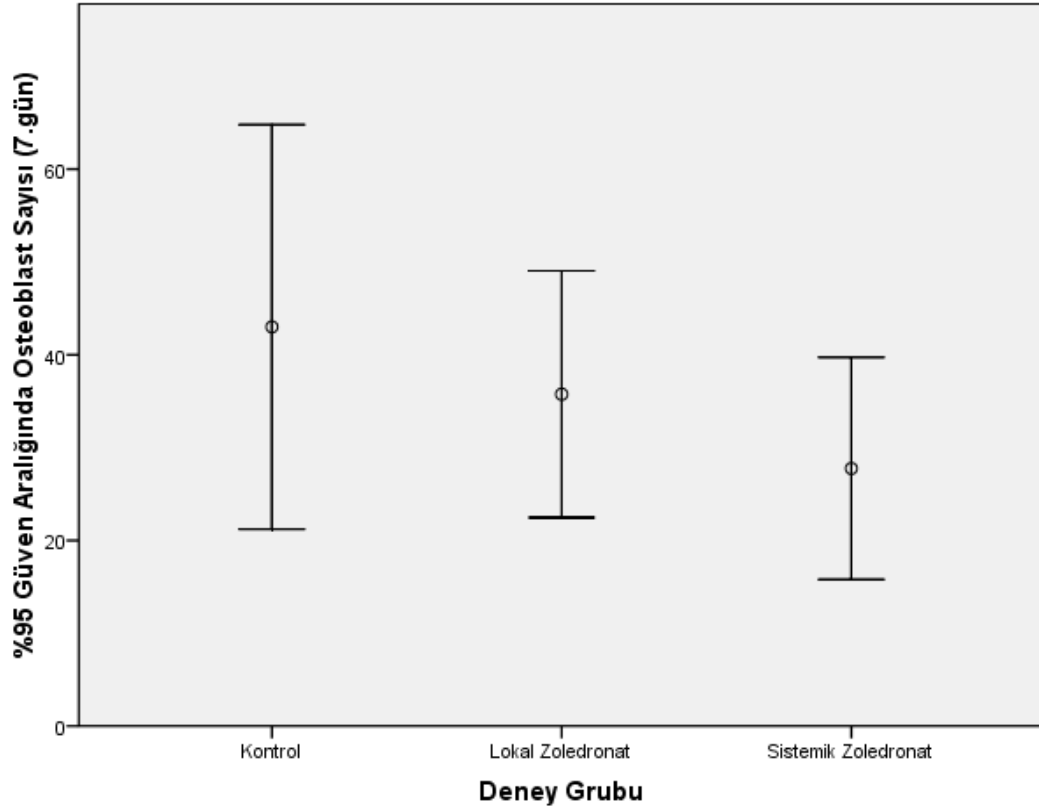
Çizelge 4.6: 40x büyütme alanında (0,103mm²) sayılan osteoklast sayıları

Osteoblast Değerleri (7.Gün) Çizelge 4.7 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.

Deney Grubu	N	Ortalama	Ortanca	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p*
Kontrol	8	43,00	35	26,05	19	95	0.372
Lokal ZA	8	35,75	35,5	15,88	16	60	
Sistemik ZA	8	27,75	22,5	14,31	16	61	
Toplam	24	35,50	30	19,65	16	95	

*Kruskal-Wallis testi

Çizelge 4.7: 7. gün gruplarında osteoblast sayıları arasındaki fark anlamlı değildir (p>0,05)



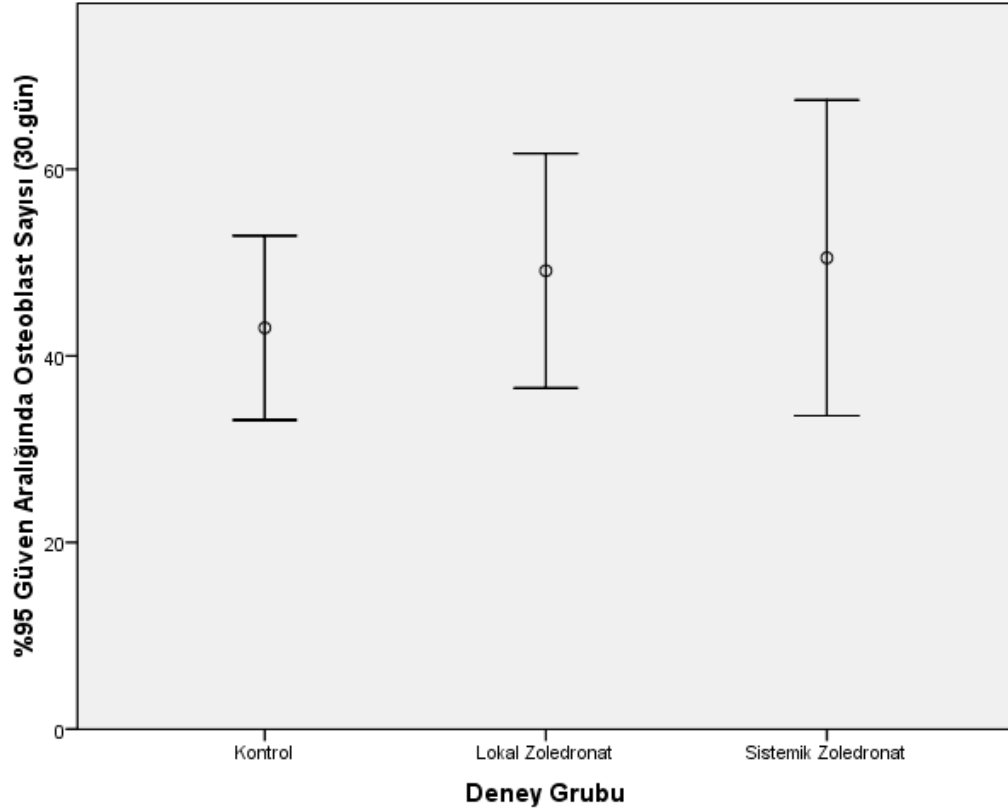
Şekil 4.10: 7. gün osteoblast sayılarının gruplara göre dağılımı

Osteoblast Değerleri (30.Gün) Çizelge 4.8 ve Şekil 4.11’de verilmiştir.

Deney Grubu	N	Ortalama	Ortanca	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p*
Kontrol	8	43,00	43	11,82	26	60	0.617
Lokal ZA	8	49,13	51	15,04	30	72	
Sistemik ZA	8	50,50	43,5	20,24	28	84	
Toplam	24	47,54	45,5	15,72	26	84	

*One-Way ANOVA testi

Çizelge 4.8: 30. gün gruplarında osteoblast sayıları arasındaki fark anlamlı değildir (p>0,05)



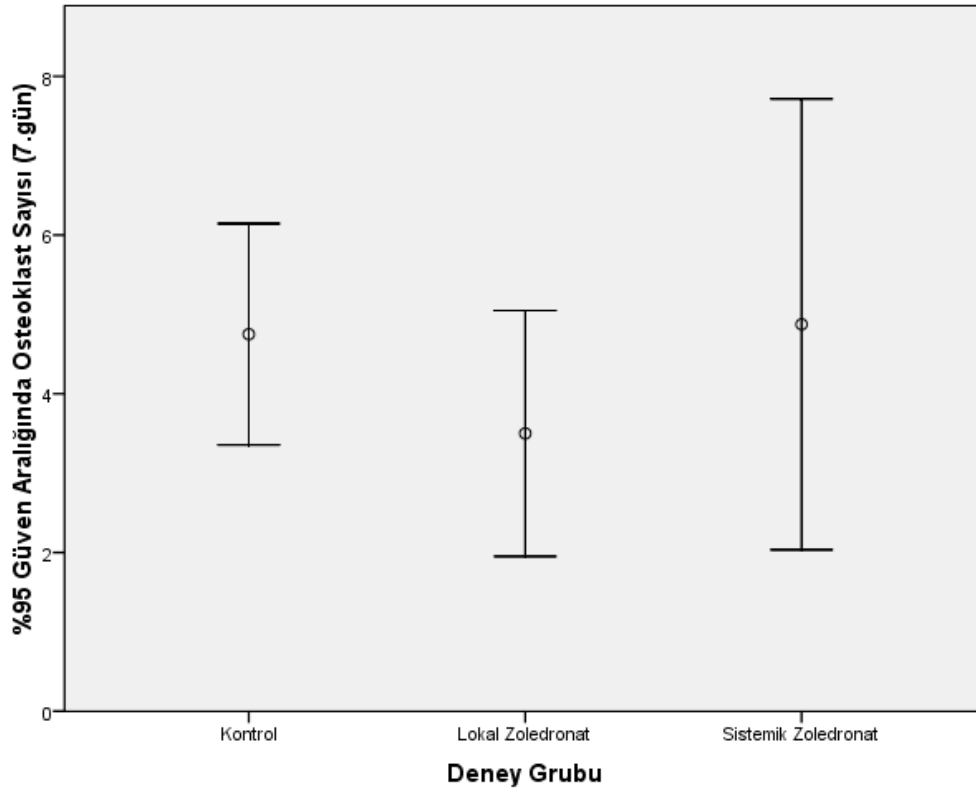
Şekil 4.11: 30. gün osteoblast sayılarının gruplara göre dağılımı

Osteoklast Değerleri (7.Gün) Çizelge 4.9 ve Şekil 4.12’de verilmiştir.

Deney Grubu	N	Ortalama	Ortanca	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p*
Kontrol	8	4,75	5	1,67	2	7	0.404
Lokal ZA	8	3,50	3	1,85	1	7	
Sistemik ZA	8	4,88	4,5	3,40	1	12	
Toplam	24	4,38	4	2,41	1	12	

*Kruskal-Wallis testi

Çizelge 4.9: 7. gün gruplarında osteoklast sayıları arasındaki fark anlamlı değildir (p>0,05)



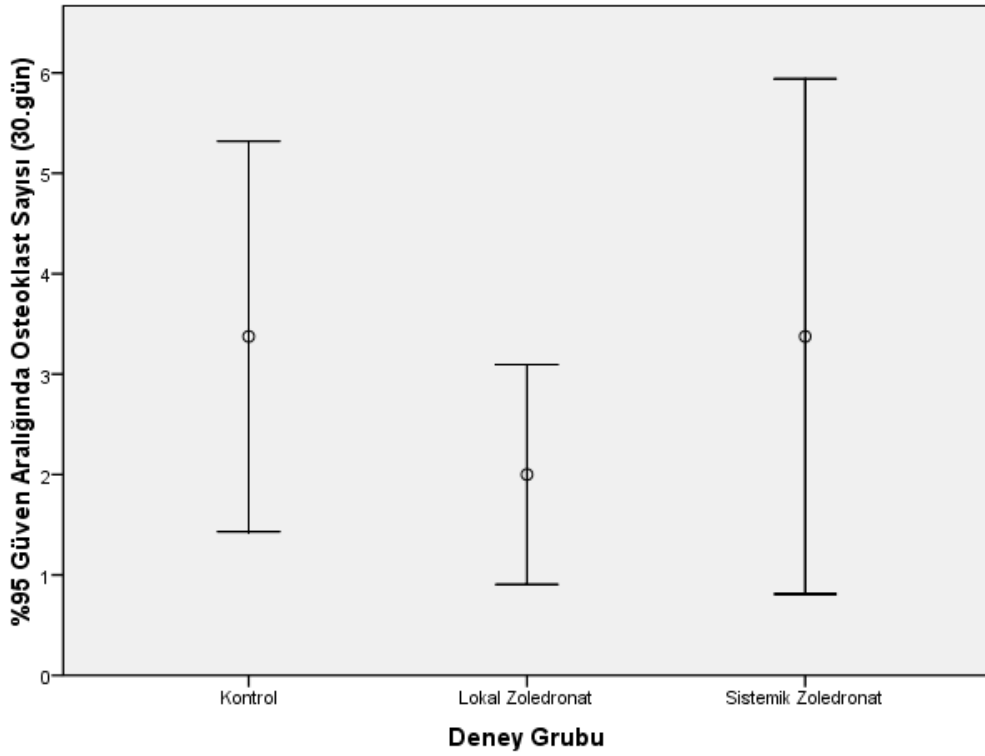
Şekil 4.12: 7. gün osteoklast sayılarının gruplara göre dağılımı

Osteoklast Değerleri (30.Gün) Çizelge 4.10 ve Şekil 4.13’de verilmiştir.

Deney Grubu	N	Ortalama	Ortanca	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p*
Kontrol	8	3,38	2,5	2,33	1	7	0.420
Lokal ZA	8	2,00	1,5	1,31	1	4	
Sistemik ZA	8	3,38	2,5	3,07	1	10	
Toplam	24	2,92	2	2,34	1	10	

*Kruskal-Wallis testi

Çizelge 4.10: 30.gün gruplarında osteoklast sayıları arasındaki fark anlamlı değildir (p>0,05)



Şekil 4.13: 30. gün osteoklast sayılarının gruplara göre dağılımı

Osteoblast ve osteoklast sayısı 7. günlerin tümü ve 30. günlerin tümü karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu. (p>0,05).

5. TARTIŞMA

Kemik defektlerinin restorasyonu gerek maksillofasial cerrahide gerekse ortopedide çözüm bekleyen ve üzerinde yoğun çalışılmış bir konudur. Bu amaçla otojen kemik greftlerinin kullanımı "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Bu greftlerin ikinci bir cerrahi işleme ihtiyaç göstermesi, donör bölgede morbidite oluşturması ve istenilen miktarda elde edilememesi gibi dezavantajları vardır¹⁰⁶⁻¹⁰⁸. Allogreftler ise enfeksiyon hastalıklarının taşınması riskine sahiptirler ve bunu önlemek için uygulanan sterilizasyon yöntemleri allogreftlerin biyolojik özelliklerinden fedakârlık gerektirir. Bu nedenle günümüzde otogreftlere alternatif olarak xenogreftler, inorganik greftler (kalsiyum hidroksiapatit, seramik kalsiyum fosfat), sentetik greftler (bifazik TCP/HA), degrade olan materyaller (polilaktik asit, poliglikolik asit), farmakolojik materyaller (bifosfonatlar, statinler), biyoaktif büyüme materyalleri (kemik morfojenik proteinleri, transforming growth faktör alfa vb.) gibi kemik tamirini olumlu yönde etkileyebilecek, ek morbiditeye neden olmayan ve istenildiği kadar elde edilebilen biyomalzemeler denenmiştir^{107,109-111}. Çoğu greft materyallerinin osteokondüktif etkisine karşın, bifosfonatlar farmakolojik özellikleri olan bir ilaç grubu olup, kemik üzerinde osteoindüktif etkisinin olup olmadığı son yıllarda yapılan çalışmalarda tartışılmıştır.

Bifosfonatlar kemik rezorpsiyonu karakterli hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılan bir ilaç grubudur. Temel olarak osteoklastik kemik yıkımını engelleme yoluyla etki gösteren bu ilaçların osteoporoz tedavisindeki etkinliği kanıtlanmıştır. Bifosfonatların kemik mineral yoğunluğunu artırarak osteoporotik kırık riskini azalttığı birçok klinik ve hayvan çalışmasında gösterilmiştir. Azot içeren bifosfonatların potensitesi ve kemik yarılanma ömrünün azot içermeyenlere göre daha fazla olduğu bilinmektedir^{112,113}.

Genel olarak büyük hayvanların biyomekanik testler ya da yeni bir aygıt tasarlanmasında tercih edildiği, küçük hayvanların ise daha çok kemik iyileşmesinin moleküler mekanizmaları ve moleküler genetiğinde kullanılması konusunda fikir birliği sağlanmıştır¹¹⁴. Bugüne kadar köpek, koyun, maymun ve tavşan modelleri üzerinde çalışmalar yapılmış olsa da, büyük hayvanlar pahalı olmaları ve bakımlarının zor olması gibi birçok dezavantaja sahiptir. Yapılan bu çalışmada, temin edilebilme kolaylığı, ucuz olmaları, büyük hayvanlara göre daha kolay manipüle edilmeleri, daha fazla örnek

alınabilme imkânı sunmaları, fizyolojileri hakkında yeterli kaynak bulunması, enfeksiyona olan dirençleri gibi avantajları nedeniyle rat kullanılmıştır¹¹⁵. Memeli dişi hayvanların hormonal farklılıklara bağlı olarak stabil olmayan bir metabolizmaları vardır. Tüm bu nedenler göz önünde bulundurularak, bu çalışmada yetişkin erkek rat kullanılmıştır.

Kemik defekti ve kırık iyileşmesinde rat modelinin kullanıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır^{52,58,59-61}. Bu çalışmalarda kemik modeli olarak, manipülasyonlarının kolaylığı, cerrahi olarak kolay ulaşılabilirlikleri ve morfolojik yapıları ile histopatolojik preparatlarının hazırlanabilirliğinin kolaylığı gibi nedenlerle endokondral kemikleşen uzun kemikler (tibia, femur) kullanılmıştır. Bunun yanı sıra az olmakla birlikte intramembranöz kemikleşen kraniofasiyal kemikler de (mandibula, zigoma, kalvaria) kullanılmıştır¹¹⁶⁻¹²¹. Zoledronik asitin kemik iyileşmesine etkilerinin incelendiği kırık modelleri araştırıldığında da uzun kemiklerde yapılmış çalışmalar olduğu görülmektedir¹²². Defekt iyileşmesi intramembranöz kemikleşme ile alakalı olduğu için çalışmamızı mandibula üzerinde yapmanın daha faydalı olacağını düşündük. Ayrıca mandibula defektlerinin çene cerrahisi pratiğinde sıkça rastlanan olgular olması çalışmamızın klinik değerini arttıracaktır.

Nobre ve ark. spontan hipertansif ratlarda yaptıkları çalışmada ratların femurlarına monokortikal defekt açmışlar ve alendronat sodyumu lokal olarak defekte uygulamışlardır¹²³. Biz de çalışmamızda mandibulada açtığımız defekti, mandibula dayanıklılığına zarar vermemek için monokortikal olarak açtık. Rat mandibulasının anatomik yapısını incelediğimizde angulus bölgesindeki kemiğin çok ince olduğunu, bu yüzden monokortikal defekt açılacak bölgenin daha ileride korpus bölgesinde olmasını uygun gördük (Şekil 3.3). Angulus bölgesinden uzak durmamızın bir diğer sebebi, çiğneme kaslarının yapışıklığını bozmamak ve beslenmeyi olumsuz yönde etkilememektir. Yaptığımız incelemede korpus bölgesi maksimum 6mm çapta dairesel defekte izin verecek anatomide idi ve güvenli olması bakımından defektin çapının 5mm olmasına karar verdik. Monokortikal defekt açmaktaki diğer sebepler ise korpus bölgesinin arka tarafında azı dişler olması ve hayvanların beslenmesinin olumsuz yönde etkilenmemesi ve mandibula bütünlüğünü ve sağlamlığını fazla azaltmamaktır.

Nobre ve ark. lokal alendronatın ratlardaki kemik defektlerinin iyileşmesine etkisini incelediği çalışmada hayvanları 7. ve 21. günde incelemiştir. Yaptıkları çalışmada sistemik ZA grubu yoktur(nobre-08). Sistemik ZA kullanılan çalışmalarda

sakrifiye süreleri 4-6-8 hafta gibi daha uzun olabilmektedir^{124,125}. Çalışmamızda hem lokal hem de sistemik ZA kullandığımız grubumuz olduğu için 7 gün ve 30 gün olarak planladık.

Pampu ve ark.¹²⁶ sistemik ZA uygulamasının tavşan mandibulasında yapılan distraksiyon osteogenezis alanındaki yeni oluşan kemiği olumlu yönde etkilediğini rapor etmişlerdir.

Tagil ve ark.¹²⁴ sistemik olarak ZA yüklenmiş olan ratlardan alınan allogreftin ilaç almayan ratlara yerleştirildiğinde greftin rezorpsiyon oranının ZA yüklenmemiş allogreftlere göre daha az olduğunu ve kemik formasyonunun belirgin derecede fazla olduğunu saptamışlardır.

Kaynak ve ark.¹²⁷ 0.5 mg/kg'lık alendronatın kemik rezorpsiyonuna olan etkisini histopatolojik olarak incelemişlerdir. İlacı, mukoperiosteal flep cerrahisinden 1 hafta önce, cerrahi esnasında ve cerrahiden 1 hafta sonra olacak şekilde subkutan uygulamışlar ve 21 gün sonra hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Periodontal dokulardaki inflamatuvar hücre infiltrasyonuna, fibrozis ve kollajen formasyonuna, rezorpsiyon alanlarına (osteoklast yüzeyler), osteoblastik aktiviteye (oluşum yüzeyleri), osteoklast sayısı ve morfolojisine bakmışlardır. Sonuçlarda alendronat grubunda fibrozis ve kollajen formasyonunun istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığını ve rezorpsiyon alanlarının azaldığını bulmuşlardır. Diğer değerler için fark bulamazken alendronatın kullanıldığı taraftaki osteoklast morfolojilerinin bozulmuş olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda alendronatın periodontal hastalıkta tek başına veya antiinflamatuvar ilaçlar, kemik greftleri, membranlar ve dental implantlarla kombine olarak kullanılabileceğini söylemişlerdir.

Rocha ve ark.¹²⁸ alendronatın sistemik kullanımının, periodontal hastalıkta görülen kemik yıkımına etkisini postmenapozal kadınlarda kemik yıkımının sistemik bir nedenle artmış olduğu periodontitis hastalarında incelemişlerdir. Araştırmacılar 6 ay süresince günlük 10 mg alendronat kullanımının kemik yüksekliğini artırdığını ve cep derinliğini, sondlamada kanamayı, kemik turnoverını azalttığını rapor etmişlerdir.

Lane ve ark.¹²⁹ orta veya şiddetli periodontitisi olan bireyleri iki gruba ayırmışlardır. Grupların birine bir yıl süreyle alendronat (10 mg/gün) veya risedronat (5 mg/gün) oral tablet olarak verirken diğer gruba placebo vermişlerdir. Her iki gruba da periodontal tedavi uygulamışlardır. Araştırmacılar, başlangıç, 6 ve 12 aylık klinik ve

radyografik değerlendirmelere bakarak, ilaç kullanan bireylerdeki ataman kazancının daha fazla olduğunu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğunu söylemişlerdir. Ayrıca radyografik olarak yapılan incelemeler ilacın periodontal kemik yoğunluğunu koruduğunu göstermiştir. Sonuçta, aminobifosfonatların periodontal tedaviye destek olacak şekilde kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Little ve ark. ¹³⁰ yaptıkları bir çalışmada tavşanların femurlarındaki kritik boyutlu kemik defektlerinde osteojenik protein 1 (OP-1)'in kemik yapımındaki anabolik etkisi ile ZA'in kemik üzerindeki anti-katabolik etkilerini birleştirmek istemişlerdir. OP-1'i lokal, ZA'i ise 0.1mg subkutan uygulamışlardır. Oluşturdukları gruplar ise boş defekt, boş defekt +ZA, OP-1, OP-1 + ZA, OP-1 + ZA 2 doz şeklinde olmuştur. OP-1 + ZA 2 doz grubundaki yeni oluşan kemik kallus hacmi ve kemik mineral yoğunluğu, OP-1 tek uygulanan gruptan yaklaşık 2 kat fazla olmuştur. Bu ikili uygulamanın klinik olarak büyük yararları olabileceğini belirtmişlerdir. Benzer bir çalışmayı Harding ve ark. yapmışlardır ve benzer sonuç elde etmişlerdir¹³¹.

Literatürdeki çalışmaların çoğu bifosfonatların sistemik kullanıma yöneliktir. Ancak bifosfonatların sistemik kullanımda %10 oranında gastrointestinal rahatsızlık, hipokalsemi, hipofosfatemi, baş ağrısı, kas ağrı ve krampları gibi yan etkiler gözlenmiştir. %1 oranında ise anjioödem, duodenal ülser, özefagus erozyonları, orafarengeal ülser, aşırı duyarlılık reaksiyonları, ürtiker gibi yan etkiler de grlebilmektedir⁴³. Bu yan etkilere ek olarak, Hellstein ve Marek'in ¹³² belirttiğine göre, parenteral verilen bifosfonatlar çene kemiğinde osteokemonekrozise neden olmaktadır. Bunun sonucunda da çene kemiğinde ağrılar ve iyileşmeyen yaralar oluřmaktadır¹⁴¹. Periodontolojide ve implantoloji alanlarında karşılaşılan hastalıkların büyük lde lokal olması ve bütün vücuda uygulanacak sistemik bir tedaviye gerek duyulmaması; aynı zamanda bifosfonatların sistemik uygulamasıyla karşımıza çıkan istenmeyen etkileri nedeniyle bifosfonatların lokal kullanımı bir tercih sebebi olabilmektedir.

İlk olarak 1997 yılında Yaffe ve ark.¹⁰ alendronatın lokal uygulamada mukoperiosteal flep kaldırılması sonrası oluşan kemik yıkımını engelleyebileceğini ratlar üzerinde göstermişlerdir. Araştırmacılar 20 mg alendronatı 1 ml serum fizyolojik içerisinde çözündürerek alendronat solüsyonunu hazırlamışlar ve 1 mm'lik jelatin süngerleri 0,025 ml alendronat solüsyonu ile kaplayıp flep kaldırarak rat mandibulasına yerleştirmişlerdir. Radyografik olarak elde edilen görüntü analizlerinin sonucunda lokal

olarak alendronat uygulanmayan bölgelerde geniş rezorpsiyon alanları gözlenirken alendronat uygulanan bölgelerde bunlara rastlanmadığı gibi kemik yoğunluğunun da arttığını gözlemlemişlerdir. Biz de çalışmamızda lokal ZA uygulamak için defekte uygun büyüklükte hazırlanan jelatin süngere 50µM ZA solüsyonu emdirip defekte yerleştirdik.

Alendronatın lokal uygulanmasına yönelik farklı bir tekniği, Meraw ve ark.¹³³ geliştirmişlerdir. Araştırmacılar alendronatı implant yüzeyine uygulamış ve alendronatsız implantlarla karşılaştırarak, kemik-implant ilişkisine olan etkisini incelemişler, alendronatın kemik oluşumunu hızlandığını göstermişlerdir.

Tanzer ve ark.¹³⁴ poröz yapıdaki tantalyum implantları köpek ulnalarına yerleştirmiş ve lokal zoledronat salınımı özelliği kazandırılmış implantların uygulandığı deney grubunu oluşturmuştur. 12 haftalık bekleme süresinden sonra yapılan incelemede benzer sayıda kemik adacıkları oluştuğunu fakat zoledronat salınımı olan deney grubundaki kemik adacıklarının % 71 daha büyük oluştuğunu bildirmişlerdir.

Zoledronik asit ve etkileri üzerine yapılmış çalışmaların sonuçları, kemik içi dental implantların yerleştirildikten sonraki dönemde implant kemik ara yüzeyinin iyileşme sürecini kısaltabileceğini desteklemektedir.^{133, 134}

Kurth ve ark.¹³⁵ overektomi yapılan ratlarla yaptıkları deneyde, düşük doz ibandronat bir kez sistemik verildiği gruptaki femura konulan titanyum implantlarda kontrol grubuna göre daha fazla osseointegrasyon alanı olduğunu ve implant çevresindeki kemik mineral dansitesinin daha fazla olduğunu görmüşlerdir.

Jakobsen ve ark.¹³⁶ köpeklerin femurlarında yaptıkları çalışmada hidroksiapatit kaplı implantları normal olarak ve alendronat kaplı olarak kemiğe yerleştirmişler; çıkarma direnci testinde bifosfonat kaplı implantların normal implantlara göre 2 kat daha dayanıklı olduklarını ve implant çevresi kemik alanının 1.3 kat fazla olduğunu görmüşlerdir.

Wermelin ve ark.¹³⁷ ratlarda yaptıkları çalışmada bifosfonat kaplı implantların osseointegrasyonunu incelemişler. 8 hafta sonunda bifosfonat kaplı implantlar, normal implantlara göre 2 kat daha fazla çıkarılma direnci göstermişlerdir. Bifosfonatların implant etrafındaki kemiğin kalitesini ve formasyonunu olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Ayrıca kortikal kemik ve süngerimsi kemikteki kalite ve osseointegrasyon farkını yok denebilecek kadar az bulmuşlardır.

Osteoporotik hayvan modellerinde bifosfonatların implant osseointegrasyonu üzerine etkilerini değerlendiren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda sistemik olarak alendronat ve ibandronatın^{135,138,139} ve implant kaplamasından lokal salınım yoluyla ZA¹⁴⁰ ve inkadronik asit¹⁴¹ uygulamasının yapıldığı görülmektedir. Bu çalışmaların çoğunluğunda implant entegrasyonunun arttığı ve entegrasyon üzerine osteoporozun oluşturduğu olumsuzlukların engellendiği rapor edilmiştir. Bifosfonatların anti-osteoklastik aktivitesinin yanında, dolaylı yoldan osteoblastik kemik yapımını etkilediği belirtilmektedir^{142,143}. Yapılan invitro çalışmalarda ZA ve diğer bifosfonatların osteoblast proliferasyonu, matürasyonu ve farklılaşması üzerine uyarıcı etkilerinin olduğu saptanmıştır.

Yaptığımız PUBMED tabanlı literatür taramasında (2009) zoledronik asidin tek başına lokal veya sistemik kullanıldığında boş kemik defektinin iyileşmesindeki etkisini inceleyen herhangi bir çalışmaya ulaşamadık. Ayrıca zoledronik asidin aynı çalışmada hem lokal hem sistemik kullanımının kemik defekti iyileşmesi yönünden karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlamadık.

Zoledronik asidin lokal uygulanmasında önemli olan çözeltinin konsantrasyonudur. Hazırlanan solüsyonun uygulanacak efektif hacmi defektin hacmi kadardır. Schindeler ve ark. yaptığı in vitro çalışmada 10µM konsantrasyonundaki ZA'nın osteoklastları yeterince inaktive ettikleri, 50µM üzerindeki konsantrasyonun ise osteoblastların yapısını bozarak görünülürliğini azalttığını belirtmişlerdir. 50µM ZA konsantrasyonunda ise osteoblastların 1 güne kadar olan sürede ilaca maruz kalmasının görülen osteoblast sayısını azaltmadığı, ancak 1 günden fazla süre hücrelerin ilacın içinde bekletildiğinde osteoblast sayısının belirgin şekilde azaldığını göstermiştir.

Suratwala ve ark. çalışmalarında implant çevrelerinde 50µM lokal ZA kullanmışlardır¹⁴⁴. Seo ve ark. ise ratlarla yaptıkları in vivo çalışmada implant yüzeylerinde 30µM konsantrasyonunda lokal ZA kullanmışlardır¹⁴⁵. Seo'nun çalışmasında ZA'nın tutulduğu bölge implant ve kemik arası izole bir bölgedir. Bizim çalışmamızda ZA'yı lokal olarak kullanacağımız alan açık ve yumuşak dokularla direk temasta olan bir defekt olduğu ve ilacı tek doz uygulayacağımız için 50µM konsantrasyonunda ZA kullanmayı uygun gördük. 125mm³'lük jelatin süngerlere emdirilen miktar tam olarak ölçülemezle birlikte yaklaşık olarak jelatin süngerin hacmi kadardır. Jelatin süngeri defekt alanına koyup primer olarak kapatırken dokuların kapanması ile ilacın bir kısmı dışarı akmış olabilir. Defektimizin hacmini yaklaşık

olarak 20mm³ olarak hesapladığımızda defektin içinde 20mm³ 50µM konsantrasyonunda ZA kaldığını söyleyebiliriz.

Hayvan deneylerinde sistemik olarak iv ve sc uygulanan ZA için çeşitli dozlar denenmiştir^{123,146}. Bu dozlar arasında en çok tercih edileni ise 0,1mg/kg ZA uygulamasıdır. Pampu ve ark.¹²⁶ tavşanlarda distraksiyon osteogenezis uygulaması sonrasında distraksiyon aralığında kemik oluşumunu artırmak amacı ile intraoperatif olarak tek doz 0.1mg/kg ZA uygulamışlardır. Amanat ve ark. ratlarda oluşturulan kırık modelinde kırık onarımını stimüle etmek amacı ile tek doz olarak aynı dozda intravenöz ZA uygulamışlardır¹²². Bunun en büyük sebebi de, hayvan deneylerinde kullanılan 0,1mg/kg'lık dozun, insandaki 0,067mg/kg'lık klinik doza eşdeğer olmasıdır. Bu da 65kg ağırlığında yetişkin bir insan için yaklaşık 4,5mg'lık doz anlamına gelmektedir¹⁴⁷. Böylece hayvan deneylerinde kullanılan 0,1mg/kg'lık doz, klinikte insan için kullanılacak terapötik doza en yakın seçenektir. Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda kullanılan deneklere 0,1mg/kg dozunda intraperitoneal ZA uygulanmıştır. Nitrojen içerikli son jenerasyon bifosfonatlardan olması ve bilinen en güçlü ve en uzun süreli etkiye sahip bifosfonat olması nedenleriyle¹⁴⁸ çalışmamızda ZA kullanılmıştır.

ZA'nın distraksiyon osteogenezisinde rejenerat kalitesini arttırdığı, tavşanların kortikal ve spongiöz kemiklerinde gösterilmiş ve diğer bifosfonatlarla kıyaslandığında çok daha düşük dozda çok daha etkin olduğu gösterilmiştir. Pamidronatla karşılaştırıldığında, nefrokalsinozis gibi uygulamaya bağlı komplikasyonların ortaya çıkmadığı gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda genel uygulama şekli intraoperatif tek doz 0,1 mg/kg'dır ve oldukça etkin sonuçlar rapor edilmiştir^{126,147}. Bu çalışmada da intraoperatif tek doz 0,1 mg/kg zoledronik asit uygulamasının, defekt iyileşmesi için yeterli olacağı düşünülmüş ve ilaca bağlı yan etkilerin en düşük düzeyde tutulması için ilave doza gerek görülmemiştir.

Im ve ark. trabeküler kemik hücre kültüründe yaptıkları çalışmada alendronat ve risedronatın BMP-2, Tip I kollajen ve osteokalsin gen ekspresyonunu artırdığını saptamışlardır¹⁴². Viereck ve ark.¹⁴³ in vitro çalışmalarında osteoprotegerin m-RNA seviyesinin ve Tip I kollajen üretiminin pamidronat ve ZA kullanımına bağlı artış gösterdiğini dolayısıyla ilaçların osteoblast farklılaşmasına uyarıcı etkilerinin olabileceğini rapor etmişlerdir. Reinholz ve ark.'nın in-vivo çalışmalarında pamidronat ve ZA'nın insan fetal osteoblast hücrelerini etkileyerek hücre farklılaşmasını ve kemik yapımını artırabileceği belirtilmiştir¹⁰³. Bu çalışmalar ZA'nın antiosteoklastik etkiye ek

olarak kısmen de olsa anabolik etkisinin olabileceğini göstermektedir. Bu etki daha çok osteoblastların salgıladığı ve osteoklastlar için gerekli faktörlerin inhibisyonu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bifosfonatların kemik rezorpsiyonunu azaltmasında önemli mekanizmalardan biri de osteoblast üzerinden osteoklastları etkilemesi olarak yorumlanmaktadır. Tam mekanizma bilinmese de osteoblastlar üzerindeki etkinin ilacın dozuna göre değişiklik gösterdiği söylenebilmektedir ¹⁴⁹.

Im ve ark.¹⁴² aminobifosfonatların osteoblastlar üzerine olabilecek anabolik etkisini ve kemik oluşumundaki rolünü araştırmışlardır. Çalışmalarında insan trabeküler kemik hücre kültürü kullanmışlar ve osteoblastik hücrelerin ilaç kullanımıyla sayıca arttığını göstermişlerdir. Ayrıca osteoprogenitör hücrelerin osteoblastik hücrelere dönüşümünde etkili olan alkalin fosfatın da aktivitesinin ilaç kullanımıyla arttığını belirtmişlerdir.

Little ve ark.¹⁵⁰ tavşanlarda intraoperatif ve sistemik olarak 3mg/kg pamidronat uygulamasının distraksiyon osteogenezisi uygulanan kemikte osteoporozu engellediğini belirtmişlerdir.

Zoledronik asidin, hayvan çalışmalarında pamidronattan 850 kat daha güçlü olduğu ¹⁴⁸, yüksek konsantrasyonlarda osteoblast proliferasyonunu inhibe ettiği⁹⁶, ayrıca osteoblastların kemik formasyon aktivitelerini ve diferansiyasyonunu arttırdığı bildirilmiştir¹⁰⁵. Schindeler ve ark.¹⁰⁵ in vitro olarak yaptıkları çalışmalarında kemik yüzeyindeki osteoblastların zoledronik asitten direkt olarak etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Klinik uygulamada önerilen dozajı; her 3 veya 4 haftada bir 4 mg ilacın 100 ml izotonik sodyum klorid veya % 5'lik dekstroz ile dilüe edilerek intravenöz olarak yaklaşık 15 dakika infüzyonu şeklindedir. Zoledronik asidin tekrar doz uygulaması gerekli görüldüğünde, genellikle 28. günde yapılır. Bunun nedeni ilacın plazma konsantrasyonunun 28 gün boyunca aşamalı olarak azalmasıdır(chen)¹⁵¹. İlaç kemiğe tutunduktan sonra, aşamalı olarak salınır ve böbrekler yoluyla atılır. Zoledronik asidin etkinliği farklı karakterdeki kemik iyileşme modellerinde deneysel ve klinik çalışmalarda incelenmiştir ¹²⁶.

Little ve ark.¹⁴⁷ zoledronik asidin kemik direnci ve osteopeniye olan etkisini analiz etmek amacıyla, 30 tavşan üzerinde tibial bölgede distraksiyon uygulamışlardır.

0.1 mg/kg IV zoledronik asit uyguladıkları grupta, 6 haftalık periyotta iyileşme bölgesinde mineralizasyonu ve tibial direnci arttırdığını bildirmişlerdir.

Wise ve ark.¹⁵² total eklem artroplastisindeki periprotetik kemik kaybına zoledronik asit etkisini araştırmışlardır. Köpekler üzerinde yaptıkları çalışmada düşük doz (2 mug/kg) ve yüksek doz (10 mug/kg) uyguladıkları 2 ayrı deney grubu ve serum fizyolojik verdikleri kontrol grubu oluşturmuşlardır. Histolojik ve radyografik değerlendirmeler sonucunda doza bağlı olarak artan yeni oluşan subperiosteal kemik artışı tespit etmişlerdir. Zoledronik asitin kemik kalitesini ve kantitesini olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir.

Lyles ve ark.¹⁵³ kalça kırığı sonrası zoledronik asitin etkilerini inceledikleri bir çalışmada, 1065 hastaya yıllık tek doz zoledronik asit (5mg), 1062 hastaya plasebo vermişlerdir. Ortalama 1.9 yıl boyunca takip ettikleri hastalardan zoledronik asit kullanan grupta yeni fraktür oluşma oranının plasebo grubuna göre % 35 oranında azaldığını, diğer fraktür tiplerinde de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma sağladığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak travma sonucu oluşan kalça kırıklarının tamirinden sonra yıllık tek doz zoledronik asidin uygulamasının yaşam kalitesini arttıracak ve yeni kırık oluşma riskini azaltacağını ifade etmişlerdir.

Smith ve ark.¹⁵⁴ tarafından yapılan çalışmanın uzun dönem (44 hafta) histomorfometrik sonuçlarına göre zoledronik asidin beklenenin aksine osteoklast sayısında belirgin bir değişikliğe yol açmazken osteoblast sayısında azalmaya sebep olduğu bulunmuştur. Çalışmamız daha kısa süreli (4 hafta) olduğundan henüz osteoblast sayısında anlamlı değişiklik görülmemiştir.

Garcia-Moreno ve ark.¹⁵⁵'nin in vitro çalışmasında alendronatın insan osteoblastlarının proliferasyonu, canlılığı, kollajen sentezleme ve mineral depolama kapasiteleri üzerine olan etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda yüksek dozda alendronatın osteoblast sayısını azalttığı, ancak osteoklastların etkilendiği dozda (2×10^{-9} Mol/L) osteoblastların etkilenmediği gösterilmiştir.

Zahrowski'nin⁸⁰ 2007'de yayınlanan çalışmasında ZA ile ilgili olarak düşük ilaç konsantrasyonlarının başlangıç safhasında osteoklastik aktiviteyi azalttığı dengenin osteoblastik aktiviteye kaydığını ve kemik formasyonunda artışa sebep olduğunu belirtmiştir. İlaç konsantrasyonunun arttığı ileriki safhalarda osteoklastik aktiviteyi daha da azalttığını bunun da yeni kemikteki damarlanmayı ve osteoblastik aktivitenin

azalmasını başlatarak kemik tamiri ve kemik turnoverında azalma gözleneceğini belirtmiştir.

Pampu ve ark.¹²⁶ mandibular distraksiyon osteogenezisinde ZA'nın etkinliğini inceledikleri çalışmasında ZA'nın histomorfometrik olarak hem rejenerat hem de pin çevresi alanlarda osteoblast sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artışa, osteoklast sayısında ise anlamlı bir azalmaya sebep olduğunu belirtmişlerdir.

Altundal ve Gürsoy¹⁵⁶ ratların femurlarında oluşturdukları kemik defektlerine yerleştirdikleri otojen kemik grefti uygulaması sonrası, alendronat uygulanan grupta histolojik incelemede istatistiksel olarak osteoblast sayısında anlamlı derecede artış tespit etmişlerdir.

Peter ve ark.(2005)¹⁵⁷ ortopedik implantlara lokal zoledronik asit uygulanıp kemiğe yerleştirildiğinde implant çevresi kemik yoğunluğunu artırdığını ve klinik olarak kullanılmasının yararlı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Little ve ark.(2005)¹⁸³⁰ yaptıkları çalışmada ratların femurlarındaki kritik boyutlu kemik defektlerinin iyileşmesinde kontrol grubu ile tek doz uygulanan sistemik ZA grubu arasındaki kemik iyileşmesi arasındaki farkı anlamlı bulmamışlardır. Bu sonuç çalışmamızın sonucu ile uyumludur.

Miettinen ve ark.¹⁵⁸ yaptıkları çalışmada titanyum implantları 20µM ZA solüsyonu ile yıkadıktan sonra rat femurlarına yerleştirmişlerdir. 4 hafta sonrasındaki implant çevresi kemik kalitesi ve hacmi ZA uygulanan grupta daha fazla bulunmuştur. Fakat 12 hafta gruplarında ZA grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Bunun anlamı kısa dönemde etkiler daha fazla belli olmaktadır ve bu sonuç çalışmamızın sonuçlarıyla uyumludur.

Suratwala ve ark.¹⁴⁴ ratların femurlarına implant yerleştirmeden önce implant kavitesine lokal ZA uygulamışlardır. Sonuç olarak ZA uygulanan gruplarda implant çevresindeki kemik kalitesini arttığını ve osseointegrasyonun daha iyi olduğunu görmüşlerdir.

Van Beek ve ark.¹⁵⁹ 4 hafta süresince günlük 0.25 mg/kg alendronat tedavisi gören ratların kemik iliğindeki makrofaj ve osteoklast öncü hücrelerini incelemişlerdir. Alendronatın, kemik iliğindeki makrofaj ve osteoklast progenitör hücrelerin makrofaj ve osteoklast oluşturma potansiyelini etkilemediğini ve mevcut etkinin olgun makrofaj ve osteoklastlar üzerine olduğunu bulmuşlardır.

Ömeroğlu¹⁶⁰ koyaların kafatasına açtığı defektlere lokal olarak pamidronat yerleştirmiştir. 15 gün ve 30 gün sonunda lokal uygulanan pamidronatın histolojik olarak kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olmadığını ve bu tür defektlerde iyileşmenin daha iyi olabilmesi için daha potent ilaçların kullanılması gerekebileceğini belirtmiştir.

Nobre ve ark.¹²³ yaptıkları çalışmada 7 gün ve 21 günlük lokal alendronat uyguladıkları grubun, açtıkları kemik defektlerindeki iyileşmeye katkısı olmadığını görmüşlerdir.

Çalışmamızda 7 günlük grupların arasında kemik iyileşmesi ve osteoklast-osteoblast farkı olmayışı, Nobre¹²³ ve Ömeroğlu'nun¹⁶⁰ sonuçları ile uyumludur. Tüm grupların osteoblast ve osteoklast sayılarının farkının anlamsız olması Smith¹⁵⁴ ve Garcia-Moreno'nun¹⁵⁵ sonuçları ile uyumlu, Altundal¹⁵⁶ ve Pampu'nun¹²⁶ sonuçları ile uyumsuzdur.

Nobre ve ark.¹²³ yaptıkları çalışmada lokal alendronat uygulanan gruplarda farklı bir şey dikkatlerini çekmiştir. Lokal ilaç uyguladıkları defektlerin neredeyse tümünde kemiğin arka tarafında, yani kemiğin defekt olmayan tarafında, kortikal kemiğin üzerinde yeni oluşmuş kemik tümsekleri gözlemlenmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 30.gün lokal ZA grubunda defektlerin tam üzerini çatı şeklinde kapatacak şekilde kemik oluşumları gözlemledik. Nobre ve ark. alendronatın kemik tarafından hızlı tutunduğunu ve emildiğinin bilindiğini, daha sonradan kemikte depolanan bifosfonatın yavaş yavaş salınarak periosttaki osteoprogenitör hücreleri stimule ettiğini düşünmüşlerdir. Bizim çalışmamızdaki sonuçlar yazarın düşüncesine uymaktadır. Oluşan kemik çatının normal düzeyden biraz daha yukarıda olması, defekt içinde bulunan jelatin süngerin oluşan kemik çatıya destek olduğunu düşündürmektedir. Jelatin sünger rezorbe olmadan önce kemik çatının ince halde oluşmuş olduğu mantıklı gelmektedir. Jelatin sünger rezorbe olduktan sonra da oluşan çatı bir kademe daha kalınlaşmış olabilir. Bu sonuçlara göre Nobre'nin fikri bize daha uygun gelmektedir. Jelatin sünger rezorbe olana kadar ilacı salgılayıcı görev görmüş, rezorbe olduktan sonra defekt içi kemiğin ilacı salgılamaya devam ettiği düşünülmüştür.

Lokal ZA gruplarında oluşan defekt çatının altındaki asıl defekt kısmı izole olarak boş görünmektedir. Akla gelen ilk düşünce jelatin süngerin sadece bu gruplarda uygulandığı ve iyileşmeye olumsuz yönde etki edebileceği ihtimalidir. Ömeroğlu'nun

kobaylarda kafatası defektlerinde lokal pamidronatın etkisini araştırdığı çalışmasında gruplar; boş defekt, jelatin sünger, pamidronat emdirilmiş jelatin sünger şeklinindedir. Sonuçta boş defekt ile sadece jelatin sünger koyduğu gruplar arasında kemik iyileşmesi, inflamasyon ve diğer bulgular arasında anlamlı fark görememiştir ¹⁶⁰. Çalışmamızdan çıkan bu sonuç, Ömeroğlu'nun sonucu ile uygundur.

Yaffe ve ark. ¹⁶¹ radyoaktif alendronatın tibia ve mandibulada ne kadar biriktiğini görmeye çalışmışlardır. Bunun için mukoperiosteal flep kaldırmışlar ve bir grupta radyoaktif alendronat emdirilen tamponu 10 dakika, diğer grupta 60 dakika olacak şekilde kemik yüzeyinde bekletmişlerdir. Sonuçta bekleme zamanına bağlı olarak ilacın kemikteki konsantrasyonunun arttığı, mandibulada tibiadan daha çok emilim olduğunu ortaya koymuşlardır.

Çalışmamızda lokal 30 gün grubunun kemik iyileşmesinin osteoblast ve osteoklast sayılarının artışı ile doğru orantılı olmaması, yapılan çoğu çalışmanın sonucu ile uymamaktadır.

Schindeler ve Little'in ¹⁰⁵ yaptığı çalışmada kemik hücrelerinin, 50µM lokal ZA'ya 1 günden fazla sürede maruz kaldığında osteoblast sayısının oldukça azaldığını belirtmişlerdir. Bu bilgiye dayanarak bizim çalışmamızda kemik çatının oluşumunun ardından asıl defekt boşluğunun kemik dokusu ile izole olarak kapalı kaldığını, defekt çevresi kemiğin yüzeyine depolanan ZA yavaş yavaş salınarak defekt içi alanın aynı Schindeler'in in vitro çalışmasındaki gibi hücrelerin sürekli ZA'ya maruz kalması sonucu osteoblast sayısının ve aktivitesinin beklediğimiz gibi artmadığını düşünmekteyiz. Aynı zamanda bu sonuç Yaffe¹⁶¹ ve Nobre¹²³ 'nin çalışmalarının sonuçlarına uyum sağlamaktadır. 30. günde kemik iyileşmesi olumlu etkilenip osteoblast sayısının diğer gruplarla farksız olmasını buna bağlamaktayız. Ayrıca kemik yıkımını veya oluşumunu değerlendirmede sadece hücre sayısına bakmak her zaman kesin bir sonuç vermeyebilir. Bifosfonatların lokal kullanımını ile ilgili bu fenomen çok az sayıda çalışmada görüldüğü için üzerinde araştırılma yapılması gereken bir konudur.

Çalışmamızda lokal 30 gün grubunun, diğer 30 gün grupları ile olan kemik iyileşmesi farkı Mietinen¹⁵⁸, Tanzer¹³⁴, Peter¹⁵⁷, Suratwala'nın¹⁴⁴ sonuçları ile uyumlu, Ömerođlu¹⁸⁸ ve Nobre'nin(nobre-08) sonuçları ile uyumsuzdur.

Matos ve ark. ¹⁶² tavşanların tibialarında testere ile açıkladı defektler sonrası 0.04mg intraperitoneal ZA enjekte etmiştir. 4 hafta sonra histolojik olarak incelendiğinde

ZA uygulanan tavşanların kontrol grubuna göre kemik iyileşmeleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Valimaki ve ark.¹⁶³ yaptıkları çalışmada kemik grefti uygulaması ve zoledronik asidin sistemik uygulanmasını içeren 4 farklı grup arasında, 8 hafta sonunda en çok kemik oluşumunun ZA'nın tek uygulandığı grupta olduğunu görmüşlerdir.

Nagashima ve ark.¹⁶⁴ farelerin femurlarında defekt açmışlar ve IV olarak bifosfonat vermişlerdir. 14. günde kemik iyileşmelerinde fark olmamış, fakat 28. gün gruplarında, sistemik bifosfonat grubunun kontrol grubundan daha düşük seviyede kortikal kemik yapımı olduğunu görmüşler. 28. gün gruplarının toplam kemik yapımı sonuçları arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Bunu sistemik uygulamanın uzun vadede etki göstermesine bağlamışlardır.

Bizim çalışmamızda sistemik olarak tek doz ZA verilen gruplarda 7. ve 30. günlerde yapılan histolojik incelemede kemik iyileşmesi kontrol gruplarından istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. Bu durumda Valimaki¹⁶³ ve Matos'un¹⁶² sonuçları ile uyumsuz, Nagashima'nın¹⁶⁴ sonuçları ile uyumludur.

6. SONUÇLAR

Lokal ve sistemik uygulanan zoledronik asitin, ratların korpus mandibulasında oluşturulan defektlerdeki kemik iyileşmesine etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirildiği bu çalışmada şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. Kemik iyileşmesinin lokal zoledronik asit grubunda, sistemik zoledronik asit ve kontrol gruplarından daha fazla olduğu, sistemik ve kontrol grupları arasında fark olmadığı görülmüştür.
2. Osteoblast ve osteoklast sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür.

Sonuç olarak, sistemik uygulanan zoledronik asidin kemik iyileşmesinde etkisi olmadığı, lokal uygulanan zoledronik asidin kemik iyileşmesinde etkili olduğu görülmüştür. Zoledronik asitin kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandırmak amacıyla kullanılabileceği, bununla birlikte klinik kullanım öncesi uzun dönem sonuçların araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

- [1] Gupta MC, Maitra S. (2002) Bone graft substitutes; Past, present, future. *J Postgrad Med* 48 : 142-148.
- [2] Spector M. (1999) Basic Principles of Tissue Engineering. In "Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics". Lynch SE, Genco RJ, Marx, R.E. 1st edition Quintessence Publishing, chap 1.
- [3] Aneja A, Krantz C, Tucci M, Benghuzzi HA. (2009) Use of demineralized bone matrix protein in osteoporotic rats. *Biomed Sci Instrum* 45:36-41.
- [4] Cowin SC. (2001) *Bone Mechanics Handbook*. 2nd edn. Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press. Bölüm 1: 1-68, Bölüm 2: 1- 24.
- [5] Hollinger JO, Mark DE, Goco P, Quigley N, Desverreaux RW, Bach DE. (1991) A comparison of four particulate bone derivatives. *Clin Orthop Relat Res* 267: 255-263.
- [6] Medige J, Mindell E R, Doolittle T. (1982) Remodelling of large, persistent bone defects. *Clin Orthop* (169): 275-90.
- [7] Lemperle S, Calhoun CJ, Curran RW, Holmes RE. (1998) Bony healing of large cranial and mandibular defects protected from soft-tissue interposition: A comparative study of spontaneous bone regeneration, osteoconduction, and cancellous autografting in dogs. *Plast Reconstr Surg* 101: 660-72.
- [8] Virolainen P, Heikkilä J, Yli-Urpo A, Vuorio E, Aro H T. (1997) Histomorphometric and molecular biologic comparison of bioactive glass granules and autogenous bone grafts in augmentation of bone defect healing. *J Biomed Mater Res* 35: 9-17.
- [9] Giro G, Gonçalves D, Sakakura CE, Pereira RM, Marcantonio Júnior E, Orrico SR. (2008) Influence of estrogen deficiency and its treatment with alendronate and estrogen on bone density around osseointegrated implants: radiographic study in female rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 105(2):162-7.
- [10] Yaffe A, Iztovich M, Earon Y, Alt I, Lilov R, Binderman I. (1997) Local delivery of an amino bisphosphonate prevents the resorptive phase of alveolar bone following mucoperiosteal flap surgery in rats. *J Periodontol* 68:884-9.
- [11] Schenk R, Egli P, Fleisch H, Rosini S. (1986) Quantitative morphometric evaluation of the inhibitory activity of new aminobisphosphonates on bone resorption in the rat. *Calcif Tissue Int* 38(6):342-9.
- [12] Martinez H, Davarpanah M, Missika P, Celletti R, Lazzara R. (2001) Optimal implant stabilization in low density bone. *Clin Oral Implants Res* 12(5):423-432.
- [13] Kutsal YG. (2004) Osteoporozda kemik kalitesi. *Güneş Kitabevi*. Ankara. 331-354.
- [14] Junqueira LC, Carneiro J, Kelly RO. (1998) *Basic Histology*. Aytekin Y, Temel Histoloji, İstanbul, Barış Kitabevi 132-146.

- [15] Fonseca, RJ, Walker RV, Betts NJ, Barber HD, Powers, MP. (2005) Oral and Maxillofacial Trauma, 3rd edition, Elsevier Saunders, China, Vol 1, 42-55.
- [16] Gartner LP, Hiatt JL. (2001) Color Textbook of histology, 2nd Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, Chapter 7, Cartilage and Bone 129-154.
- [17] Cormack DH. (1993) Essential Histology, JB Lippincott Company, Philadelphia, Chapter 8, Dense Connective Tissue, Cartilage, Bone and Joints 159-190.
- [18] Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. (1999) Tissue Engineering Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Quintessence Publishing Co., Coral Stream, Illinois Chapter 2, Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy 17-55.
- [19] Çetingül E. (1997) Çene ve Yüz Travmatolojisi, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, Bölüm 3, Kırık Tedavisinde Genel Prensipler 47-54.
- [20] Efeoglu C. (2003) Kemik Defektlerinde Otojen Trombosit Zengin Plazma (TZP) ve Trikalsiyum Fosfat Uygulaması: Deneysel Çalışma, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [21] Aslan M. (2002) Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Kemik Greftlerinin ve Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu Yönteminin Etkilerinin İncelenmesi ve Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [22] Atılgan S. (2006) Kalsiyum Sülfat Partikülleri ile Trikalsiyumfosfat/Hidroksiapatit Granüllerinin Kemik İçi Kavitelelerinde Osteogenezis Üzerine Olan Etkilerinin Deneysel Olarak Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [23] Bancroft JD, Stevens A. (1996) A Theory and Practice of Histological Techniques. 4th edition, Churchill Livingstone, New York. Chapter 15, Bone 309- 339.
- [24] Paker, S. (1993) Histoloji. Baskı 2; Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın No: 32.
- [25] Soydan N. (1992) Genel Histoloji. İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi. İstanbul: İ.Ü.Basımevi ve Film Merkezi. 50-85
- [26] Tomin E, Beksaç B, Lane ML. (2002) Amerika Birleşik Devletlerinde ortopedik girişimlerinde otogreftlerin yerine kullanılan materyallere toplu bakış. J Arthroplasty 13(2): (114-129)
- [27] Şatana T, Sarban S, Hersekli MA. (1998) Osteoporoz. Ankara 23-67.
- [28] Kalfas IH. (2001) Principles of bone healing. Neurosurg Focus 10(4):1-4.
- [29] Garg AK. (2004) Bone Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants: Quintessence Publishing Co, Inc.
- [30] Meyer U. (2006) Bone and Cartilage Engineering: Springer. 40-98
- [31] Kılıçoğlu SS. (2002) Mikroskopi düzeyde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 55(2) 143-150.
- [32] Brond AR, Rubin TC. (1990) Fracture Healing. In: Surgery of the Musculoskeletal System 2nd ed. Churchill Livingstone, New York 93-114.
- [33] Ozaki A, Tsunoda M, Kinoshita S, Saura R. (2000) Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats. J Orthop Sci 5 : 64-70.

- [34] Prendergast PJ, Meulen MC. (2001) Mechanics of Bone Regeneration. In: Cowin SC (ed). Bone Mechanics Handbook. 2nd ed. CRC Press, Florida 1-13.
- [35] Schenk RK, Buser D, Dahlin C, Schenk RK. (1994) Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. Quintessence publishing, Hong Kong 49-100.
- [36] Altunalmaz K. (2004) Kırık iyileşmesinin biyolojisi ve biyolojik osteosentez. İstanbul Üniv Vet Fak Derg 30 (1), 141-147.
- [37] Barnes GL, Kostneuk PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. (1999) Growth factor regulation of fracture repair. J Bone Miner Res 14(11):1805-15.
- [38] Pilitsis JG, Lucas DR, Regachary SS. (2002) Bone healing and spinal fusion, Neurosurg Focus 13(6):1.
- [39] Appel TR, Pötzsch B, Müller J, von Lindern JJ, Berge SJ, Reich RH. (2002) Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. Clin Oral Implants Res 13(5):522-8.
- [40] Erdoğan D, Hatiboğlu M, Görgün M, Ilgaz C. (1999) Genel Histoloji, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi 107-117.
- [41] Marx RE. (2007) Oral & Intravenous Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaws. History, Etiology, Prevention, and Treatment. Illinois: Quintessence Publishing Co, Inc. 153-157
- [42] Perez-Lopez FR. (2004) Postmenopausal osteoporosis and alendronate. Maturitas, 48, 179-192.
- [43] Lacy CF, Armstrong LL, Goldman MP, Lance LL. (2003) Drug Information Handbook. Lexi-Comp. Inc 53-54.
- [44] Naniwa T, Maeda T, Mizoshita T, Hayami Y, Watanabe M, Banno S, Ito R. (2008) Intern Med. 47(23):2083-5
- [45] Kayaalp O. (2000) Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Cilt:2, Basım:9 1360-1362.
- [46] Cheng A, Mavrokokki A, Carter G, Stein B, Fazzalari NL, Wilson DF, Goss AN. (2005) The dental implications of bisphosphonates and bone disease, Aust Dent J 50(4 Suppl 2):S4-13.
- [47] Luckman SP, Coxon FP, Ebetino FH, Russell RG, Rogers MJ. (1998) Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J774 macrophages. J Bone Miner Res 13:1668-1678.
- [48] Clazardin P. (2005) Antitumor activity of zoledronic acid, Cancer Treat. Rev. 31: 1-8.
- [49] Russell RGG, Watts NB, Ebetino FH, Rogers MJ. (2007) Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. Osteoporos Int 19(6):733-59.
- [50] Russell RG. (2006) Bisphosphonates: from bench to bedside. Ann N Y Acad Sci 1068: 367-401.
- [51] Migliorati CA, Casiglia J, Epstein J, Jacobsen PL, Siegel MA. (2005) Managing the care of patients with bisphosphonate associated osteonecrosis. J Am Dent Assoc 136 (12):1658-1668,

- [52] Fleisch H. (1998). Bisphosphonates: mechanisms of actions. *Endocrine Reviews*, 19:80-100.
- [53] Sahni M, Guenther HL, Fleisch H, Collin P, Martin TJ. (1993) Bisphosphonates act on bone resorption through the mediation of osteoblasts. *J Clin Invest* 91(5): 2004-11.
- [54] Van Beek ER, Löwik CW, Papapoulos SE. (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: 64-70
- [55] Russell RG, Rogers MJ. (1999) Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone* 25: 97-106.
- [56] Rogers MJ, Frith JC, Luckman SP, Coxon FP, Benford HL, Monkkonen J, Auriola S, Chilton KM, Russell RG. (1999) Molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Bone* 24: 73-79.
- [57] Green JR. (2004) Bisphosphonates: preclinical review. *Oncologist* 9: 3-13.
- [58] Rodan GA, Fleisch HA. (1996) Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest* 97: 2692-2696.
- [59] 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. *J Oral Pathol Med* 34: 613-7.
- [60] Ruggiero SL, Fantasia J, Carlson E. (2006) Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 102:433-441
- [61] Bartl R, Tresckow E, Bartl C. (2006) *Bisphosphonat Manual*. Heidelberg: Springer Verlag.
- [62] Gasser JA, Ingold P, Venturiere A, Shen V, Green JR. (2008) Long-term protective effects of zoledronic acid on cancellous and cortical bone in the ovariectomized rat. *J Bone Miner Res* 23(4):544-51.
- [63] 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 99mTc scintigraphy. *Int J Oral Maxillofac Surg* 24: 576-578.
- [64] Dimitrakopoulos I, Magopoulos C, Karakasis D. (2006) Bisphosphonate-induced avascular osteonecrosis of the jaws: a clinical report of 11 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 35: 588-593.
- [65] Sevcik MA, Luger NM, Mach DB, Sabino MAC, Peters CM, Ghilardi JR, Schwei MJ, Röhrich H, Felipe CD, Kuskowski MA, Mantyh PW. (2004) Bone cancer pain: the effects of the bisphosphonate alendronate on pain, skeletal remodeling, tumor growth and tumor necrosis. *Pain* 111: 169-180.
- [66] Markiewicz MR, Margarone JE 3rd, Campbell JH, Aguirre A. (2005) Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a review of current knowledge. *J Am Dent Assoc* 136: 1669-74.

- [67] Mystakidou K, Katsouda E, Stathopoulou E, Vlahos L. (2005) Approaches to managing bone metastases from breast cancer: the role of bisphosphonates. *Cancer Treat Rev* 31: 303-11.
- [68] Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. (2004) Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 62: 527-534.
- [69] Daroszewska A, Ralston SH. (2005) Genetics of Paget's disease of bone. *Clin Sci (London: 1979)* 109: 257-263.
- [70] Miller PD. (2005) Optimizing the management of postmenopausal osteoporosis with bisphosphonates: The emerging role of intermittent therapy. *Clin Ther* 27: 361-376.
- [71] Novartis AG. (2004 a) Aredia: Pamidronate disodium for injection. Prescribing Information (<http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/aredia.pdf>)
- [72] Novartis AG. (2011 a) Zometa: Zoledronic acid injection. Prescribing Information (<http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/Zometa.pdf>)
- [73] Altundal H. (1999) Alendronatın diş çekimi sonrası processus alveolariste oluşan rezorpsiyona etkisi. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD Doktora Tezi.
- [74] Lin JH. (1996) Bisphosphonates: A review of their pharmacokinetic properties. *Bone* 18: 75-85
- [75] Fleisch H. (1993) Biphosphonates in osteoporosis. An Introduction. *Osteoporosis Int* 3: s3-5.
- [76] Tyrrell CJ, Collinson M, Madsen EL, Ford JM, Coleman T. (1994) Intravenous pamidronate: Infusion rate and safety. *Ann Oncol* 5: 27-29
- [77] Gonzales-Moles MA, Bagan-Sebastian JV. (2000) Alendronate-related oral mucosa ulcerations. *J Oral Pathol Med* 29: 514-518.
- [78] Mehrotra B, Ruggiero S. (2006) Bisphosphonate complications including osteonecrosis of the jaw. *Hematology* 515: 356-360.
- [79] American Dental Association Council on Scientific Affairs. (2006) Dental management of patients receiving oral bisphosphonate therapy: expert panel recommendations. *J Am Dent Assoc* 137: 1144-1150.
- [80] Zahrowski JJ. (2007) Bisphosphonate treatment: an orthodontic concern calling for a proactive approach. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 131: 311-320.
- [81] Woo S, Hellstein JW, Kalmar JR. (2006) Systemic review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med* 144: 753-61.
- [82] Li C, Mori S, Li J, Kaji Y, Akiyama T, Kawanishi J, Norimatsu H. (2001) Long-term effect of incadronate disodium (YM-175) on fracture healing of femoral shaft in growing rats. *J Bone Miner Res* 16: 429-436.
- [83] Astrom E, Soderhall S. (1998) Beneficial effect of bisphosphonate during five years of treatment of severe osteogenesis imperfecta. *Acta Paediatr* 87: 64-68.
- [84] Glorieux FH, Bishop NJ, Plotkin H, Chabot G, Lanoue G, Travers R. (1998) Cyclic administration of pamidronate in children with severe osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med* 339: 947-52.

- [85] Malmgren B, Aström E, Söderhall S. (2007) No osteonecrosis in jaws of young patients with osteogenesis imperfecta treated with bisphosphonates. *J Oral Pathol Med* 37:196-200
- [86] Rauch F, Plotkin H, Travers R, Zeitlin L, Glorieux FH. (2003) Osteogenesis imperfecta types I, III, and IV: effect of pamidronate therapy on bone and mineral metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 986–92
- [87] Widler L, Jaeggi KA, Glatt M, Müller K, Bachmann R, Bisping M, Born AR, Cortesi R, Guiglia G, Jeker H, Klein R, Ramseier U, Schmid J, Schreiber G, Seltenmeyer Y, Green JR. (2002) Highly potent geminal bisphosphonates. From pamidronate disodium (Aredia) to zoledronic acid (Zometa). *J Med Chem* 45: 3721-3738.
- [88] Evans CE, Braidman IP. (1994) Effect of two novel bisphosphonates on bone cells in vitro. *Bone Miner* 26: 95–107.
- [89] Green JR, Müller K, Jaeggi KA. (1994) Preclinical pharmacology of CGP42'446, A New heterocyclic bisphosphonate compound. *J Bone Miner Res* 9:745–51.
- [90] Green JR. (2000) Anti-tumor potential of bisphosphonates. *Med Klin* 15;95:23-28
- [91] Derenne S, Amiot M. (1999) Zoledronate is a potent inhibitor of myeloma cell growth and secretion of IL-6 and MMP-1 by the tumoral environment. *J Bone Miner Res* 14 (12):2048-56,
- [92] Body JJ, Lortholary A. (1999) A dose-finding study of zoledronate in hypercalcemic cancer patients. *J Bone Miner Res* 14 (9):1557-61
- [93] Coleman RE, Seaman JJ. (2001) The role of zoledronic acid in cancer. *Semin Oncol* 28 (2 Suppl 3):11-6,
- [94] Haspolat K, Söker M. (2002) Malignansi hiperkalsemisi ve bifosfonatlar. *Dicle Tıp Dergisi* 29 5:1-2
- [95] Green JR. (2001) Chemical and biological prerequisites for novel bisphosphonate molecules: Results of comparative preclinical studies. *Semin Oncol* 28(Suppl 6):4–10.
- [96] Coxon FP, Helfrich MH, Van't Hof R, Sebt S, Ralston SH, Hamilton A, Rogers MJ. (2000) Protein geranylgeranylation is required for osteoclast formation, function, and survival: Inhibition by bisphosphonates and GGTI-298. *J Bone Miner Res* 15:1467–1476.
- [97] Pataki A, Müller K, Green JR, Ma YF, Li ON, Jee WS. (1997) Effects of shortterm treatment with the bisphosphonates zoledronate and pamidronate on rat bone: a comparative histomorphometric study on the cancellous bone formed before, during, and after treatment. *Anat Rec* 249: 458–468.
- [98] Glatt M. (2001) The bisphosphonate zoledronate prevents vertebral bone loss in mature estrogen-deficient rats as assessed by micro-computed tomography. *Eur Cell Mater* 1: 18–26.
- [99] Binkley N, Kimmel D, Bruner J, Haffa A, Davidowitz B, Meng C. (1998) Zoledronate prevents the development of absolute osteopenia following ovariectomy in adult rhesus monkeys. *J Bone Miner Res* 13: 1775–1782.

- [100] Benford HL, McGowan NW, Helfrich MH, Nuttall ME, Rogers MJ. (2001) Visualization of bisphosphonate-induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone* 28:465–473.
- [101] Jergas M, Glüer CC. (1997) Assessment of fracture risk by bone density measurements. *Semin Nucl Med* 27(3):261–275.
- [102] Li EC, Davis LE. (2003) Zoledronic acid: a new parenteral bisphosphonate. *Clin Ther* 25(11):2669-2708.
- [103] Reinholz GG, Getz B, Pederson L, Sanders ES, Subramaniam M, Ingle JN, Spelsberg TC. (2000) Bisphosphonates directly regulate cell proliferation, differentiation, and gene expression in human osteoblasts. *Cancer Res* 60:6001–6007.
- [104] Hornby SB, Evans GP, Hornby SL, Pataki A, Glatt M, Green JR. (2003) Long-term zoledronic acid treatment increases bone structure and mechanical strength of long bones of ovariectomized adult rats. *Calcif Tissue Int* 72:519–527.
- [105] Schindeler A, Little DG. (2005) Osteoclasts but not osteoblasts are affected by a calcified surface treated with zoledronic acid in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 16;338(2):710-6.
- [106] Banwart JC, Asher MA, Hassanein RS. (1995) Iliac crest bone graft harvest donor site morbidity: a statistical evaluation. *Spine* 20(9):1055-1060
- [107] Hadjipovlou AG, Simmons JW, Yang J, Nicodemus CL, Esch O, Simmons DJ. (2000) Plaster of Paris as an osteoconductive material for interbody vertebral fusion in mature sheep. *Spine* 25(1):10-15
- [108] Younger EM, Chapman MW. (1989) Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Trauma* 3(3):192-195
- [109] Blaha JD. (1998) Evolving technologies: new answers or new problems? Calcium sulfate bone-void filler. *Orthopedics* 21(9):1017-1019
- [110] Varlet A, Hingrez M. (1985) Osteogenesis induced by the addition of demineralized bone matrix to plaster pellets with antibiotics. Animal experiment. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 71(2):73-8
- [111] Einhorn TA. (1995) Current concepts review: enhancement of fracture healing. *J Bone Joint Surg* 77(A): 940-956
- [112] Arslan AH. (2004) Postmenopozal osteoporozun mandibulaya etkilerinin dansitometrik açıdan incelenmesi ve osteoporozlu hastalarda implant uygulamaları. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [113] Epstein S. (2006) Update of current therapeutic options for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Clin Ther* 28:151-173.
- [114] Auer J, Goodship A, Arnoczky S, Pearce S, Price J, Claes L, Rechenberg B, Hofmann-Antenbrinck M, Schneider E, Terpitz RM, Thiele F, Rippe KP, Grainger DW. (2007) Refining animal models in fracture research: seeking consensus in optimising both animal welfare scientific validity for appropriate biomedical use. *BMC Musculoskeletal Disorders* 8: 72.

- [115] Egermann M, Goldhahn J, Schneider E. (2005) Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int* 16: 129-138.
- [116] Granström G, Nilsson LP. (1987) Experimental mandibular fracture: studies on bone repair and remodelling. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 21: 159-165.
- [117] Steinbrech DS, Mehrara BJ, Rowe NM, Dudziak ME, Luchs JS, Saadeh PB, Gittes GK, Longaker MT. (2000) Gene expression of TGF, TGF receptor, and extracellular matrix proteins during membranous bone healing in rats. *Plast Reconstr Surg* 105: 2028-2038.
- [118] Bouletreau PJ, Steinbrech D, Spector JA, Warren SM, Greenwald JA, Mehrara BJ, Detch RC, Longaker MT. (2000) Gene expression of transforming growth factor-beta 3 and tissue inhibitor of metalloproteinase type 1 during membranous bone healing in rats. *J Craniofac Surg* 11: 521-526.
- [119] D'Aoust P, McCulloch CAG, Tenenbaum HC, Lekic PC. (2000) Etidronate (HEBP) promotes osteoblast differentiation and wound closure in rat calvaria. *Cell Tissue Res* 302: 353-363.
- [120] Deppe H, Stemberger A. (2004) Effects of laser-modified versus osteopromotively coated titanium membranes on bone healing: a pilot study in rat mandibular defects. *Lasers Med Sci* 18: 190-195.
- [121] Özçelik D, Hüthüt İ, Kuran İ, Bankaoglu M, Orhan Z, Mayda AS. (2004) Comparison of accuracy of three-dimensional spiral computed tomography, Standard radiography, and direct measurements in evaluating facial fracture healing in a rat model. *Ann Plast Surg* 53: 473-480.
- [122] 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. *J Bone Miner Res*, 22, 867-876.
- [123] Nobre MD, Fernandes RG, Chin CM, Faig-Leite H. (2008) Local action of sodium alendronate in bone repair of spontaneously hypertensive rat (SHR). *Arq Bras Cardiol* 90(4):239-46.
- [124] Tägil M, Aspenberg P, Astrand J. (2006) Systemic zoledronate precoating of a bone graft reduces bone resorption during remodeling. *Acta Orthop* 77(1):23-26.
- [125] Glatt M, Pataki A, Evans GP, Hornby SB, Gren JR. (2004) Loss of vertebral bone and mechanical strength in estrogen-deficient rats is prevented by long-term administration of zoledronic acid. *Osteoporos Int* 15: 707-715.
- [126] Pampu AA, Dolanmaz D, Tüz HH, Karabacakoglu A. (2006) Experimental evaluation of the effects of zoledronic acid on regenerate bone formation and osteoporosis in mandibular distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg* 64(8):1232-1236.
- [127] Kaynak D, Meffert R, Bostanci H, Günhan O, Ozkaya O. (2003) A histopathological investigation on the effect of systemic administration of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the rat mandible. *J Periodontol* 74: 1348-1354.
- [128] Rocha M, Malacara JM, Sanchez-Marin F, Torre CV, Fajardo ME (2004) Effect of alendronate on periodontal disease in postmenopausal women: A randomized placebo-controlled trial. *J Periodontol* 75: 1579-1585.

- [129] Lane N, Armitage Gc, Loomer P, Hsieh S, Majumdar S, Wang Hy, Jeffcoat M, Munoz T. (2005) Bisphosphonate therapy improves the outcome of conventional periodontal treatment. *J Periodontol* 76: 1113-1122.
- [130] Little DG, McDonald M, Bransford R, Godfrey CB, Amanat N. (2005) Manipulation of the anabolic and catabolic responses with OP-1 and zoledronic acid in a rat critical defect model. *J Bone Miner Res* 20(11):2044-52.
- [131] Harding AK, Aspenberg P, Kataoka M, Bylski D, Tägil M. (2008) Manipulating the anabolic and catabolic response in bone graft remodeling: synergism by a combination of local BMP-7 and a single systemic dosis of zoledronate. *J Orthop Res* 26(9):1245-9.
- [132] Hellstein JW, Marek CL. (2005) Bisphosphonate osteochemonecrosis (bisphossy jaw): Is this phossy jaw of the 21st century? *J Oral Maxillofac Surg* 63: 682-689.
- [133] Meraw SJ, Reeve CM, Wollan PC. (1999) Use of alendronate in peri-implant defect regeneration. *J Periodontol* 70: 151-158.
- [134] Tanzer M, Karabasz D, Krygier JJ, Cohen R, Bobyn JD. (2005) The Otto Aufranc Award: bone augmentation around and within porous implants by local bisphosphonate elution. *Clin Orthop Relat Res* 441:30-9.
- [135] Kurth AH, Eberhardt C, Müller S, Steinacker M, Schwarz M, Bauss F. (2005) The bisphosphonate ibandronate improves implant integration in osteopenic ovariectomized rats. *Bone* 37(2):204-210.
- [136] Jakobsen T, Baas J, Kold S, Bechtold JE, Elmengaard B, Søballe K. (2009) Local bisphosphonate treatment increases fixation of hydroxyapatite-coated implants inserted with bone compaction. *J Orthop Res* 27(2):189-94.
- [137] Wermelin K, Tengvall P, Aspenberg P. (2007) Surface-bound bisphosphonates enhance screw fixation in rats--increasing effect up to 8 weeks after insertion. *Acta Orthop* 78(3):385-92.
- [138] Giro G, Sakakura CE, Gonçalves D, Pereira RM, Marcantonio E Jr, Orrico SR. (2007) Effect of 17beta-estradiol and alendronate on the removal torque of osseointegrated titanium implants in ovariectomized rats. *J Periodontol* 78(7):1316-1321.
- [139] Narai S, Nagahata S. (2003) Effects of alendronate on the removal torque of implants in rats with induced osteoporosis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 18(2):218-223.
- [140] Peter B, Gauthier O, Laïb S, Bujoli B, Guicheux J, Janvier P, van Lenthe GH, Müller R, Zambelli PY, Bouler JM, Pioletti DP. (2006) Local delivery of bisphosphonate from coated orthopedic implants increases implants mechanical stability in osteoporotic rats. *J Biomed Mater Res A* 76(1):133-43.
- [141] Tokugawa Y, Shirota T, Ohno K, Yamaguchi A. (2003) Effects of bisphosphonate on bone reaction after placement of titanium implants in tibiae of ovariectomized rats. *Int J Oral Maxillofac Implants* 18(1):66-74.
- [142] Im GI, Qureshi SA, Kenney J, Rubash HE, Shanbhag AS. (2004) Osteoblast proliferation and maturation by bisphosphonates. *Biomaterials* 25(18):4105-4115.
- [143] Viereck V, Emons G, Lauck V, Frosch KH, Blaschke S, Gründker C, Hofbauer LC. (2002) Bisphosphonates pamidronate and zoledronic acid stimulate

osteoprotegerin production by primary human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 291(3):680-686

- [144] Suratwala SJ, Cho SK, van Raalte JJ, Park SH, Seo SW, Chang SS, Gardner TR, Lee FY. (2008) Enhancement of periprosthetic bone quality with topical hydroxyapatite-bisphosphonate composite. *J Bone Joint Surg Am* 90(10):2189-96.
- [145] Seo SW, Cho SK, Storer SK, Lee FY. (2010) Zoledronate reduces unwanted bone resorption in intercalary bone allografts. *Int Orthop* 34(4):599-603.
- [146] Vieillard MH, Paccou J, Cortet B, Biver E, Salleron J, Falgayrac G, Penel G. (2010) Effects of high dose of zoledronic acid on superficial vascular network of membranous bone sites: an intravital study on rat calvarium. *Osteoporos Int* 21(11):1919-25.
- [147] Little DG, Smith NC, Williams PR, Briody JN, Bilston LE, Smith EJ, Gardiner EM, Cowell CT. (2003) Zoledronic acid prevents osteopenia and increases bone strength in a rabbit model of distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res* 18(7):1300-7.
- [148] Green JR. (2001) Chemical and biological prerequisites for novel bisphosphonate molecules: Results of comparative preclinical studies. *Semin Oncol* 28(Suppl 6):4-10.
- [149] Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, Frith JC. (2000) Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* 88: 2961-2978.
- [150] Little DG, Cornell MS, Briody J, Cowell CT, Artbuckle S, Cook-Yarborough CM. (2001) Intravenous pamidronate reduces osteoporosis and improves formation of the regenerate during distraction osteogenesis. A study in immature rabbits. *J Bone Joint Surg* 7: 1069-1074.
- [151] Chen T, Berenson J, Vescio R, Swift R, Gilchick A, Goodin S, LoRusso P, Ma P, Ravera C, Deckert F, Schran H, Seaman J, Skerjanec A. (2002) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of zoledronic acid in cancer patients with bone metastases. *Clin Pharmacol* 42(11):1228-36.
- [152] Wise LM, Waldman SD, Kasra M, Cheung R, Binnington A, Kandel RA, White LM, Grynblas MD. (2005) Effect of zoledronate on bone quality in the treatment of aseptic loosening of hip arthroplasty in the dog. *Calcif Tissue Int* 77 (6):367-75.
- [153] Lyles KW, Colón-Emeric CS, Magaziner JS, Adachi JD, Pieper CF, Mautalen C et al (2007). Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture. *N Engl J Med* 357(18):1799-809.
- [154] Smith EJ, McEvoy A, Little DG, Baldock PA, Eisman JA, Gardner EM. (2004) Transient retention of endochondral cartilaginous matrix with bisphosphonate treatment in a long-term rabbit model of distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res* 19:1698-705.
- [155] Garcia-Moreno C, Serrano S, Nacher M, Farre M et al. (1998) Effect of alendronate on cultured normal human osteoblasts. *Bone* 22: 233-239.

- [156] Altundal H, Gürsoy B. (2005) The influence of alendronate on bone formation after autogenous free bone grafting in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 99: 285-291.
- [157] Peter B, Pioletti DP, Laïb S, Bujoli B, Pilet P, Janvier P, Guicheux J, Zambelli PY, Bouler JM, Gauthier O. (2005) Calcium phosphate drug delivery system: influence of local zoledronate release on bone implant osteointegration. *Bone* 36(1):52-60.
- [158] Miettinen SS, Jaatinen J, Pelttari A, Lappalainen R, Mönkkönen J, Venesmaa PK, Kröger HP. (2009) Effect of locally administered zoledronic acid on injury-induced intramembranous bone regeneration and osseointegration of a titanium implant in rats. *J Orthop Sci* 14(4):431-6.
- [159] Van Beek ER, Lowick CWGM, Papapoulos SE. (1997) Effect of alendronat treatment on the osteoclastogenic potential of bone marrow cells in mice. *Bone* 20: 335-340.
- [160] Ömeroğlu A. (2002) Kobaylarda Oluşturulan Kemik Defektlerine Uygulanan Bifosfonat Grubu İlaçların Yeni Kemik Oluşumu Üzerinde Etkilerinin İncelenmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji AD Doktora Tezi.
- [161] Yaffe A, Binderman I, Breuer E, Pinto T, Golomb G. (1999) Disposition of alendronate following local delivery in a rat jaw. *J Periodontol* 70: 893-895.
- [162] Matos MA, Araújo FP, Paixão FB. (2007) The effect of zoledronate on bone remodeling during the healing process. *Acta Cir Bras* 22(2):115-9.
- [163] Välimäki VV, Moritz N, Yrjans JJ, Vuorio E, Aro HT. (2006) Effect of zoledronic acid on incorporation of a bioceramic bone graft substitute. *Bone* 38(3):432-443.
- [164] Nagashima M, Sakai A, Uchida S, Tanaka S, Tanaka M, Nakamura T. (2005) Bisphosphonate (YM529) delays the repair of cortical bone defect after drill-hole injury by reducing terminal differentiation of osteoblasts in the mouse femur. *Bone* 36(3):502-11.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Alp Kaan Öztoprak
Doğum Yeri ve Tarihi	Ankara, 14/10/1983
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD, 58140-Sivas
E-posta Adresi	alpkaan83@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	TED Ankara Koleji, 2001
Lisans	Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2006
Doktora	Cumhuriyet Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, 2007-2012