

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ZOLEDRONİK ASİT UYGULAMASININ HIZLI GENİŞLETME
SONRASINDA RAT SAGİTAL SUTURUNDAKİ KEMİK
OLUŞUMUNA VE RELAPS ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Dt. Fırat ÖZTÜRK

**ORTODONTİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Hasan BABACAN**

SİVAS-2008

SINAV TUTANAĞI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 14.04.2008 tarih ve 2008/174 sayılı kararı ile oluşturulan jürimiz, Ortodonti programı doktora öğrencisi Dt. Fırat ÖZTÜRK' ün tez savunma sınavını yapmak üzere Ortodonti Ana Bilim Dalında toplanmıştır.


Jüri tez savunma sınavı sonucunda adayın tezinin.....*başarıyla değerlendirilmiştir*..... karar verilmiştir.

Karar oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile alınmıştır.13.05.2008


Prof. Dr. Metin ORHAN
BAŞKAN


Doç. Dr. Cenk DÖRUK
Üye


Doç. Dr. A. Altın BİÇAKÇI
Üye


Doç. Dr. Hasan BABACAN
Üye


Yrd. Doç. Dr. Hüseyin KÖŞKER
Üye

İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
KISALTMALAR DİZİNİ.....	<i>iV</i>
TABLolar DİZİNİ.....	<i>V</i>
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	<i>Vi</i>
RESİMLER DİZİNİ.....	<i>Vii</i>
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Malokluzyonlar.....	4
2.2. Rapid Maksiller Ekspansiyon	5
2.3. Kemik histolojisi	11
2.4. Kemikleşme	13
2.4.1. Endokondral kemikleşme	13
2.4.2. İntramembranöz kemikleşme.....	13
2.4.2.1. Suturlarda kemikleşme	14
2.4.2.2. Eksansiyon kuvveti uygulamasına karşı suturlarda oluşan değişiklikler.....	15
2.5. Bifosfonatlar	17
2.5.1. Bifosfonatların etki mekanizması.....	18
2.5.2. Toksik etki	22

2.5.3. Yan etki	22
2.5.3.1. Bifosfonatlara bağlı olarak çenelerde görülen osteonekroz	23
2.5.3.2. Bifosfonatlara bağlı olarak diş hareket miktarında azalma.....	25
2.6. Zoledronik asit	27
2.6.1. Kimyasal yapı	27
2.6.2. Farmakokinetik zellikleri.....	28
2.6.2 Etki mekanizması.....	29
3. MATERYAL VE METOT	33
3.1. Eksansiyon aygıtı	34
3.2. Cerrahi yöntem	35
3.3. Operasyon sonrası bakım ve latent dönem	38
3.4. Aktivasyon, retansiyon ve relaps dönem.....	39
3.5. Örneklerin incelenmesi	42
3.5.1. Radyolojik değerlendirme.....	42
3.5.2. Histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme.....	44
3.6. İstatistiksel yöntem	51
4. BULGULAR	52
4.1. Klinik bulgular	52
4.2. Radyolojik bulgular	52
4.2.1. Ekspansiyon miktarı ve retansiyonun değerlendirilmesi.....	52

4.2.1.1 Grup içi değerlendirme	52
4.2.1.2. Gruplararası değerlendirme	53
4.2.2. Eksansiyon bölgesinde oluşan kemik yoğunluğunun değerlendirmesi	54
4.2.3. Relaps miktarının değerlendirilmesi.....	56
4.3. Histolojik bulgular.....	56
5. TARTIŞMA.....	73
6. SONUÇLAR.....	90
7. ÖZET	91
8. SUMMARY	93
9. KAYNAKLAR	95
10. ÖZGEÇMİŞ	114
11. TEŞEKKÜR.....	117

KISALTMALAR DİZİNİ

RME:	Rapid Maksiler Ekspansiyon
TgF- β_1 :	Transforming growth faktor β_1
IV :	İntravenöz
ZA:	Zoledronik Asit
SME:	Slow Maksiler Expansion
MH:	Malignite Hiperkalsemisi
TPTX:	Tiroid Paratiroidektomize
PTH:	Paratiroid Hormon
IL-1:	İnterlokin-1
BT:	Bilgisayarlı tomografi
EDTA:	Ethylendiaminotetra asidik asit
Pbs:	Fosfat tampon solusyonu
He:	Hematoksilen eozin
Dab:	Diamino benzidine
DEXA:	Dual enerji X-ışını absorbsiyometri
IgG:	Immunglobulin G

TABLolar DİZİNİ

Tablo I. Gruplara ait ekspansiyon, retansiyon, ve relaps süreleri.

Tablo II. Parafin takip protokolü.

Tablo III. Hematoksilen eozin boyama protokolü.

Tablo IV. İndirek immünoperoksidaz yöntemle immünohistokimya boyama protokolü.

Tablo V. İmmünohistokimyada kullanılan malzemeler.

Tablo VI. Başlangıç, ekspansiyon ve retansiyon periyotları sonrasında gruplara ait değerler.

Tablo VII. Retansiyon periodu sonrasında gruplara ait yoğunluk değerleri.

Tablo VIII. Gruplara ait relaps oranlarının karşılaştırılması.

Tablo IX. Histolojik değerlendirme.

Tablo X. İmmunohistokimyasal değerlendirme (osteonectin, osteocalcin).

Tablo XI. İmmunohistokimyasal değerlendirme (VEGF, TGF- β).

Tablo XII. Histolojik ve immunohistokimyasal değerler.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Bifosfonatların yapısı.

Şekil 2. Zoledronik asitin kimyasal yapısı

Şekil 3. Çalışmada kullanılan ekspansiyon zembereği

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Çalışma bölgesinin operasyon öncesi traş edilip dezenfekte edildikten sonraki görüntüsü.

Resim 2. İlk insizyon sonrası görüntü.

Resim 3. Sagittal suturun her iki yanında açılan deliklerin görüntüsü.

Resim 4. Açılan deliklere ekspansiyon apareyinin yerleştirilmesi

Resim 5. Operasyon bölgesinin primer olarak suture edilmesinden sonraki görüntüsü.

Resim 6. Çalışmada kullanılan retansiyon teli.

Resim 7. Sutura da oluşan genişleme sonrasında retansiyon telinin uyumlanmış görüntüsü.

Resim 8. Çalışmada kullanılan zoledronik asit

Resim 9. Tomografi görüntüleri alınırken deneklerin gentrye standart pozisyonda yerleştirilmesi

Resim 10. Tomografi kesitlerinden ölçümlerin belirlenmesi.

Resim 11. Tomografi kesitlerinden yeni oluşan kemik yoğunluğunun belirlenmesi

Resim 12. Kranium örneğinin dekalsifikasyon sonrası görüntüsü.

Resim 13. Parafin bloklama için çalışma bölgesinin craniumdan ayrılması.

Resim 14. T1-T2-T3 periyotlarında elde edilen görüntüler

Resim 15. T3 periyodunda gruplardan elde edilen görüntüler

Resim 16. Grup 1'den elde edilen sagittal sutur örneklerinin mikrografları.

Resim 17. Grup 1'den elde edilen sagittal sutur örneklerinin immunohistokimyasal boyalı migrografları.

Resim 18. Grup 2'den elde edilen sagittal sutur örneklerinin mikrografları

Resim 19. Grup 2'den elde edilen sagittal sutur örneklerinin immunohistokimyasal boyalı migrografları.

Resim 20. Grup 3'den elde edilen sagittal sutur örneklerinin migrografları

Resim 21. Grup 3'den elde edilen sagittal sutur örneklerinin immunohistokimyasal boyalı migrografları.

Resim 22. Gruplardan elde edilen sagittal sütür örneklerinin anti-osteocalcin primer antikoruna ile indirek immunohistokimyasal yöntemle boyanmış migrografları.

Resim 23. Gruplardan elde edilen sagittal sütür örneklerinin anti-osteonektin primer antikoruna ile indirek immunohistokimyasal yöntemle boyanmış migrografları..

Resim 24. Gruplardan elde edilen sagittal sütür örneklerinin anti-TGF- β primer antikoruna ile indirek immunohistokimyasal yöntemle boyanmış migrografları.

Resim 25. Gruplardan elde edilen sagittal sütür örneklerinin anti-VEGF primer antikoruna ile indirek immunohistokimyasal yöntemle boyanmış migrografları.

1.GİRİŞ

Rapid Maksiller Ekspansiyon (RME), ortodontistlerin sık karşılaştığı fonksiyonel ve estetik sorunlar ortaya çıkaran bir maloklüzyon türü olan üst çene darlığını düzeltmek için tercih edilen bir tedavi yöntemidir. RME uygulaması ile sutura palatina media ve posterior dentisyon genişliğinin artırılmasını midpalatal suturdaki aktif kemik formasyonu takip eder. Bununla birlikte üst birinci büyük azılar arası mesafede elde edilen artış, pekiştirme dönemi uzun tutulmadığı takdirde nükle sonuçlanır. Genişlemiş olan suturun erken dönem relapsını engellemek için uzun süreli pekiştirmenin gerekli olduğu bilinmektedir. Olabilecek nüksün nedenleri olarak yetersiz alveoler kemik remodelingi, palatal konnektif dokuların gerilimi, diğer fasiyal kemiklere bağlı suturlardaki rejenerasyon veya oral kas fonksiyonlarının kalıcı olmaması sayılabilir.¹⁵⁶

Günümüzde ortodonti alanında, gerek dişsel gerekse iskeletsel seviyedeki düzensizliklerin giderilmesinde, tedavi süresini kısaltmak ve elde edilen durumun devamlılığı sağlanarak, meydana gelebilecek nüksün engellenmesi amaçlanmaktadır. Yapılan çalışmalar, hasta ve hekimin konforu yanı sıra en hızlı ve en etkili tedavi yöntemini sağlamaya ve relapsı engellemeye yöneliktir. Ancak ortodontik tedavi esnasında uygulanan RME sonrasında sutur bölgesinde oluşan yeni kemiğin kalsifikasyonu için beklenen 6 aylık pekiştirme periodununun tedavi süresini uzatması, hastaların tedaviden sıkılmaları ve ayrıca elde edilen tedavi sonuçlarınının sabit kalmayıp relapsa uğraması ortodontistleri zor durumda bırakmaktadır. Aktif tedavi mekanikleri hızla gelişerek kendini yenilerken pekiştirme yöntemleriyle ilgili gelişme ve yenilikler aynı hızla ilerlememektedir.

Ortodontik tedavi esnasında uygulanan RME sonrasında sutur bölgesinde kemik yapım hızını ve kemik yoğunluğunu artırarak tedavi süresini kısaltmak ve meydana gelebilecek relapsları azaltmak için sutur bölgesine lazer ile biyostimülasyon uygulanması, transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) enjeksiyonu gibi çalışmalar yapılmıştır.^{38,129,134} Yine osteoklastik aktivitenin baskılanması yoluyla meydana gelebilecek relapsın önlenmesi amacı ile birinci nesil bifosfonat uygulanması gibi çalışmalar da yapılmıştır.⁸⁶

Bifosfonatlar çeşitli kemik ve kalsiyum metabolizması hastalıklarının tedavisi için geliştirilmiş bir ilaç grubudur.⁸² 1960'lı yıllarda iskelet ve kalsiyum metabolizması üzerindeki etkileri bildirilmiş ve 1980 yılında insanlarda kemik hastalıklarında kullanılmaya başlanmıştır.⁸⁴ Bifosfonatlar genellikle osteoklastların aktivitelerini inhibe ederek kemik rezorpsiyonu üzerine etki ederler.¹²⁸ Bifosfonatların, özellikle intravenöz (IV) olarak verildiğinde, kemik rezorpsiyonunu etkili olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Bifosfonatlar mineralize kemik matrikste birikerek, kemiği osteoklastların çözündürmesine karşı daha dirençli kılarlar. Bifosfonatlar ayrıca osteoblastların osteoklastları inhibe eden maddeler üretmelerine neden olarak dolaylı yoldan da etki gösterirler.¹⁶⁸ Bununla birlikte son yıllarda yapılan yeni çalışmalar bifosfonatların ek olarak osteoblastik kemik formasyonunu artırdığını göstermektedir.^{118,165}

Zoledronik asit (ZA) halka yapısında ikinci bir azot atomu içeren üçüncü nesil bifosfonatlardandır. İmidazol türevidir ve güçlü IV bir bifosfonatdır.⁵⁵

Literatürde distraksiyon osteogenezis işleminden sonra fonksiyonsuzluğa bağlı oluşabilecek osteoporözü ve rejenerat sahasında oluşabilecek fraktürü, yeni oluşan

kemik yoğunluğunu artırarak önlemek ve konsolidasyon süresini azaltmak amacı ile ZA kullanılmıştır.¹¹⁸

Çalışmamızın amacı; ratlarda ekspansiyon sonrasında nüksü önlemek ve pekiştirme periyodunu kısaltmak için sistemik olarak uygulanan ZA'nın suturlardaki kemik formasyonu üzerine etkilerini, histolojik ve radyolojik açıdan değerlendirmek ve meydana gelen durumun relaps üzerine etkilerini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Malokluzyonlar

Çene diş sisteminde ortaya çıkan uyumsuzluklar malokluzyonları oluştururlar. Ortodontik tedavilerde amaç bireylerde estetik ve fonksiyonel bakımdan sağlıklı bir ağız ve yüz yapısı kazandırmaktır. Ortodontik açıdan insan estetiğini en çok etkileyen malokluzyonlar iskeletsel olanlardır. Bu malokluzyonlar vertikal, sagittal ve transversal yönlerde olabilir. Çeneler arasında görülen transversal boyuttaki uyumsuzluk, genel veya lokal faktörlere bağlı olarak oluşmaktadır.

Genel faktörler içerisinde kalıtım, nazal obstrüksiyon, parmak emme gibi kötü alışkanlıklar, dil itme gibi anormal fonksiyonlar, sistemik ve konjenital hastalıklar yer alırken, erken temaslar, süt dişi retansiyonu sonucunda veya erken süt dişi çekimine bağlı olarak oluşan yer kayıplarında daimi dişin palatinalde sürmesi lokal faktörlerdendir.^{57,114}

Transversal yöndeki malokluzyonlar içerisinde maksiller darlık ve bununla birlikte görülen posterior çapraz kapanış, ortodontik olarak önemli bir problemdir. Bu tür malokluzyonların tedavisinde maksiller bazal kaide ve dişsel yapıların ortodontik ve/veya ortopedik düzenlemesine imkan tanıyan çeşitli yöntemler vardır.

Maksillanın genişletilmesinde iki farklı yöntem dikkati çekmektedir. Bunlar yavaş üst çene genişletmesi (SME- slow maxiller expansion) ve midpalatal süturun hızlı açılmasına yönelik hızlı üst çene genişletmesi (RME- rapid maxiller expansion) yöntemleridir.

Bu yöntemlerin uygulanmasında: hastanın yaşı, kooperasyonu, malokluzyonun derecesi, apareyin şekli, posterior dişlerin eğimleri, darlığın miktarı ve pekiştirme işlemi önemli bir yer tutmaktadır.

SME daha çok süt ve karma dişlenme döneminde uygulanmakta olup daha çok dentoalveoler yapılarda genişleme sağlamaktadır. RME yöntemi ise her yaş grubunda uygulanabilmektedir. RME ile minimum diş hareketi ile birlikte maksimum iskeletsel genişleme hedeflenmektedir.

2.2 Rapid Maksiller Ekspansiyon

RME yöntemi yüz yıldan daha fazla süreden beri uygulanmaktadır. 1860 yılında E.C. Angell,⁸ maksiller premolarların arasına uyguladığı vidalı bir aparey ile sutura palatina medianın ayrılabilceğinden söz etmiştir. Araştırmacı üst orta kesici dişler arasında meydana gelen diastemanın ekspansiyon esnasında sutura palatina medianın yırtılması ile oluştuğunu savunmuş, fakat o tarihlerde X ışınları bilinmediğinden bu görüşü radyografik olarak kanıtlayamamıştır. 1900'lü yılların başlarında röntgen tekniğinin bulunması ve kullanılması ile sutura palatina medianın açıldığı belirtilmiştir.

Haas,⁶⁰ tarafından 1961 yılında tekrar tanıtılması ile birlikte ortodontinin değişmez tedavi yöntemlerinden biri haline gelen RME posterior bölgede iskeletsel ve/veya dişsel darlığı olan vakalarda uygulanmaktadır.^{61,62,170}

RME'nin endikasyonları arasında; posterior çapraz kapanışın düzeltilmesi, ark boyutunun artırılması, nazal rezistansın azaltılması, maksiller yetmezlikle karakterize Sınıf III hastalarda sutural mobilizasyonun sağlanması, orta dereceli maksiller çapraşıklık gösteren hastalarda yer elde edilmesi, dudak damak yarığı hastalarında maksiller kollapsın açılması, Sınıf II bölüm 1 malokluzyona sahip hastalarda

mandibulanın spontan düzeltilmesi, ortognatik cerrahi öncesi ameliyata hazırlık, apikal kaide darlığı, gülme esnasında görülen karanlık koridorların giderilmesi sayılabilir.^{21,54,60,167}

RME yönteminin ana prensibi kısa bir zaman aralığında, aralıklı ve ağır kuvvetler uygulayarak midpalatal suturun ayrılmasıdır. Bu amaçla kullanılan apareydeki vidanın aktive edilmesiyle kısa bir zaman aralığında ağır kuvvetler oluşturulur. Uygulanan kuvvetler suturun bioelastik sınırını aşınca midpalatal suturda ortopedik açılma ve maksiller kemiklerde ayrılma meydana gelmektedir. Ayrılma kuvvetin bioelastik dayanıklılık sınırının altına düşüncüye kadar devam etmektedir. Bundan sonra midpalatal sutur reorganizasyon ve remodeling olayları ile stabilize olmaya başlamaktadır.^{45,72,103,153}

Ekspansiyon için kullanılan vidanın her 1/4 tur aktivasyonunda yaş ekspansiyon miktarı gibi faktörlere bağlı olarak 0.9-4.5 kg kuvvet oluşmaktadır.^{23,60,61,62,63,154,167,169} Zimmering ve Isaacson¹⁷⁹ RME apareyleriyle 7.7-15.8 kg arasındaki transversal kuvvetin destek dişlere ve dokulara iletildiğini belirtmiştir. Bu transversal kuvvetlere ilk cevap, destek dişlerin vestibüle doğru devrilmeleri ile oluşan periodontal dokularda sıkışma ve gerilmedir.^{13,18,34,51,67,146} Bunun neticesinde ankraj dişlerin bukkal yüzeylerindeki alveoler kemikte dehissenslerde artış ve destek dişlerden özellikle birinci premolarların bukkal alveol kret seviyelerinde çekilmeler gözlenebilmektedir.⁵¹

RME'de verilen ilk kuvvetin etkisiyle midpalatal suturda travma meydana gelmekte, küçük lokalize kırıklar oluşmakta, sutura bakan kemik yüzeylerinde osteoblastlar ortaya çıkmakta ve bir süre sonra kemik yapımı meydana gelmektedir. Normal sutur yapısı tekrar oluşuncaya kadar fibrogenesis ve osteogenezis olayları

devam etmektedir.^{45,140} RME sırasında ve sonrasında, 8-13 yaşları arasındaki 8 çocuğun midpalatal suturundan alınan biyopsi örneklerinde, büyük çocuklarda kemik birleşim alanlarında çok sayıda küçük kırıklar olduğu, kırık alanlarındaki iyileşmenin maksiller segmentler arasındaki kemiğin kaynaşmasıyla sonuçlandığı belirtilmiştir.¹⁰⁴

RME apareyleriyle oluşturulan ağır kuvvetlerle dental etkiden çok iskeletsel etki elde etmek asıl amaçtır.^{30,59,60,61,62,63,72,154} Bu amaç da kullanılan aparey tipinin önemi büyüktür. Haas'ın⁶⁰ kendi adıyla anılan apareyinden sonra, Isaacson,⁷² Minne ekspansiyon apareyini, Biederman,²¹ Hyrax apareyini ve Timms,¹⁵⁵ Cap Splint apareyini tanıtmışlardır. Haas'ın geliştirdiği aparey, diğerlerinden farklı olarak akril yastıkçıklarla palatinal mukozadan da destek almaktadır. Bu apareyle damak kubbesine iletilen ağır kuvvetler palatinal artere baskı yapar böylece damar etrafındaki konnektif dokular uyarılır. Damar çevresindeki osteoklastlar aktive olarak damarı zedelenmekten korumak için çevresindeki kemik dokuda yıkım oluştururlar. Böylelikle damak kubbesinin içi oyularak daha gerçek bir bazal genişletme sağlanır.⁶³

Bandlı apareyler ile yapılan ekspansiyon sırasında maksiller posterior dişlerde devrilme ve uzama meydana gelmekte, mandibula posterior rotasyona uğramakta, sonuçta alt yüz yüksekliğinde artış olmaktadır.^{18,50,62,63,67,154,167} Geleneksel RME apareylerinin bu dezavantajlarını azaltmak amacıyla çeşitli RME apareyleri tasarlanmıştır. Spolyar¹⁴² dişlerin oklüzal yüzeyini kompozit türü yapıştırıcılar ile örttüğü diş destekli genişletme apareyini dudak damak yarıklı 4 hastada kullanmış ve ön çapraz kapanışın kendiliğinden düzeldiğini belirtmiştir.

Dişlerin oklüzal yüzeylerini içine alan akrilik RME apareyi, ilk olarak Brudvik ve Nelson,²⁷ tarafından kullanılmıştır. Bu apareyler dişi, kole seviyesine kadar tam olarak

sarmakta bu sayede interdijitasyonla sağlanan oklüzal stabilite bozulmaktadır. Isırma kuvvetlerinin 125-150 kg olduğu düşünüldüğünde bu oklüzal kuvvetlerin ortadan kaldırılması önemlidir.¹⁵³ Böylelikle maksiller ekspansiyon kolaylaşmakta, kök rezorbsiyonu oluşma riski azalmakta ve genişletme sırasındaki oklüzal çatışmalardan kaynaklanan travmalardan temporomandibular eklem korunmaktadır. Ayrıca molar dişlerde devrilme hareketi azalmakta ve kuvvet kök yerine direkt olarak nazomaksiller komplekse iletilmektedir.¹⁴⁷ Oklüzal ısırma düzlemlili RME apareylerinin diğer bir avantajı ise vertikal yön kontrolünü sağlamasıdır. ^{4,10,14,144,147}

Orhan,¹¹⁷ yaptığı çalışmada maksiller arktaki bütün dişlerden ve tüm palatal mukozadan destek alan, akrilik cap splintli rapid maksiller ekspansiyon apareyini kullanmıştır. Bandlı apareylerde 4 diş ile sutura iletilen kuvvet bu apareyde 12 diş ve palatal mukozaya yayılmış, böylece destek dişler üzerine gelen kuvvet miktarı en aza indirilmiştir.

Mommaerts,¹¹³ 1999 yılında yeni bir ekspansiyon yöntemi olarak kemik destekli transpalatal distraktörü sunmuştur. Bu ekspansiyon yönteminde kullanılan aparey dişten destek almayıp tamamen kemik destekli olduğundan periodontal ligamentin sıkışması, bukkal kök rezorbsiyonu, fenestrasyon, dişlerde meydana gelen devrilme ve ekspansiyon sırasında veya sonrasında oluşan nüks gibi komplikasyonları ortadan kaldırmıştır.

RME uygulamasında dikkat edilmesi gereken diğer bir konu da hasta yaşıdır. Bell,¹⁸ maksiller genişletme sırasında oluşan dişsel ve iskeletsel değişimlerin, uygulanan kuvvetin miktarı ve aparey tipine bağlı olduğu kadar hastanın yaşıyla da ilişkisi olduğunu savunmaktadır. RME için en uygun yaşın, 13-15 yaşları arası olduğunu

belirtirken erişkin hastalarda da RME'nin yapılabileceğini ancak sonuçların stabil olmayacağını ifade etmiştir.

Araştırmacılar, genç hastalardaki artmış iskeletsel cevabı, gelişen suturdaki artmış hücresel aktiviteye bağlamışlardır.^{34,140,146} İleri yaşlardaki hastalarda, midpalatal sutur testere ağzı görünümüne benzeyen, mekanik olarak kilitlemiş ve kemik adacıklarının görüldüğü sert bir yapıdadır.¹⁰⁵ Bu hastalarda uygulanan kuvvet sutur üzerinde zayıf bir bölge bulunmadığından destek dişler ve alveol üzerine yığılmakta ve bu bölgede önemli problemler oluşturmaktadır.^{4,16}

RME sırasında destek dişlere iletilen ağır ortopedik kuvvetler, dişlerin palatal kısımlarında bulunan periodontal liflerde organizasyon bozuklukları ve özellikle vestibül kök yüzeylerinde rezorbsiyonlar oluşturabilmektedir.^{13,143} Vardimon ve ark,¹⁶³ maymunlarda ağır kuvvetler (2035 gr) uygulayarak yaptıkları genişletmede, maksiller premolarların kök yüzeylerinde önemli miktarda eksternal rezorbsiyon tespit etmişlerdir. Buna karşın, hafif kuvvetlerle (309 gr) yaptıkları genişletmede daha az miktarda eksternal rezorbsiyon saptamışlardır. Sonuçta kuvvet azaldıkça kök rezorbsiyonlarının azaldığını belirtmişlerdir. Bazı araştırmacılar da retansiyon döneminde defektlerin tamir edildiğini ve destek dişlere komşu dişlerde ise kök rezorbsiyonu oluşmadığını bildirmişlerdir.^{13,16,85}

RME'den sonraki iskeletsel nüksde maksiller ve kraniofasial yapılardaki yük birikiminin en önemli faktör olduğu belirlenmiştir. RME ile elde edilen sonuçların kalıcı olabilmesi için yeterli bir pekiştirme süresine ihtiyaç duyulmaktadır.^{33,45} Bishara,²³ RME sonrası suturun radyolojik olarak 3 ayda normal görüntü verdiğini, histolojik olarak ise 6 ay sonra organize olup kalsifikasyonunu tamamladığını

belirtmiştir. Da Silva ve ark,³⁵ çocuklarda RME sonrasında anterior nazal spinadan posterior nazal spinaya kadar midpalatal suturun tamamen kemikleşmesinin 8-9 ay sürdüğünü belirtmiştir. Pekiştirme tedavisinin kısa sürmesi dental ve/veya iskeletsel nükslerle sonuçlanabilmektedir. RME sonrasında, genellikle en az 6 ay süreyle pekiştirme yapılmaktadır. Bu süre içerisinde sutura palatina medianın osteogenezisi ve böylece diğer maksiller suturların yeniden organizasyonuna ve stabilizasyonuna izin verilmiş olur.^{17,30,45}

Relaps oluşumunda diğer önemli bir faktör de iskeletsel yapıları saran yumuşak dokulardır. Pekiştirme işlemi sonrasında bukkal kaslarda, periodontal ligamentlerde ve palatal dokularda oluşan gerilmelerin relapsta önemli olduğu belirlenmiştir.^{67,146} Halozenetis ve ark,⁶⁴ RME öncesi molar dişlerde 3 gr/cm² olan bukkal basıncın, 3-4 aylık pekiştirmeyi takiben 9 gr/cm² ye çıktığını belirtmişlerdir.

Krebs,⁸¹ 23 hasta üzerinde metalik implantlar kullanarak yaptığı çalışmada, retansiyon sonrasında dental ark genişliğinde azalma bulmuş ve bu azalmanın 5 yıl kadar devam ettiğini belirtmiştir.

RME'den sonra relaps oluşumunda, pekiştirme süresi kadar, pekiştirme apanyinin tipi de önemlidir. Hicks,⁶⁷ pekiştirme apanyi kullanmayan hastalarda %45, hareketli pekiştirme apanyi kullanan hastalarda %22-25, sabit pekiştirme apanyi kullanan hastalarda ise %10-23 oranlarında relaps olduğunu belirtmiştir. Sabit pekiştirme apanyi olarak ekspansiyon apanyinin kendisi veya molarlar arası transpalatal ark, hareketli apanyi olarak da Hawley apanyi kullanılmaktadır.²³ Hareketli apanyelerin hasta kooperasyonu gerektirmesi dezavantaj olarak gösterilmekte ve sabit pekiştirme apanyelerinin kullanılması tavsiye edilmektedir.^{34,61,170}

2.3 Kemik Histolojisi

Kemik dokusu, özel bir yapı gösteren mineralize olmuş bağ dokusudur. Vücudun en sert dokusu olup diğer yapıları destekler ve pek çok hayati organı korur. Kemik dokusu kemik matriksi denilen hücreler arası madde ve kemik hücrelerinden oluşur. Kemiğin kimyasal yapısında %71 inorganik tuzlar (kalsiyumfosfat ve kalsiyumhidroksiapatit), %18,5 kollajen, %0,25 mukopolisakkarid, %1,75 protein ve %8,5 de su bulunur. Kemik dokusu mm² başına 15 kilogram basınca ve 10 kilogram çekme kuvvetine dirençlidir. Bu kemiğin elastik özelliğindedir ve bu değerler aşıldığında kemik dokusunda kırık veya çatlak oluşur.^{3,32,75,125,152}

Genel olarak osteoblast, osteoklast ve osteosit olmak üzere 3 çeşit kemik hücresi vardır. Osteoblastlar, kemik dokusunun yüzeyine yakın olarak diziler oluştururlar. Kemik matriksinin organik kısımlarının sentezinden sorumludur, sonradan mineralizasyona uğrayarak kemiğe sağlamlık ve sertlik sağlayan, kollajen liflerden zengin, glikoprotein ve polisakkaridlerden oluşan osteoid maddeyi ve matriks sentezi süresince transport için gereken proteini sentezlerler. İnorganik yapının depozisyonu osteoblastların varlığına bağlıdır. Kemik yapımı ilerlediğinde doku içinde kalıp osteositlere dönüşürler. Osteoblast tabakasının ürettiği matriksle eski kemik matriksi teması geçer ve arada yeni matriks tabakası oluşur. Buna kemik apozisyonu denir ve zamanla kalsiyum tuzlarının çökmesi ile tamamlanır.^{75,152}

Osteoklastlar, kemik rezorbsiyonundan sorumludurlar. Bu hücreler çok büyük, ileri derecede dallanmış ve hareketli hücrelerdir. Kemik rezorbsiyonunun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış, howship laküna adı verilen çukurcularda bulunurlar. Çok çekirdekli olan osteoklastlar hematopoetik dokulardan oluşmuştur.

Rezorbe edecekleri kemik yüzeyine hidrolitik enzimler salgılayarak kemiğin ve kalsifiye olmuş kıkırdağın organik ve inorganik matrikslerini yıkıma uğratırlar. Osteoblastlarla beraber kuvvete bağlı olarak kemik şekillenmesine imkan verirler. Kemik ve kıkırdağın repozisyonu ve kemiğin yeniden şekillenmesinde rol oynarlar.⁷⁵

Osteositler kemik dokusunun oluşumu sırasında kemik matriksi içinde hapsolan olgun osteoblast hücreleridir. İskelet sisteminin %90'ını oluştururlar ve kemik matriksinin devamlılığını sağlarlar. Lakunlar içinde yer alan bu hücreler kemik matriksi sentezler, mineral içeriğini korur, kalsiyum ve fosfatın konsantrasyonunu kontrol ederler.^{75,125,158} Kemik matriksini oluşturan inorganik kısımda kalsiyum ve fosfat miktarı fazladır. Organik kısmı tip I kollajen ve proteine bağlı glikozaminoglikandan oluşur. Hidroksiapatit kristallerinin kollajen liflere bağlanması kemiğin sert yapıda olmasını sağlar.^{3,75}

Kemik dokusu temelde kompakt ve spongioz olmak üzere ikiye ayrılır; kompakt kemik çok serttir ve dış kuvvetlere dayanıklıdır, yassı kemiklerin iç ve dış yüzeylerini, uzun kemiklerin ise dış yüzeylerini oluşturur, spongioz kemik daha yumuşaktır ve kompakt (kortikal) kemiğe göre daha zayıftır, ancak strese dayanıklı olup içinde kemik iliği mevcuttur.^{75,152}

Kemik dokusu şu sıraya göre oluşur; mezenkim hücrelerinin osteoblastlara farklılaşması, osteoblastların kemik dokusunun organik kısmı olan kollajen fibrilleri ve esas maddeyi salgılaması, organik maddenin mineralizasyonu (hidroksiapatit kristallerinin esas maddeye çökmesi) ve osteoklastların ortamda belirmesi.^{75,125,158} Osteoblastlar yeni kemik lamelleri yaparken osteoklastlar yapılan kemik lamellerini rezorbe ederler. Böylece bir yanda yeni kemik dokusu oluşurken (apozisyon) bir yanda

da rezorbsiyon olur. Bu esnada kemik dokusu sertliğini ve devamlılığını korumaya devam eder.^{75,125,158}

2.4 Kemikleşme

İki türlü kemikleşme söz konusudur; bunlar intramembranöz (zarsal, direkt) kemikleşme ve endokondral (kıkırdaksal, indirekt) kemikleşmedir. İster zarsal ister kıkırdaksal kemikleşme olsun kemiği meydana getiren osteoblast hücreleridir ve her iki kemikleşmede de osteoblastlar aynı şekilde kemik yaparlar.

2.4.1. Endokondral Kemikleşme

Endokondral kemikleşme olurken önce gelişecek kemiğin hyalin kıkırdağından oluşan bir taslağı belirir, daha sonra taslağın kondrositleri genişler ve ardından parçalanıp yıkılırlar. Geriye kalsifiye kıkırdak matriksi septalarının birbirinden ayırdığı genişlemiş lakunalar kalır. Dejenere olmuş kıkırdak hücrelerinden geriye kalan bu alanlara osteoprogenitor hücreler ve kan damarlarından oluşan bir yapı dolar. Osteoprogenitör hücreler, kıkırdağımsı septumun üstünü kemik matrisi ile kaplayan osteoblastlara dönüşür, böylece kartilaj yapı kemik matriksiyle örtülmeye başlar. Kalsifiye kıkırdak dokusunda kemikleşme başlar. Sonra bu primer kemik dokusunun yerini sekonder kemik dokusu alır.^{75,152}

2.4.2 İntramembranöz Kemikleşme

Osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonudur. Mezenkim hücreleri membranöz kemiğin oluşacağı yere göç ederler ve kemiğin şemasının oluşacağı bölgelere yapışırlar. Mezenkim dokusu vaskülarize olmaya başlar. Mezenkim hücreleri sitolojik değişimlere bağlı olarak osteoblastlara dönüşürler ve osteoblastlar da kemik matriksini oluşturmak üzere kollajen ve proteoglikanların

üretimine başlarlar. Kemikleşmenin ilk başladığı noktaya 'primer kemikleşme merkezi' denir. Kemik matriksinin artmasıyla birlikte osteoblastlar birbirlerinden uzaklaşmaya başlarlar ve bazıları kemik matriksi içerisinde osteositlere dönüşürler. Mezenkim hücreleri bölünerek osteoblast oluşturmaya devam ederler, böylece kemikleşme merkezleri artar. Bu merkezler birbirleriyle birleşir, birleşme alanlarında bağ dokusu yer alır. Kemik matriksinin mineralizasyonu ile membranöz kemik kalsifiye olmaya başlar. Frontal, parietal, oksipital ve temporal kemikler gibi kafatasının bazı yassı kemikleri, mandibula ve maksillanın bazı kısımları bu tür kemikleşme ile meydana gelir. İntramembranöz kemikleşmenin kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında rolü vardır. Doğumdan sonra kafatası kemiklerinin iç ve dış yüzeylerindeki intramembranöz kemiğin yapımı yıkımına nazaran belirgin bir üstünlük gösterir.^{3,75,152}

2.4.2.1 Suturlarda kemikleşme

Birbirine komşu iki kemik arasında bulunan sutura bir bağ dokusu şeridinden ibarettir. Suturada karşı karşıya gelen iki kemiğin üzerini örten periost suturada da devam ediyormuş gibi düşünülebilir. Her iki kemik periostu suturada ayrı ayrı birbirlerine sırtlarını vermiş olarak, iki ayrı periost halinde devam etmektedir. Periost bir bağ dokusu membranıdır. Periostun en üst tabakası fibröz bir tabaka olup fibroblastlar, kollojen lifler, damar ve sinirlerden oluşmuştur. Periostun kemiğe komşu tabakası ise esas kemik yapan (osteojenik) kambiyum tabakası olup, osteoblastların çoğaldığı, osteoblastlar tarafından salgılanan kollojen lifler üzerine kalsiyum tuzlarının çökerek sharpey lifleri haline dönüştüğü ve kemiğin imal edildiği tabakadır. Suturada karşı karşıya gelen iki kemiğin de ayrı ayrı birer kambiyum tabakası ve fibröz dokudan

oluşan birer kapsüler tabakası vardır. İki kapsüler tabaka arasında da kan damarlarının bulunduğu bir ara tabaka vardır. Sutura da karşı karşıya gelen iki kemiğin de ayrı ayrı birer kambiyum tabakaları bulunduğundan, her iki kemik de ayrı ayrı büyürler. Her iki kemik eşit miktarlarda büyüebildiği gibi biri diğerinden daha fazla büyüebilir.¹⁶⁰

2.4.2.2 Ekspansiyon kuvveti uygulaması sonrasında suturda kemik oluşumu

Periosteum kemik büyümesinde ve oluşumunda osteoblastik ve kondrojenik farklılaşmayı destekleyen prekürsör hücreleri ve birçok farklı hücreyi barındırır.^{65,69,149}

Midpalatal sutura uygulanan ekspansiyon kuvvetleri osteoklastların aktivasyonu sonucu kemik rezorpsiyonunu ve periosteal hücrelerin proliferasyonu ve diferansiyonuna bağlı olarak da kemik oluşumunu artırır.

Hou ve ark,⁶⁹ fareler üzerinde yaptıkları bir çalışma da kuvvet uygulaması sonucunda midpalatal suturda görülen genişleme sonrasında birinci günden başlayarak kollojen lifler sutur boyunca reoriente olurlar aynı zamanda periosteal hücreler sutura doğru migrate olmaya başlarlar. Üçüncü günde sutur mekanik kuvvete paralel yönde spindle-shaped hücrelerle dolar ve kondrositlerin sayısında azalma görülür. Yedinci günde palatal kemik uçlarında yeni kemik oluşumu gözlemlenir ve bu oluşan yeni kemik yüzeyinde periosteal hücreler iyice artmaya devam eder ve on dördüncü günde genişlemiş olan suturun içi fibröz doku ile dolar. Sutura oral tarafında yeni oluşan kemik, orijinal suturun kırıkta tabakasına benzer bir yapıda birkaç tabaka kondrositle kaplanır ancak suturun nazal tarafında ise kırıkta benzeri yapı oluşmadan direk nazal epitel altında kemik oluşmaya başlar.

Her iki teknikte de benzer stratejiler uygulansa da distraksiyon osteogenezi ve ekspansiyon yöntemi sonucu kemik oluşumunun indüklenmesinde farklılıklar

vardır.^{48,73} Distraksiyondan farklı olarak ekspansiyonda bekleme süresi, ödem ve nötrofil infiltrasyonu ile karakterize akut inflamasyon görülmez. Bu yüzden midpalatal suturun ekspansiyonu sonucu oluşan biyolojik cevap yara iyileşmesinden çok mekanosensitiv mekanizma ile olur.⁶⁹

2.5 Bifosfonatlar

Bifosfonatlar bazı metabolik kemik hastalıklarında (örneğin Paget Hastalığı), maligniteye bağlı hiperkalsemi ve özellikle günümüzde osteoporoz tedavisi ve önlenmesinde artan bir biçimde kullanılmaktadır.^{2,46} Bifosfonatlar çocuklarda da osteogenezis imperfekta, fibröz displazi, juvenil osteoporoz ve gauchers hastalığı gibi problemlerde kullanılmaktadır.⁹⁷

Bifosfonatlar doğal oluşan pirofosfat molekülünün daha stabil sentetik analogudur ve osteoklastların enzimatik hidrolizine dirençlidir. Merkezdeki karbon atomuna çeşitli yan zincirler eklenerek farklı klinik etkinlik ve potansi olan bir dizi bir fosfonat oluşturulmuştur (şekil 1). Azot içermeyen bifosfonatlar (etidronat, klodronat, tiludronat) intrasellüler olarak metabolize edilerek adozin trifosfatın sitotoksik hidrolize edilemeyen analoglarına dönüşür.^{19,127} Azot içeren bifosfonatlar (alendronat, ibandronat, pamidronat, risedronat ve ZA) protein modifikasyonunu (prenilasyon) inhibe ederler ve kemik rezorpsiyonunun daha güçlü inhibitörleridir.⁹⁴

Bifosfonatlar genellikle kemik mineraline bağlanarak ve sonrasında onunla ilişkili osteoklastların aktivitelerini inhibe ederek kemik rezorpsiyonu üzerine etki ederler.¹²⁸

Kanser hastalarında, özellikle kemik metastazları olanlarda, iskelet komplikasyonları riski yüksektir. Tümör hücreleri ile kemik mikro çevresi arasındaki molekül etkileşimi sonucunda kemik hasarı bir kısır döngü olarak devam eder. Bu durum şiddetli kemik karsinomunda patolojik kırıklara ve Malignite Hiperkalsemisine (MH) yol açar. MH ilerlemiş kanserli hastaların %20-40'nı etkileyen, sık görülen bir komplikasyondur. MH'de IV bifosfonatlar standart tedavidir ve iskelet metastazlarının güncel tedavisinin bütünlüycü bir parçasıdır. Bifosfonat tedavisi serum kalsiyumunu

normalleştirir, iskelet komplikasyonu insidansını azaltır ve bu komplikasyonları geciktirir. Bifosfonat tedavisi kemikte ışın tedavisi ve ameliyat gereksinimini de azaltır.^{20,68,90,164}

Ayrıca bifosfonatlar, hayvan modellerinde kemik mikro çevresini tümör hücresi gelişimi için daha az uygun hale getirerek iskelet tümör yükünü azaltır görünmektedir.¹¹⁶

2.5.1 Bifosfonatların etki mekanizması

Bifosfonatların, özellikle intravenöz olarak verildiğinde, kemik rezorpsiyonunu etkili olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Bifosfonatlar mineralize kemik matrikste birikerek, kemiği osteoklastların çözündürmesine karşı daha dirençli kılarlar. Başlangıçta kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkilerinin, mineralize kemik matriksin stabilitesi üzerindeki bu fizikokimyasal etkiye bağlı olduğu düşünülmüştür ama osteoklastlar üzerindeki moleküler ve selüler etkileri zamanla ortaya çıkarılmıştır. Artık bifosfonatların kemik rezorpsiyonu süreci sırasında salındığını osteoklastların içine alındığını, osteoklastların osteolitik etkinliğini inhibe ettiğini ve yaşamlarını kısalttığı bilinmektedir. Bifosfonatlar ayrıca osteoblastların osteoklastlara sinyallerini değiştirerek, osteoklastların etkinliğini dolaylı olarak da inhibe eder.^{78,128}

Bifosfonatlar kemik dokusunda hidroksiapatite bağlanırlar. Osteoklastların bifosfonat içeren hidroksiapatit kristallerini fagosite etmesi, onların metabolik etkinliğini inhibe eder ve daha fazla kemiği rezorbe etmesini önler (antiresorptif etki). Osteoklastların bifosfonat içeren kemikle temasa geldiklerinde inhibe edildiği in vitro olarak gösterilmiştir. Osteoklastlarda etkinlik azalması yanı sıra sayıca azalmaya da neden olurlar.⁷⁸

Bu olay osteoklastların sadece in vivo kültürlerde değil aynı zamanda bifosfonat kaplı kemik partiküllerinde de gözlenen dejeneratif morfolojik görüntüsü ile desteklenmektedir.¹²⁸

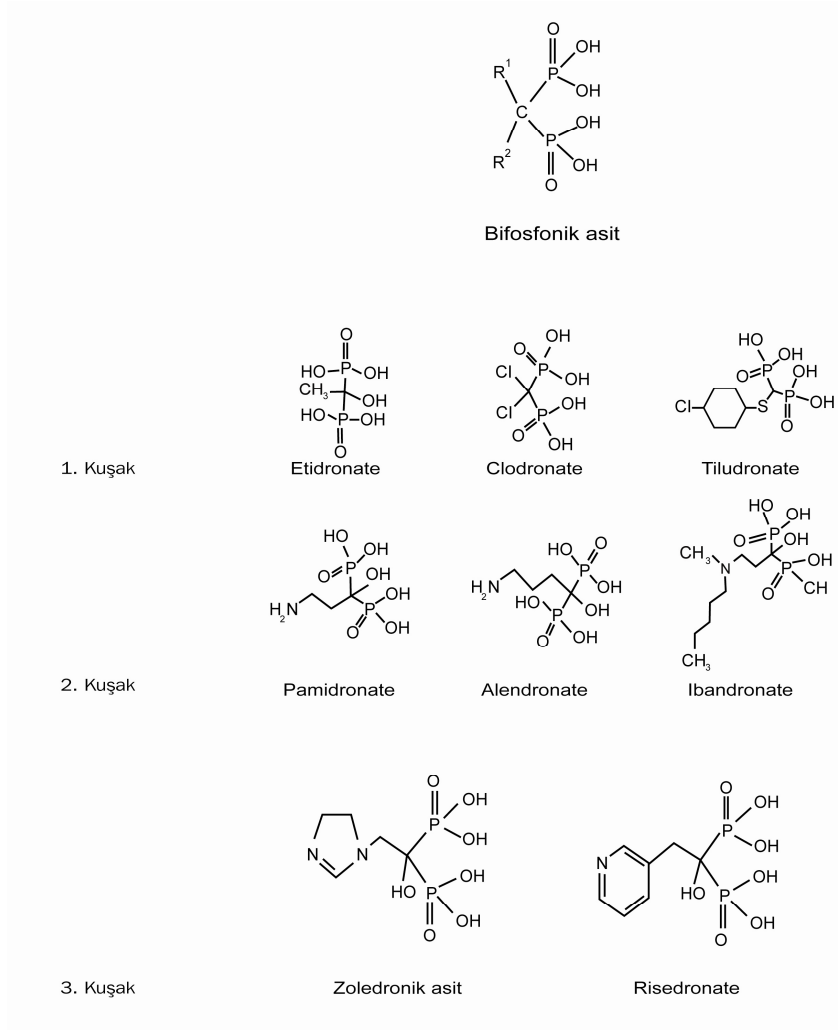
Emilen bifosfonatlar kanda albümin başta olmak üzere proteinlere bağlanarak taşınırlar. Plazmadaki yarı ömrü yaklaşık 2 saattir. Kemik dokusundaki yarı ömürleri ise yıllarla ifade edilecek kadar çok uzundur. İdeal koşullarda oral olarak verilen dozun %1'i emilir. Emilen veya intravenöz uygulanan dozun %50'den fazlası hızlı bir şekilde iskelet sistemine katılır. Geri kalanı renal atılıma uğrar.^{115,176}

Tıbbi kullanıma ilk giren bifosfonat bileşiği etidronattır. Daha sonra alendronat, klodronat, pamidronat, risedronat ve ZA çıkmıştır.

1.kuşak bifosfonatlar= Etidronat, Tiludronat, Klodronat (kısa alkil yan zincir)

2.kuşak bifosfanatlar= Alendronat, İbendronat, Pamidronat (aminobifosfanatlar).

3.kuşak bifosfonatlar= ZA, Neridronat, Risedronat (siklik yan zincir)



Şekil 1. Bifosfonatların yapısı

İlk kuşak, azot içermeyen bifosfonatlar yaklaşık 30 yıl önce klinik kullanıma sokulmuştur. Bu ilaçlar azot atomu olmayan basit yan zincirler içerir. Azot içeren bifosfonatlar (pamidronat, alendronat, ibandronat) tek bir azot içeren alifatik yan zincire sahiptir. Bunlar ilk kuşak ilaçlara göre kemik rezorpsiyonunun daha güçlü inhibitörleridir. Heterosiklik halka yapısı olan azot içeren bifosfonatlar (risedronat) potansta ve terapötik oranda daha fazla ilerleme sağlamıştır.¹⁶¹

Von Knoch ve ark,¹⁶⁵ bifosfonatların insan kemik iliği stromal hücrelerinin proliferasyonu ve osteoblastik diferansiyasyonuna etkisini inceleyen bir deneysel çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada, primer olarak kemik iliği stromal hücrelerinden gelişen osteoblast progenitör hücrelerinin bifosfonatların etkisiyle arttığı ve osteoblast diferansiyasyonunu başlattıklarını kültür ve biyokimyasal incelemeler (alkalen fosfataz ve PCR- polimeraz zincir reaksiyonu) ile gösterilmiştir.

Dişhekimiyle ilgili bifosfonatların kullanıldığı çalışmalar da yapılmıştır. Brunsvold ve ark,²⁸ maymunlarda periodontitis gelişmesi üzerine bifosfonatların klinik ve radyolojik etkilerini anlamak için yaptıkları çalışmada, kemik yoğunluk ölçümlerinin karşılaştırılması sonucunda bifosfonatların periodontitis ilerlemesini durdurduğunu belirtmişlerdir.

Günümüzde implantlar bifosfonat taşıyıcılarla birlikte uygulanmaya başlamıştır. 2000 yılında Denissen ve ark,⁴⁰ koyunlarda yaptıkları çalışmada bifosfonatlı implantlar kullanmıştır. Yüksek oranda bifosfonat kaplı hidroksilapatit implantlarda normal osteokondüksiyon ve tamir oluştuğu görülmüştür.

Meraw ve ark,¹⁰⁶ alendronat kaplı dental implantlar kullanarak günümüzde kullanılan implantların yerine alternatifler geliştirmek amacı ile yaptıkları bir çalışmada alendronatın dental implantlar çevresinde erken dönem kemik formasyon oranını artırdığını belirtmişlerdir.

Reddy ve ark,¹²³ bir bifosfonat türü olan alendronatı araştırmışlar ve periodontal defeklerin tedavisinde kullanıldığında belirgin şekilde kemik dolusunda miktar ve yoğunluk kazancı olduğunu belirtmişlerdir.

Cerrahide aminobifosfonatların sistemik kullanımından kaçınmak amacı ile Yaffe ve ark,¹⁷⁴ 1997 yılında yaptıkları çalışmada absorbe olan pelet vasıtası ile aminobifosfonatların lokal salınımı mukoperiosteal cerrahi ile aktive olan alveol kemik yıkımını azaltmakta etkili olduğunu göstermiştir.

Mitsuta ve ark,¹¹⁰ deneysel periodontitis oluşturdukları ratlara topikal olarak klodronat uygulamışlar ve klodronat uygulamasının periodontitiste oluşan kemik rezorbsiyonunu engellemede başarılı olduğunu belirtmişlerdir.

2.5.2 Toksik etki

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.^{5,89} Etidronat için belirtilen ve diğer bifosfonatlarda görülmeyen toksisite ise kemik mineralizasyonunun önlenmesi ve osteomalaziye yol açmasıdır.⁸⁴

2.5.3 Yan etki

Tüm klinik deneyimler doz ve veriliş şekli uygun olduğunda bifosfonatların iyi tolere edildiğini göstermiştir.⁸⁴ Bifosfonatlara bağlı en belirgin yan etki sindirim sistemi üzerine etkileridir. Ağız yoluyla alındığında bulantı, dispepsi, özefajit, gastrit veya üst gastrointestinal sistem yolunda inflamasyon veya ülserler oluşabilmektedir.⁴⁹ Bifosfonatların hem düşük oral emilim sorununu hem de sindirim sistemi yan etkilerini

gidermek amacıyla intravenöz ve perkütanöz uygulamaları yapılmaktadır.⁴⁹ 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.
84,159

2.5.3.1 Bifosfonatlara bağlı olarak çenelerde görülen osteonekroz

Bifosfonat kullanımına bağlı osteonekroz oluşumu ile ilgili ilk olgu 2003 yılında Migliorati¹⁰⁸ tarafından bildirilmiştir. 1800 yıllarında kibrit fabrikalarında çalışan işçilerde endemik olarak maksilla veya mandibulada görülen nekrozlar üretimde kullanılan fosfor elementine bağlanmıştır. Son birkaç yılda bifosfonat kullanan hastalarda benzer komplikasyonların çıkışı konuyu yeniden güncelleştirmiştir.^{151,157}

Bifosfonat kullanımı sonrası osteonekroz sadece maksilla ve mandibulada görülürken diğer kemiklerde görülmemiştir.^{99,102,126} Mandibulada %68, maksillada %28 ve her iki çenede %4 rapor edilmiştir. Bunun nedeni çiğneme kaslarının faaliyeti sonucunda bu bölgede ilacın nüfuz etmesinin daha fazla oluşudur ayrıca buradaki kemik turnoverı tibiaya göre 10 kat daha fazladır.^{43,100,133}

Şiddetli kemik disorder hastalarında bifosfonat kullanımına bağlı olarak osteonekroz %68 açığa çıkmış kemik şeklinde, %23 en az tek dişte mobilite şeklinde, %17 fistül oluşumu şeklinde görülür. Genelde açık halde nekrotik kemik mandibulanın posterior bölgesinde ve lingual tarafta görülür. Nekrotik kemiğin açığa çıkma nedeni %37 diş çekimi, %28 mevcut periodontal hastalıklar, %11 periodontal cerrahi, %3 implant yerleştirilmesi, %1 apikoektomi ve %25 spontan oluşumdur.⁹⁹

Bifosfonat kullanımı dışında kemoterapi, glikokortikoidler, periferel vasküler bozukluklar ve enfeksiyon gibi bir çok diğer faktör osteonekroz oluşumuna katkıda bulunabilir.^{99,126}

Bifosfonatların IV kullanım sonrasında %4-10 arası osteonekroz insidansı belirtilmiştir ama bu hastalarda osteonekroz insidansını artırabilecek kemoterapi, immün sistem bozukluğu, glukokortikoid kullanımı ve enfeksiyon gibi diğer faktörlerinde bulunduğu belirtilmiştir.^{44,58,136}

Kullanılan bifosfonatlar doza, kullanım süresine, devamlı kullanım olup olmadığına, ilacın cinsine göre etki gösteririler.¹⁷⁷

Düşük ilaç konsantrasyonlarının başlangıç safhasında osteoklastik aktivite azalır denge osteoblastik aktiviteye kayar ve kemik formasyonununda 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 ve kanlanmadan yoksun olarak oluşur. Aşırı ilaç birikiminin final 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.^{172,177}

Bifosfonatların uzun süreli, yüksek doz ve intravenöz kullanımının çenelerde osteonekroz riskini artıran faktörler olduğu bildirilmiştir.^{157,172} 6 aydan fazla potent bifosfonatları kullanan hastalarda yüksek risk olduğunu belirten çalışmalar vardır.¹²⁶

Bifosfonatlarla alakalı osteonekroz vakaları daha çok 60 yaştan büyük hastalardır ve birçok vakada malignensi hikayesi bulunmaktadır. Çoğunluğu bifosfonat tedavisine ilave olarak kemoterapi, steroid ve radyoterapi alan hastalardır.³¹

Boyun ve çene tümörleri tedavisinde kemoterapinin toksik etkisi sonucu iskeletsel ve vasküler toksisite oluşabilmektedir.⁹⁵ Dişsiz hastalarda kemoterapinin komplikasyonuna bağlı olarak çenelerde osteonekroz tanımlanmıştır.¹³⁵

Bifosfonat tedavisinin endike olduğu bir başka rahatsızlık da osteogenezis imperfektadır. Bu hastalığın şiddetli formlarında bifosfonatlar semptomatik bir tedavi haline gelmiştir.^{11,53,96,122} Bu vakalarda bifosfonat kullanımı sonrası bildirilen osteonekroz vakası bulunmamaktadır.

2.5.3.2 Bifosfonatlara bağlı olarak diş hareket miktarında azalma

Bifosfonatlarla ilgili yapılmış çalışmalarda bifosfonatların ortodontik olarak diş hareket miktarını azalttığı belirtilmiştir. Liu ve ark,⁹³ yaptıkları çalışmada lokal olarak uygulanan bifosfonatların (klodronat) ortodontik diş hareketine etkisini incelemişlerdir. Ratlarda yaptıkları çalışmada önce üst çenede birinci molar dişleri ekspansiyon springi vasıtası ile bukkale hareket ettirmişler ve sağ molar dişin subperiosteal bölgesine her üç günde bir clodronat enjekte etmişler sol molar dişi kontrol grubu olarak kullanmışlardır. Elde ettikleri verilere göre klodronatın lokal enjeksiyonunun ortodontik diş hareketini azalttığını ve osteoklast sayısını azalttığından dolayı ayrıca kök rezorbsiyonunu da azalttığını belirtmişlerdir. Adachi ve ark,¹ çalışmalarında istenmeyen diş hareketlerini

engelleyerek ankrajın artırılması ve hareket etmiş dişlerin relapsı farmakolojik ajanlarla önlenbilirse retansiyon süresinin kısılacacağını ve kompleks ortodontik kuvvet sistemlerine karşı gereksinimin azalacağı düşüncesi ile lokal olarak uygulanan bifosfonatların (risedronat) diş hareketi üzerine etkisini araştırmışlardır. İki bölümden oluşan çalışmalarının birinci kısmında ratlarda ekspansiyon springi ile dişleri bukkale doğru hareket ettirmişler bu esnada sağ molar dişin subperiosteal alanına risedronat enjekte etmişler diğer tarafı kontrol grubu olarak belirlemişler ve diş hareketinde azalma tespit etmişlerdir. Çalışmalarının ikinci bölümünde önce dişler aynı spring kullanılarak 3 hafta boyunca bukkale doğru hareket ettirilmiş sonra ekspansiyon springi çıkartılarak risedronat uygulanmış ve dozla orantılı olarak diş hareketinde azalma tespit etmişler ve BP' nin ankraj ve retansiyon amacı ile kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Igarashi ve ark,⁷⁰ ise Adachi ve ark'nın¹ çalışmasının materyal metodu ile aynı prosedürleri kullandıkları çalışmalarında bifosfonat uygulamasını sistemik olarak yapmışlardır. Ankrajı artırmak ve relapsı azaltmak amacı ile uyguladıkları bifosfonatların beklendiği gibi hareket miktarını azaltarak ankrajı artırdığını ayrıca hareket etmiş dişlerde geri hareketi azaltarak retansiyonu artırdığını belirtmişlerdir.

Yapılan hayvan çalışmaları ile bifosfonatların diş hareketini azalttığı belirtilmişse de insanlarda diş hareketini engelleyecek miktardaki bifosfonat tedavisinin süresi ve dozu hakkında kesin bir bilgi yoktur.

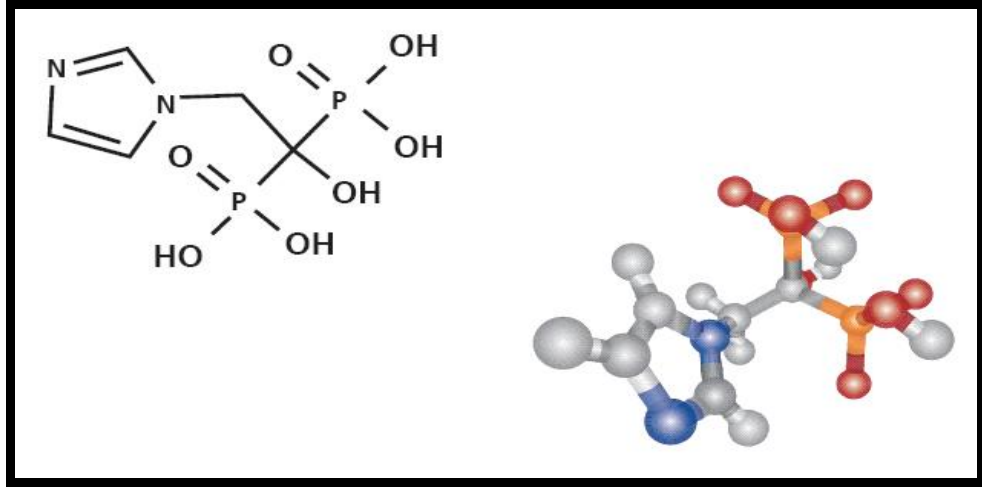
Rinchuse ve ark,¹²⁴ 2007 yılında yayınlanan vaka sunumunda bifosfonat kullanan 2 hastanın ortodontik tedavisinde diş hareketinin çok zor olduğu, boşlukların kapatılması esnasında kök paralelliğinin sağlanmasının oldukça zor olduğunu hareketin daha çok devrilme şeklinde meydana geldiğini belirtmiştir.

Schwartz,¹³⁸ 53 yaşında metastatik akciğer kanseri rahatsızlığı bulunan bir hastasında Sınıf II bölüm 1 malokluzyonun tedavisi amacı ile üst 4 numaralı dişleri çektiklerini ardından ilk aylarda dişlerde seviyelemenin olduğunu ve kanın retraksiyonunun başladığını ama sonraki aylarda kuvvet uygulanmasına rağmen dişlerde hareket gözlenmediğini belirtmiştir. Hastanın kanser tedavisi amacı ile gördüğü kemoterapi, radyasyon ve kullandığı bifosfonatların maksillanın kanlanması bozduğunu ve bunun diş hareketindeki azalmaya sebep olabileceğini ayrıca hastanın kullandığı bifosfonatların da osteoklastik aktiviteyi baskılayarak diş hareketi engellemiş olabileceğini belirtmiştir.

2.6 Zoledronik Asit

2.6.1 Kimyasal yapı

ZA kimyasal olarak (1-hidroksi 2- imidazol -1- yl-fosfonoetil) bifosfonik asit monohidrat olarak adlandırılır ve yapısal formülü şekil 2’de gösterilmiştir. ZA beyaz, kristal bir tozdur. Molekül formülü $C_5H_{10}N_2O_7P_2 \cdot H_2O$, molar kütlesi 290,1 g/mol’dur. ZA sodyum hidroksit solüsyonunda büyük ölçüde çözünürken su ve hidroklorik asitte az çözünür, organik solventlerde ise çözünmez. ZOMETA flakonda steril toz olarak mevcuttur. Bir flakon, 4.264 mg zoledronik aside eşdeğer 4 mg ZA (anhidro) içerir. İnaktif içeriğinde mannitol, USP (hacim yapıcı ajan), sodyum sitrat ve USP (tamponlayıcı ajan) bulunur.



Şekil 2. ZA'nın kimyasal yapısı

2.6.2 Farmakokinetik özellikleri

Zoledronik asit infüzyonu sonrasında vücutta ilacın plazma konsantrasyonları hızla artmakta, infüzyon periyodunun sonunda doruk düzeyine ulaşmakta, ardından 4 saat sonra doruk düzeyinin $< \%10$ 'una ve 24 saat sonra da $< \%1$ 'ine inecek şekilde hızlı bir azalma göstermektedir. Daha sonra, 28. günde ikinci ilaç infüzyonu uygulanıncaya kadar doruk düzeyinin $\% 0.1$ 'ini aşmayacak şekilde oldukça düşük bir konsantrasyonda uzun bir periyod oluşmaktadır.

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 $\% 39 \pm 16$ ' 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 uzundur.

2.6.3 Etki mekanizmaları

ZA'nın ileri sürülen etki mekanizmaları:

- Osteoklast matürasyonunun inhibisyonu.⁴⁷
- Kemik rezorpsiyonu bölgesine osteoklastların toplanmasının inhibisyonu.⁴⁷
- Olgun osteoklast işlevinin baskılanması.⁵⁵
- Sitokin üretiminin azalması (interlökin-6).⁴¹
- Direkt anti tümör etkinlik (sitostatik ve sitolitik).^{9,74}
- Tümör hücrelerinin yayılmasının ve kemik matrikse adhezyon ile invazyonunun inhibisyonu.²⁵
- Tümörlerde anti anjiyojenik¹⁷³ etki şeklinde sıralanabilir.

ZA, osteoklastları inhibe ederek, daha önce genel olarak bifosfonatlar için tanımlanan şekilde, kemik rezorpsiyonunu inhibe eder. Azot içeren bifosfonatlar kemik rezorpsiyonunun güçlü inhibitörleridir. Protein prenilasyonunun inhibisyonuyla ilişkili, osteoklastların işlevsel inhibisyonu ve apoptozla sonuçlanan kendine özgü bir etki mekanizmaları vardır. ZA yeni kuşak, güçlü, azot içeren bir bifosfonattır.

ZA malignitenin iskelet komplikasyonlarının tedavisinde ve önlenmesinde önde gelen bir terapötik yaklaşımdır ve MH'de tedavi seçeneğidir.²⁴

İn vitro ve in vivo çalışmalar, ZA'nın kemik rezorpsiyonuna büyük ölçüde etkili olduğunu göstermiştir.^{24,56} Etidronatın sıçanlarda kemik rezorpsiyonunu inhibe etme

gücü 1 birim kabul edildiğinde, alendronatın 100-1000 birim, ZA'nın ise 10.000 birim kadar güçlü olduğu belirtilmiştir.⁸⁴

Bu nedenle, ZA'nın malignitenin iskelet komplikasyonlarının önlenmesi ve tedavisi için önemli bir potansiyeli vardır. Ayrıca çeşitli in vivo ve in vitro klinik öncesi çalışmalar, ZA'nın güçlü anti tümör ve tümörlerde anti anjiyojenik etkileri olduğunu göstermiştir. Eğer bu etkinlikler kliniğe aktarılırsa ZA yerleşmiş osteolitik kemik hastalığının tedavisinde etkili olmanın yanı sıra, kemik metastazlarının gelişimini inhibe edebilir ve ilerlemiş kanseri olan hastalarda yaşam süresini uzatabileceği belirtilmiştir.^{9,74,173}

ZA'nın in vitro olarak osteoklastların matürasyonu ve işlevi üzerinde dolaysız etkisi olduğu gösterilmiştir. MCF7 meme karsinomu koşullu ortamlı ve ortamsız fetal sıçan kalvaryaya kültürlerinde, ZA osteoklast matürasyonunu ve/veya kemik yüzeyde toplanmalarını inhibe etmiştir.⁴⁷ Osteoklastların olgunlaşma sürecinde önce progenitör ve prekürsör hücreleri çoğalır ve farklılaşır. Bunun ardından füzyon meydana gelir ve kemik yüzeyindeki monositik prekürsörler olgunlaşır. ZA ayrıca olgun osteoklastların işlevsel etkinliğini de baskılar. İn vivo ve in vitro testler, ZA'nın çeşitli uyarılara cevap olarak olgun osteoklastlar tarafından sağlanan kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiğini göstermiştir.⁵⁵

Preklinik çalışmalarda ZA, osteoklast ilişkili kemik rezorpsiyonunu daha önce test edilen bifosfonatlardan daha güçlü olarak inhibe etmiştir.⁵⁵ Green ve ark,⁵⁵ çeşitli bifosfonatların kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkilerini iki model sistemle karşılaştırmıştır. Bu çalışmada tiroid paratiroidektomize (TPTX) sıçanlarda vitamin D₃

ile uyarılan hiperkalseminin inhibisyonu (in vivo model) ve çeşitli uyarılara yanıt olarak fare kalvaryasından kalsiyum salınışının inhibisyonu (in vitro model) ölçülmüştür. TPTX sıçan modelinde, ZA pamidronata göre 850 kat daha güçlü bulunmuştur. Fare kalvaryaya testinde, paratiroid hormon (PTH), PTHrP ve insan interlökin-1 (IL-1) ile uyarılan kalsiyum salınışını inhibe etmede pamidronatdan 40–100 kat daha kuvvetlidir. Çeşitli bifosfonatların TPTX sıçanlarda vitamin D₃ ile uyarılan hiperkalsemiyi inhibe etmede ortalama etkili dozları (ED₅₀) ile fare kalvaryasından vitamin D₃ ile uyarılan kalsiyum salınımını inhibe eden %50 inhibitör konsantrasyonlarının (IC₅₀) karşılaştırılması, bu ilaçların in vivo ve in vitro potansları arasında yakın bir ilişki göstermiştir.⁵⁵

Büyümekte olan sıçanların ZA ile kısa dönem tedavisi, pamidronat ile karşılaştırıldığında, kortikal kemiği etkilemeden, trabeküler kemikte kalsiyum ve hidroksiprolin içerik ile radyografik dansiteyi önemli ölçüde arttırmıştır.¹²⁰ Birçok in vivo deney, östrojen eksikliği olan hayvanlarda ZA'nın kemik kütlelerini, yapısını ve gücünü koruduğunu göstermiştir. Overektomili sıçanlarda haftalık 1,5 µg/kg subkütan ZA enjeksiyonu lomber vertebranın dansitesini korumuş ve overektomi sonrası 52. haftada mekanik gücü sağlamıştır.⁵² 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 baskılamıştır.²²

Bifosfonatların osteoklastik aktiviteyi azalttığından bahsedilmiştir. Birinci nesil bifosfonatlardan biri olan etidronatın osteoklastik aktivite ve relaps üzerine olan

etkilerine bakılmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla bifosfonatların osteoklastik aktiviteyi baskılamasının yanı sıra osteoblastik aktiviteyi artırdığı daha önce belirtilmiştir. Çalışmamızın da amacı üçüncü nesil ve daha güçlü bir bifosfonat olan ZA'nın ratlarda ekspansion sonrasında sistemik olarak uygulanması neticesinde suturlarda kemik formasyonu üzerine etkilerini histolojik ve radyolojik olarak değerlendirmek ve meydana gelen durumun nüks üzerine etkilerini araştırmaktır.

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamız deneysel, radyolojik ve histolojik olmak üzere üç bölüm altında plandı. Çalışmamızın deneysel kısmı Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma Laboratuvarında, radyolojik kısmı Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyodiyagnostik Anabilim Dalında, histolojik kısmı ise Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalında gerçekleştirildi.

Çalışmada 12 haftalık ağırlıkları 200 ± 10 gram arasında değişen tamamı erkek 36 adet wistar ratı kullanıldı. Çalışmada kullanılan denekler veteriner hekim tarafından kontrol edildi ve genel sağlık durumlarının normal olduğuna dair onay alındı.

Sutural genişletme sonrası 14 gün ve 7 gün retansiyonda tutulan gruplar ile yedi gün retansiyonda tutulan ve etken madde (ZA) verilen çalışma grubu arasındaki farklılıkları incelemek ve ZA'nın retansiyon ve relaps açısından oluşturduğu etkileri araştırmak amacı ile her bir grupta 12 hayvan olacak şekilde denekler rastgele seçilerek üç gruba ayrıldı.

Grup 1: 14 gün retansiyonda tutulan kontrol grubu. (n=12)

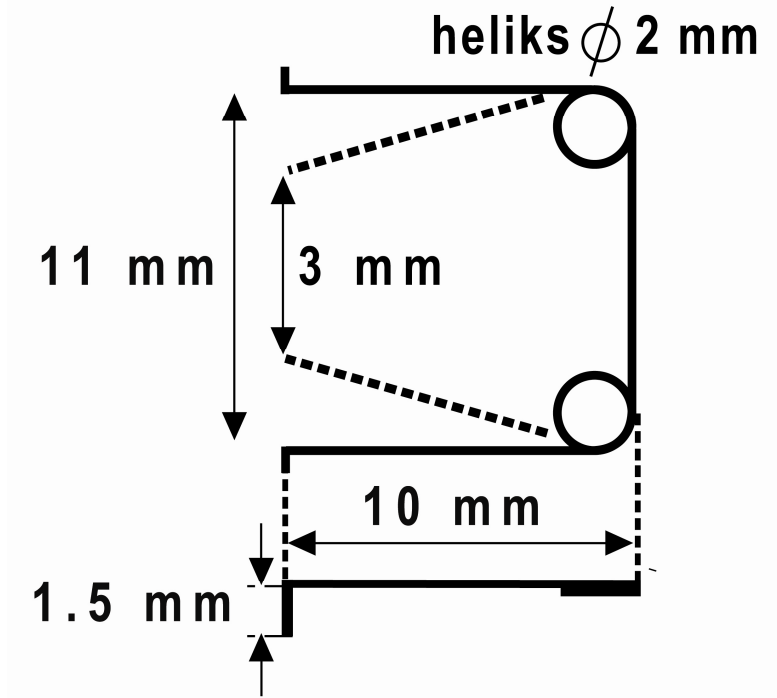
Grup 2: 7 gün retansiyonda tutulan kontrol grubu. (n=12)

Grup 3: 7 gün retansiyonda tutulan çalışma grubu. (n=12)

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinin etik kurulu tarafından 05.10.2006 tarih ve 83 sayılı karar ile onaylandı.

3.1 Ekspansiyon Aygıtı

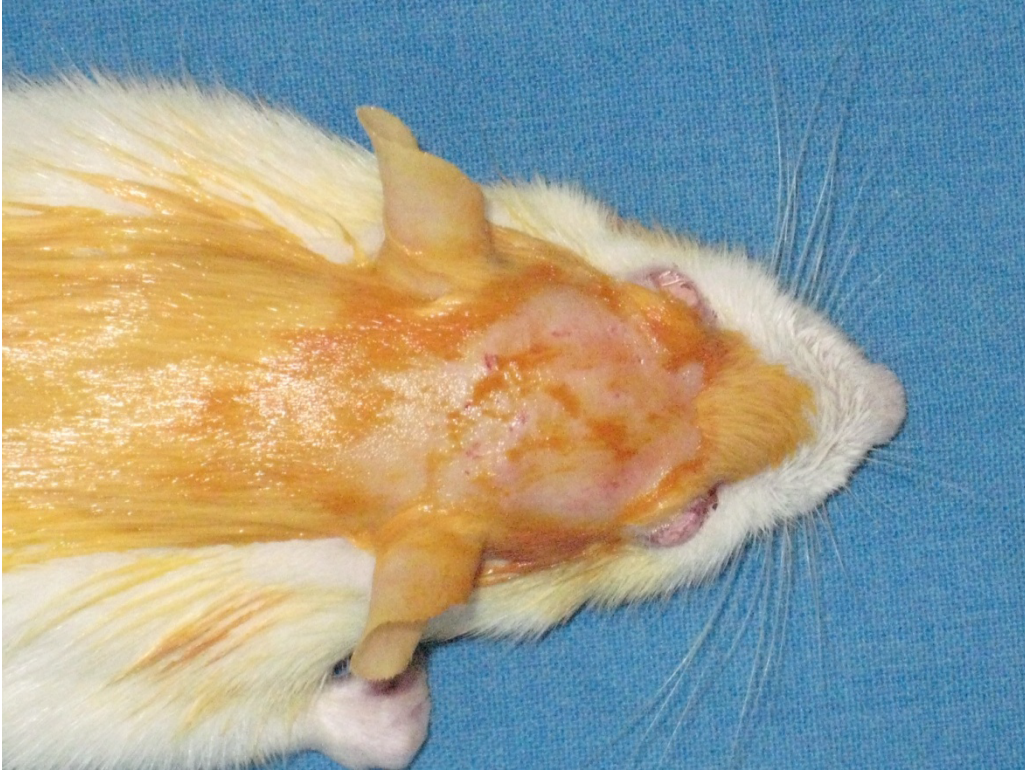
Çalışmada ekspansiyon apareyi olarak 0,5 mm' lik paslanmaz çelik telden (dentaurum) bükülmüş çift heliksli bir zemberek kullanılmıştır. Ekspansiyon zembereğinin kolları arası genişlik 11 mm apareyin kollarının uzunluğu 10mm ve köşelerde bulunan helikslerin çapı 2mm dir. Zembereğin kollarının uç kısmı sagittal kemik üzerinde açılan deliklere girmesi için helikslere 90° olacak şekilde ve 1,5mm uzunluğunda büküldü (Şekil 3).



Şekil 3. Çalışmada kullanılan ekspansiyon zembereği

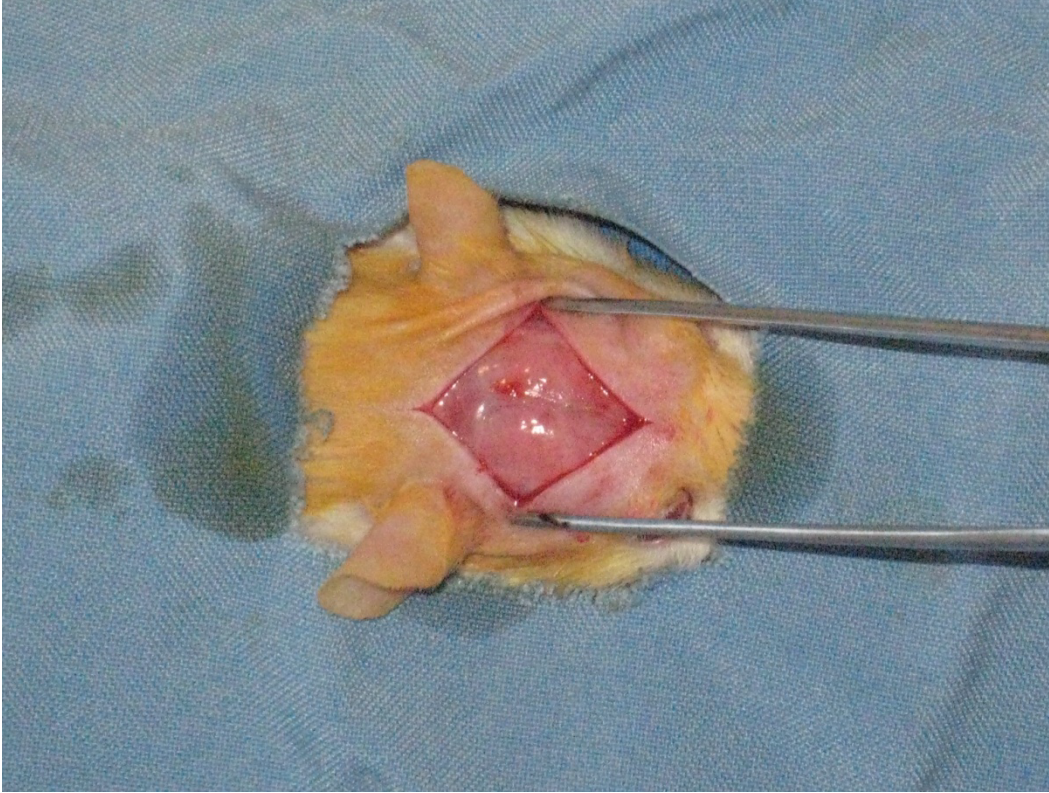
3.2 Cerrahi Yöntem

Deneklerin tümüne anestezi için intramuskuler yolla Ketamin hidroklorür (Ketalar-Eczacıbaşı, Türkiye) 90 mg/kg ve Xylazine (Rompun-Bayer, Almanya) 3 mg/kg enjeksiyonu yapıldı. Anestezi sonrası deneklerin kafalarının üst tarafındaki tüyleri traş edilerek asepsi ve antisepsi kurallarına dikkat etmek kaydıyla, operasyon sahası povidon-iod (Batticon-Adeka, Türkiye) ile temizlendikten sonra (Resim 1) steril örtüler ile operasyon sahası açıkta kalacak şekilde örtüldü.

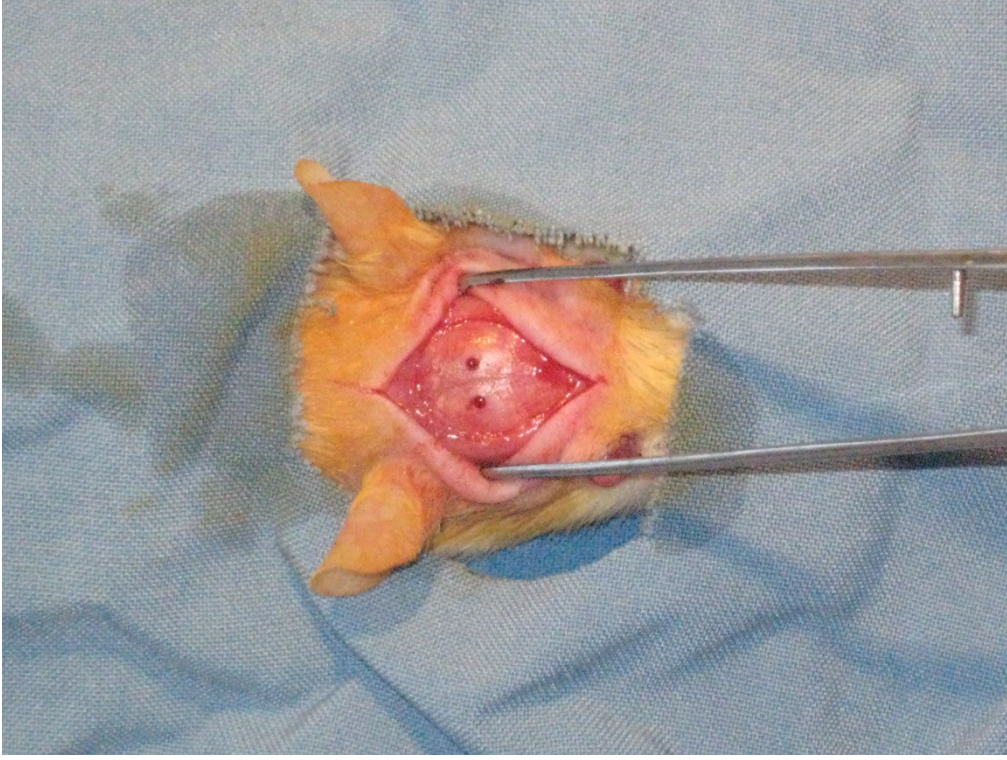


Resim 1: Çalışma bölgesinin operasyon öncesi traş edilip dezenfekte edildikten sonraki görüntüsü

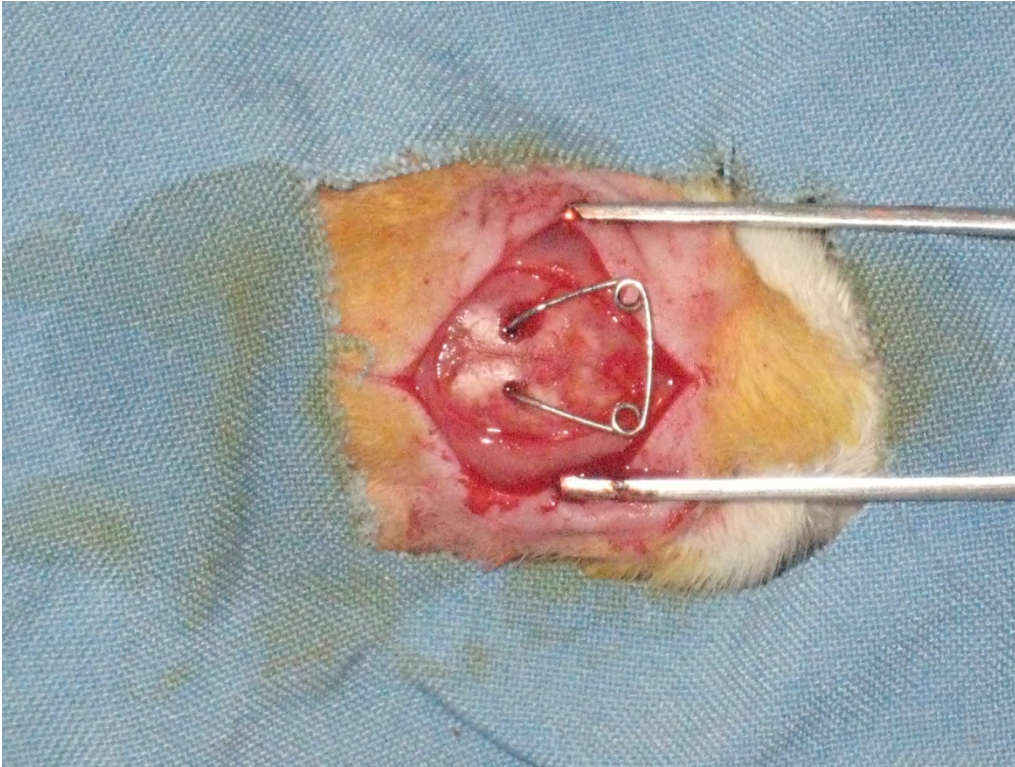
Kafatasını kaplayan deri antero-posterior yönde 1,5– 2 cm uzunluğunda sagittal sutur açığa çıkarılacak şekilde insize edildi (Resim 2). Periost eleve edildikten sonra parietal kemiğin üzerine sagittal suturunun her iki tarafına kumpas yardımı ile aralarındaki mesafe 3mm olacak şekilde 2 nokta işaretlendi. Bu işaretli bölgelere serum fizyolojik soğutması altında fizyodispensır aracılığı ile 2 delik açıldı (Resim 3). Hazırlanan ekspansiyon zembereği karşılıklı gelen bu 2 deliğe yerleştirildi (Resim 4). Son olarak kafa derisi 4–0 kat-güt (Doğsan, İstanbul, Türkiye) ile suture edildi (Resim 5).



Resim 2: İlk insizyon sonrası görüntü



Resim 3: Sagittal suturun her iki yanında açılan deliklerin görüntüsü



Resim 4: Açılan deliklere ekspansiyon apareyinin yerleştirilmesi



Resim 5: Operasyon bölgesinin primer olarak suture edilmesinden sonraki görüntüsü

3.3 Operasyon Sonrası Bakım ve Latent Dönem

Tüm denekler operasyondan sonra her biri ayrı ayrı kafeslere alınarak veteriner hekim gözetimi altında tutuldu. Post operatif dönemde deneklere analjezik olarak Carprofen 4 mg/kg (Rimadyl, Pfizer, New York, Illinois, ABD) subkutan ve antibakteriyel olarak Ceftriaxon 25 mg/kg (Rocephin, Roche, Basel, İsviçre) intramüsküler yolla 5 gün boyunca uygulandı.

Bu süre içerisinde yara bölgesinin cilt antiseptiği ile günlük olarak pansumanı yapıldı. Kemirici olan deney hayvanları operasyon sonrası dönemde rat yemi ve yeteri kadar su ile beslendi. Kemik oluşumunu herhangi bir şekilde etkilememek amacıyla hayvanlara ilave bir vitamin verilmedi.

3.4 Aktivasyon, Retansiyon ve Relaps Dönemi

1. Grupta bulunan 12 denek 7 günlük ekspansiyon dönemi sonrasında operasyon bölgesi genel anestezi şartlarında yukarda bahsedilen cerrahi prosedüre uygun olarak tekrar açıldı. Daha önce yerleştirilen genişletme zembereği çıkarılarak yerine 0,5 mm'lik çelik telden hazırlanan retansiyon teli yerleştirildi.(Resim 6,7) Tek doz serum fizyolojik (5mg/kg) subkutan olarak verildi. 14 günlük retansiyon periyodundan sonra 6 denek histolojik inceleme amacı ile 200mg/kg sodyum pentobarbital (Petothal, Abbot, ABD) ile sakrifiye edildi. Geriye kalan 6 denek ise retansiyon telleri çıkarılarak 7 günlük relaps döneminde tutuldu ve daha sonra aynı yöntemle sakrifiye edildi.

2. Grupta bulunan 12 denek 7 günlük ekspansiyon dönemi sonrasında operasyon bölgesi genel anestezi şartlarında yukarda bahsedilen cerrahi prosedüre uygun olarak tekrar açıldı. Daha önce yerleştirilen genişletme zembereği çıkarılarak yerine 0,5 mm'lik çelik telden hazırlanan retansiyon teli yerleştirildi. Tek doz serum fizyolojik (5mg/kg) subkutan olarak verildi. 7 günlük retansiyon periyodundan sonra 6 denek histolojik inceleme amacı ile 200mg/kg sodyum pentobarbital (Petothal, Abbot, ABD) ile sakrifiye edildi. Geriye kalan 6 denek ise retansiyon telleri çıkarılarak 7 günlük relaps döneminde tutuldu ve daha sonra aynı yöntemle sakrifiye edildi.

3. Grupta bulunan 12 denek 7 günlük ekspansiyon dönemi sonrasında operasyon bölgesi genel anestezi şartlarında yukarda bahsedilen cerrahi prosedüre uygun olarak tekrar açıldı. Daha önce yerleştirilen genişletme zembereği çıkarılarak yerine 0,5 mm'lik çelik telden hazırlanan retansiyon teli yerleştirildi. Tek doz (0.1mg/kg) ZA (Zometa, Novartis)(Resim 8) 5mg/kg serum fizyolojik içerisinde dilüe edildikten sonra subkutan olarak verildi. 7 günlük retansiyon periyodundan sonra 6 denek histolojik

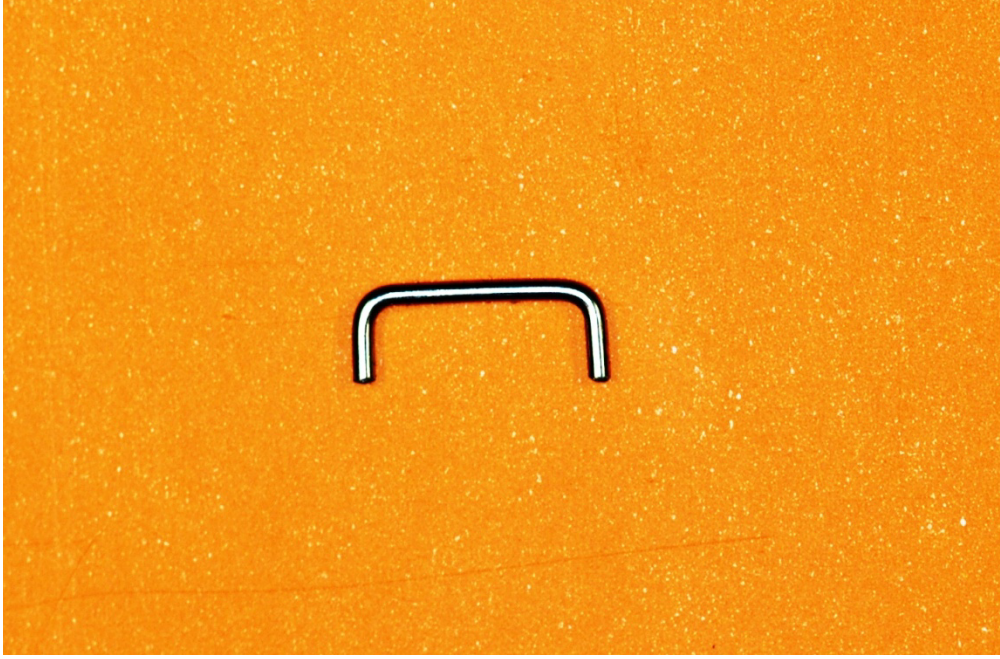
inceleme amacı ile 200mg/kg sodyum pentobarbital (Petotal, Abbot, ABD) ile sakrifiye edildi. Geriye kalan 6 denek ise retansiyon telleri çıkarılarak 7 günlük relaps döneminde tutuldu ve daha sonra aynı yöntemle sakrifiye edildi.

Her 3 grupta uygulanan ekspansiyon, retansiyon ve relaps süreleri Tablo I de gösterilmiştir.

Denekler sakrifiye edildikten sonra operasyon sahalarını içeren kafatasları çıkarıldı. Örnekler % 10'luk tamponlanmış formalinde korundu.

Gruplar	n	Ekspansiyon periyodu (gün)	Retansiyon periyodu (gün)	Relaps periyodu (gün)
Grup 1	6	7	14	-
	6	7	14	7
Grup 2	6	7	7	-
	6	7	7	7
Grup 3 (ZA)	6	7	7	-
	6	7	7	7

Tablo I: Gruplara ait ekspansiyon,retansiyon ve relaps süreleri



Resim 6: Çalışmada kullanılan retansiyon teli



Resim 7: Genişleme sonrasında retansiyon telinin uyumlanması



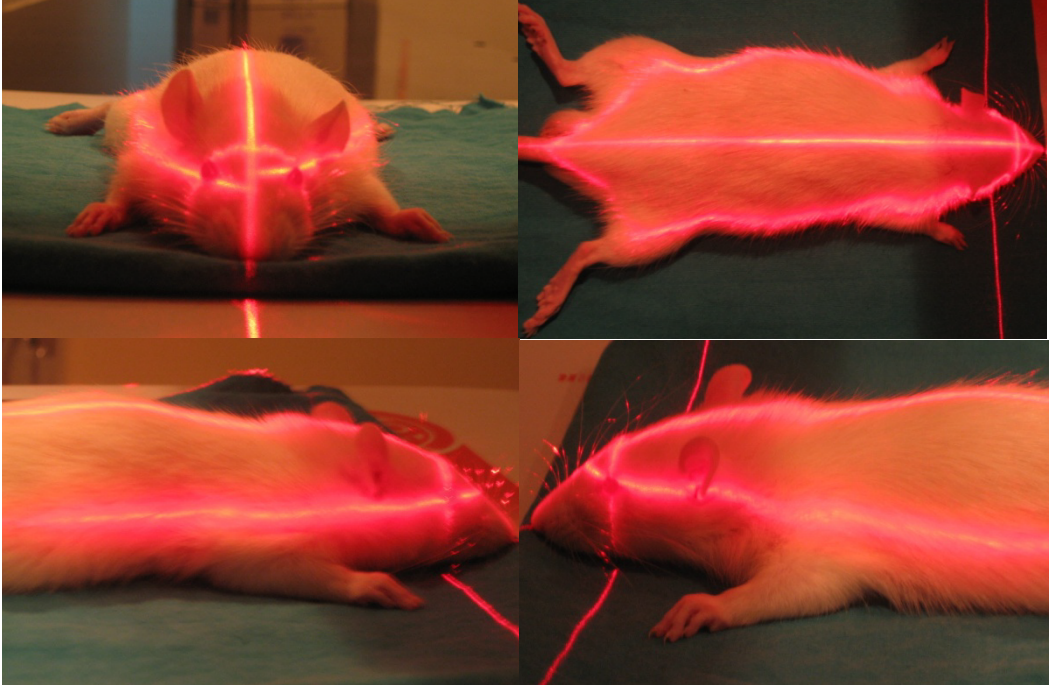
Resim 8: Çalışmada kullanılan Zoledronik Asit

3.5 Örneklerin İncelenmesi

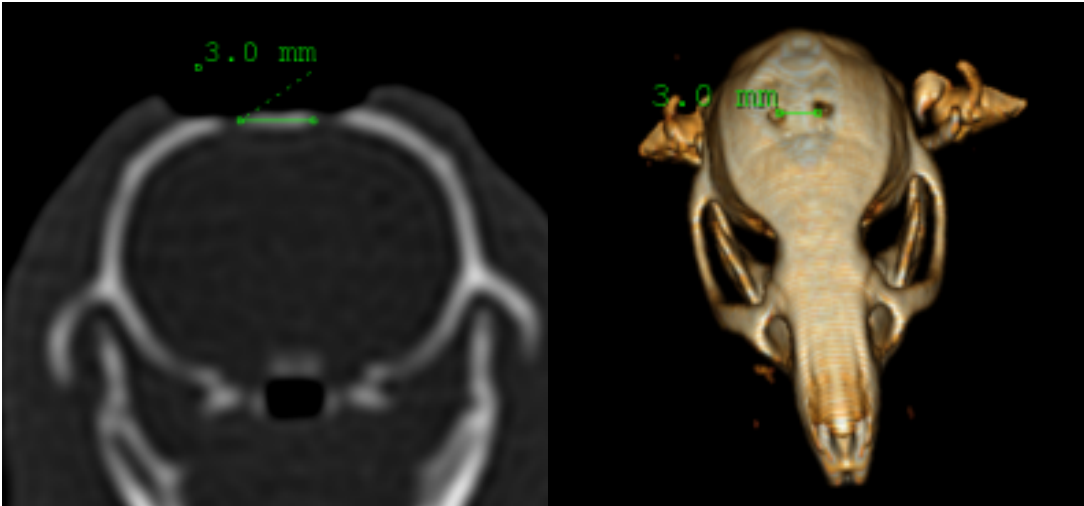
3.5.1 Radyolojik değerlendirme

Çalışmadaki sutural ekspansiyon, retansiyon ve relaps miktarlarının değerlendirilmesi için C.Ü. Tıp Fakültesi Radyodiagnostik Anabilim Dalında bilgisayarlı tomografi (BT) ile görüntüler elde edildi. Ekspansiyon zembereğinin yerleştirilmesinden önce her gruptaki deneklerden (T1, n=12), ekspansiyon sonrası (T2, n=12), retansiyon sonrası (T3, n=12) ve relaps için beklenen süre sonrasında (T4, n=6) alınan BT görüntüleri ile sagittal suturlar üzerinde açılan delikler arası mesafeler belirlendi.

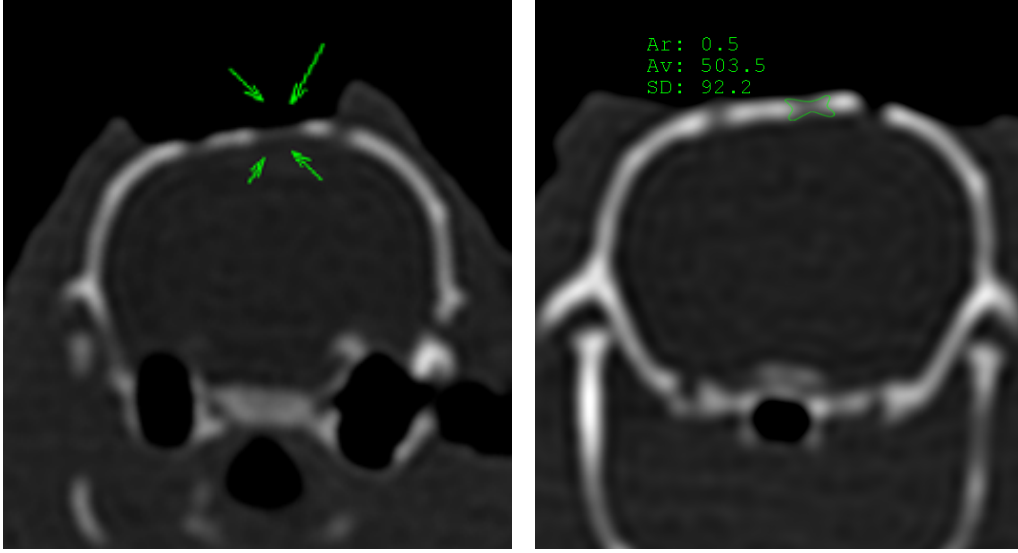
BT cihazında (Philips Brilliance CT Systems, Eindhoven, Netherland) hayvanlar standart pozisyonda (Resim 9) gantriye yerleştirildikten sonra, pilot görüntüler alındı. Bu pilot görüntüler üzerinde ekspansiyon bölgesinde 1 mm kalınlığında, aralıksız aksiyel kesitler alındı. Bu kesitler daha sonra MX View Workstation programına aktarıldı. Elde edilen görüntülerde delikler arası mesafe (Resim 10) ve sutur bölgesinde retansiyon dönemi sonrasında (T3) oluşan yeni kemiğin yoğunluğu hesaplandı (Resim 11).



Resim 9: Tomografi görüntüleri alınırken deneklerin gentriye standart pozisyonda yerleştirilmesi



Resim 10: Tomografi kesitlerinden ölçümlerin belirlenmesi



Resim 11: Tomografi kesitlerinden yeni oluşan kemik yoğunluğunun belirlenmesi

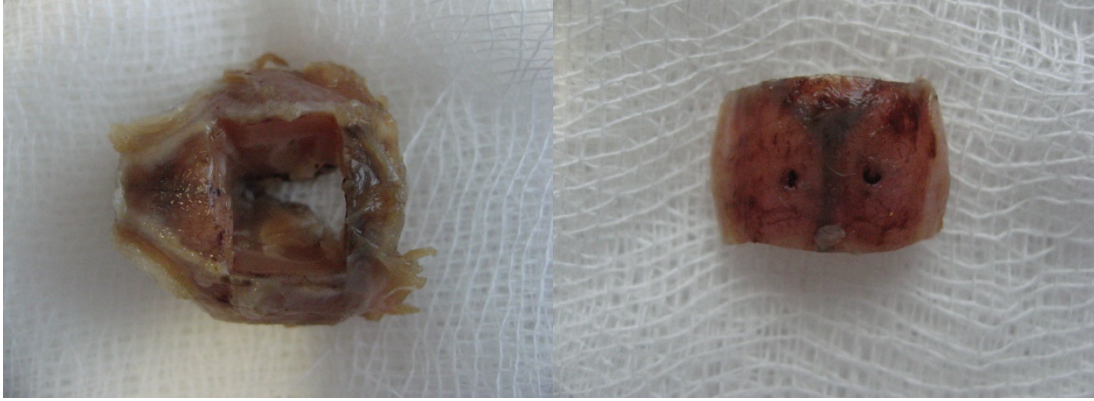
3.5.2 Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Gruplardan elde edilen kranium örnekleri % 10'luk formalin içinde 24 saat tespit edildi. Örnekler EDTA (ethylenediaminotetra-asetik asit) solüsyonu içerisinde (100ml 0.1 M fosfat tamponda çözünmüş pH: 7.1) 2 günde bir değiştirilerek, +4°C 'de 3 hafta süreyle, kontrol edilerek dekalsifiye edildiler (Resim 12).

Parafine gömülecek çalışma bölgeleri dekalsifiye edilmiş kranium örneklerinden bistüri vasıtası ile dikkatli bir şekilde çıkarıldı (Resim 13).



Resim 12. Kranium örneğinin dekalsifikasyon sonrası görüntüsü



Resim 13: Parafine gömülecek çalışma bölgesinin kraniumdan çıkarılması

Distile su ile yıkanan örnekler, derecesi giderek artan alkol serileri ile dehidratasyonu takiben, ksilen ile şeffaflaştırma işlemi uygulanarak parafine gömüldü. Takip protokolü Tablo II' de gösterilmiştir.

Bloklardan alınan 5 µm kalınlıktaki kesitler histolojik değerlendirme için, 1 gece 60° etüvde ve ksilende deparafinize edildikten sonra, rehidratasyon işlemi uygulanarak hematoksilin-Eozin (HE) (Surgipath, 01562E, 01602E, Peterborough, UK) ile boyandı. Uygulanan HE boyama protokolü Tablo III' de gösterilmiştir.

Aynı dokulardan yapılan ek kesitler avidin-biyotin peroksidaz yöntemi ile indirek immunohistokimyasal boyama için hazırlandı. İmmunohistokimyasal yöntemle boyanacak preparatlar 60°C' lik etüvde 1 gece bekletilip, 1 saat ksilende bırakıldıktan sonra deparafinizasyon işlemi tamamlandı. Kesitler derecesi giderek azalan alkol serilerinden geçirilerek distile su aşamasına getirildi. İndirek immunohistokimyasal boyama protokolü Tablo IV' de gösterilmiştir. Kesitler önce dako pen ile çevrelenerek havuzcuklar oluşturuldu ve tripsinize edilerek PBS (Fosfat tampon solüsyonu) ile yıkanan dokulara, dokuda bulunan peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için % 3'lük hidrojen peroksidaz uygulandı. PBS ile yıkanan kesitler 1 saat "non-immun blocking" solüsyonunda tutulduktan sonra anti-osteonectin, anti-osteocalcin, anti-VEGF ve anti-TGF-β primer antikoları ile (1/100 dilüsyonlarında) 18 saat + 4°C'de nemli ortamda inkübe edildi. Sekonder kit olarak avidin-biotin-peroksidaz sistemi kullanıldı (Zymed). PBS ile yıkanan kesitler biotinle işaretlenmiş hidrojen peroksidaz sekonder antikoru ile 30 dakika inkübe edildi. PBS ile yıkanan kesitlere 30 dakika streptavidin uygulandı. İmmunoreaktivitenin görünür hale gelebilmesi için DAB (di amino benzidine) uygulanan kesitler, Mayer's hematoksilin ile artalan boyaması yapılarak kapatma mediumu ile kapatıldı. İmmunohistokimya çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler Tablo V'de belirtilmiştir.

İmmunoreaktivitelerin spesifik olup olmadığını test etmek amacı ile birer kesit kontrol boyaması için ayrıldı ve primer antikor ile aynı olan IgG, primer antikor uygulanmadan boyama gerçekleştirildi.

Histokimyasal ve immunohistokimyasal yöntemlerle boyanan kesitler, Olympus BX40 marka ışık mikroskobu altında X40 objektif ile incelenmiştir.

X 40'lık büyütme alanında:

Aktif osteoblast sayısı: 1-10:+, 11-20: ++, >20:+++

Damar genişliği: Dar: +, orta genişikte: ++, geniş: +++

olarak skorlandı.

İmmunohistokimya boyanma şiddetleri yarı-kantitatif olarak değerlendirilerek boyanma şiddeti : + (minimal), ++ (orta) veya +++ (şiddetli) olarak belirlendi.

Tablo II: Parafin takip protolü

İşlem	Kullanılan Madde	Süre
TESPİT	% 10 FORMALİN	24 SAAT
DEKALSİFİKASYON	EDTA 0.1 M	3 HAFTA
DEHİDRATASYON	% 50 ALKOL	½ SAAT
	% 60 ALKOL	½ SAAT
	% 70 ALKOL	½ SAAT
	% 80 ALKOL	½ SAAT
	% 95 ALKOL	1 SAAT
	% 95 ALKOL	1 SAAT
ŞEFFAFLAŞTIRMA	ALKOL: KSİLEN	½ SAAT
	KSİLEN	1 SAAT
	KSİLEN	1 SAAT
İNFİLTASYON	KSİLEN-PARAFİN	½ SAAT
	PARAFİN	1 SAAT
	PARAFİN	1 SAAT
GÖMME	PARAFİN	

Tablo III: Hematoksilen-eozin boyama protokolü

İŞLEM	MADDE	SÜRE
DEPARAFİNİZASYON	60 °C etüvde	1 GECE
DEPARAFİNİZASYON	KSİLEN	1 SAAT
REHİDRATASYON	% 95 ALKOL	2 DAKİKA
	% 80 ALKOL	2 DAKİKA
	% 70 ALKOL	2 DAKİKA
	% 60 ALKOL	2 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
BOYAMA	HEMATOKSİLEN	3 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
DİFERANSİYASYON	ASİT-ALKOL	1 SANİYE
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
BOYAMA	EOZİN	2 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
	% 80 ALKOL	1 DAKİKA
	% 95 ALKOL	1 DAKİKA
	KSİLEN	1 SAAT
KAPAMA	ENTEMLAN	

Tablo IV: İndirek- immunoperoksidaz yöntemle immunohistokimya boyama protokolü

İŞLEM	MADDE	SÜRE
DEPARAFİNİZASYON	60 ° C etüvde	1 GECE
DEPARAFİNİZASYON	KSİLEN	1 SAAT
REHİDRATASYON	% 95 ALKOL	2 DAKİKA
	% 80 ALKOL	2 DAKİKA
	% 70 ALKOL	2 DAKİKA
	% 60 ALKOL	2 DAKİKA
YIKAMA	DİSTİLE SU	10 DAKİKA
	FOSFAT TAMPON SOLÜSYONU (PBS)	10 DAKİKA
HAVUZCUK OLUŞTURMA	DAKO PEN	
	TRİPSİN	10 DAKİKA
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
PEROKSİDAZ BLOK	% 3 HİDROJEN PEROKSİT	5 DAKİKA
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
BLOCKING	ULTRA V BLOK	1 SAAT
PRİMER ANTİKORLAR	Anti osteonectin, anti-osteocalcin, anti-VEGF, anti TGF-β	18 SAAT +4°C nemli
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
SEKONDER ANTİKOR	BIOTINLE İŞARETLİ SEKONDER ANTİKOR	30 DAKİKA
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
	STREPTAVİDİN	30 DAKİKA
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
BOYAMA	DAB (diamino benzidine)	10 DAKİKA
YIKAMA	DİSTİLE SU	3×5 DAKİKA
ARTALAN BOYAMA	MAYER'S HEMATOKSİLEN	3 DAKİKA
YIKAMA	DİSTİLE SU	10 DAKİKA
KAPAMA	KAPATMA MEDYUMU	
FOTOĞRAF	OLYMPUS MARKA IŞIK MİKROSKOBU	

Tablo V: İmmunohistokimyada kullanılan malzemeler

MALZEME	FİRMA	KAT. NO	ÜLKE
Dako pen	Dako	S 2002	Glostrup/Denmark
Tripsin	Zymed	00-3008	Ca/USA
Hidrojen peroksidaz	Dako	TA-015-HP	Glostrup/Denmark
Ultra V block	Labvision,	TA-125-UB	USA
Monoklonal mouse anti- osteonectin	Zymed	33-5500	Ca/USA
Monoklonal mouse anti-osteocalcin	Zymed	33- 5400	Ca/USA
Monoklonal mouse anti- VEGF	Santa Cruz	SC-7269	Ca/USA
Poliklonal rabbit anti-TGF- β	Santa Cruz,	SC-146	Ca/USA
Biotinle işaretlenmiş sekonder antikoru	Zymed	85-9043	Ca/USA
Streptavidin	Zymed	85-9043	Ca/USA
DAB-diaminobenzidine	Dako		Glostrup/Denmark
Mayer's hematoksilen	Richard-Allan Scientific		Ca/USA
UltraMount	Labvision	Ta-060-UM	Ca/USA

3.6. İstatistiksel Yöntem

36 denek üzerinde farklı ölçüm zamanlarında elde edilen mesafe, yoğunluk, relaps ve histolojik verileri SPSS (Ver:13.0) programına yüklenerek istatistiksel analiz yapılmıştır.

Radyolojik olarak mesafelerin ölçüldüğü verilerin (T1, T2, T3) değerlendirilmesinde retansiyon dönemi sonuna kadar elde edilen veriler gruplar arası farklılık için Kruskal-Wallis testi, her bir gruptaki değişik periyotlarda oluşan farklılığın değerlendirilmesi için Friedman testi kullanılmıştır. Anlamlı bulunan sonuçlarda farklılık gösteren ölçüm zamanlarının belirlenmesi için grupların ikişerli olarak karşılaştırılmasında Wilcoxon testi uygulanmıştır.

Deneklerde retansiyon dönemi sonrasında (T3) oluşan kemik yoğunluk miktarlarının karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi ve anlamlı bulunan sonuçlarda grupların ikişerli olarak karşılaştırılmasında Man-Whitney U testi uygulanmıştır.

Deneklerde retansiyon dönemi sonrası (T3-T4) oluşan relaps miktarlarının değerlendirilmesinde ve histolojik olarak elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi ve anlamlı olan grupları bulmak amacı ile Man-Whitney U testi uygulanmıştır.

Verilerimiz tablolarda radyolojik değerlendirme için aritmetik ortalama \pm standart sapma, histolojik değerlendirmede aritmetik ortalama \pm standart sapma ve ortanca değer şeklinde belirtilip yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Klinik bulgular

Yapılan klinik değerlendirme sonrasında deneklerin ekspansiyon uygulamasını genel olarak iyi tolere ettiği görüldü. Kullanılan ekspansiyon zembereğinin başarılı olduğu tespit edildi. Operasyon sonrasında düzenli olarak yapılan ağırlık ölçümlerinde deneklerde operasyon sonrasında kilo azalması gözlemlensede daha sonra deneklerin normal kilo alımına devam ettiği ve sağlık durumlarının normal olduğu gözlemlendi. Genel anestezi sonrası uygulanan cerrahi işlemlerin ardından 4 denek kaybedildi. Klinik olarak deneklerin iki tanesinde enfeksiyona rastlandı. Enfeksiyon oluşan ve kaybedilen bu denekler çalışmadan çıkartıldı. Her grupta 6 olmak üzere 36 ratı tamamlamak için toplam 42 rat kullanıldı.

4.2 Radyolojik Bulgular

4.2.1 Ekspansiyon miktarı ve retansiyonun değerlendirilmesi

4.2.1.1 Grup içi değerlendirme

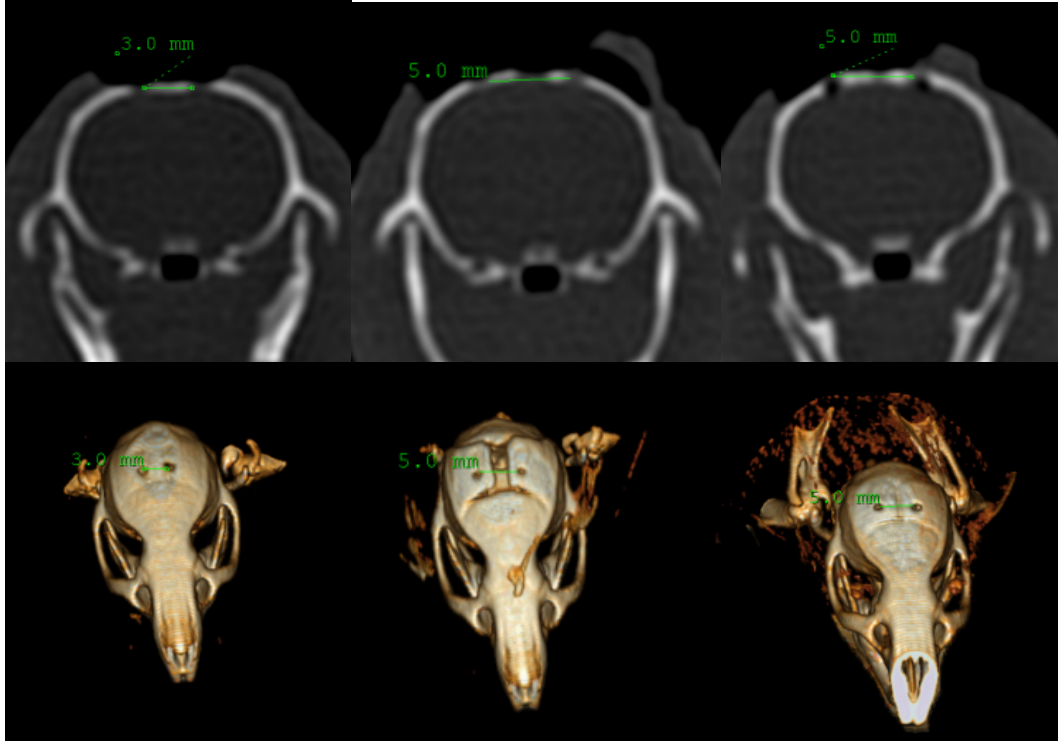
Bütün gruplarda grup içinde değişik zamanlarda (T1,T2,T3) ölçülen mesafeler karşılaştırıldığında ölçümler arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Ölçümler ikişerli olarak karşılaştırıldığında T1-T2, T1-T3 periyotlarında mesafe artışları arasındaki farklılık önemli bulunurken, ($p<0.05$) T2-T3 arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Gruplara ait ortalamalar ve standart sapmaları tablo VI'da, bir denekten T1-T2-T3 periyotlarında elde edilen tomografi görüntüleri resim 14'de gösterilmiştir.

4.2.1.2 Gruplararası değerlendirme

Alınan BT kesitlerinin Worksitationa aktarılmasının ardından elde edilen verilere göre apareyin yerleştirilmesi için açılan delikler arası mesafenin gruplar arasında farklılık göstermediği, rapid ekspansiyon sonucunda elde edilen genişleme miktarları arasında gruplar arası farklılığın olmadığı ve bütün gruplarda elde edilen ekspansiyon miktarının retansiyon periyodunda sabit kaldığı gözlemlendi (Tablo VI).

Tablo VI. Başlangıç, ekspansiyon ve retansiyon periyotları sonrasında gruplara ait ekspansiyon değerleri (mm)

GRUPLAR N=12	T1 X±S (mm)	T2 X±S (mm)	T3 X±S (mm)	SONUÇ
1	3.00±0,14	5.05±0.31	5.03±0.21	X ² =21.80 p=0,000 p<0.05
2	2.96±0,13	5.03±0.30	5.02±0.22	X ² =22.20 p=0.000 p<0.05
3	3.00±0,14	5.10±0.27	5.02±0.20	X ² =22.20 p=0.000 p<0.05
SONUÇ	KW= 0,62 p= 0.731 p>0.05	KW= 0,28 p=0.869 p>0.05	KW=0.56 p=0.756 p>0.05	



T1

T2

T3

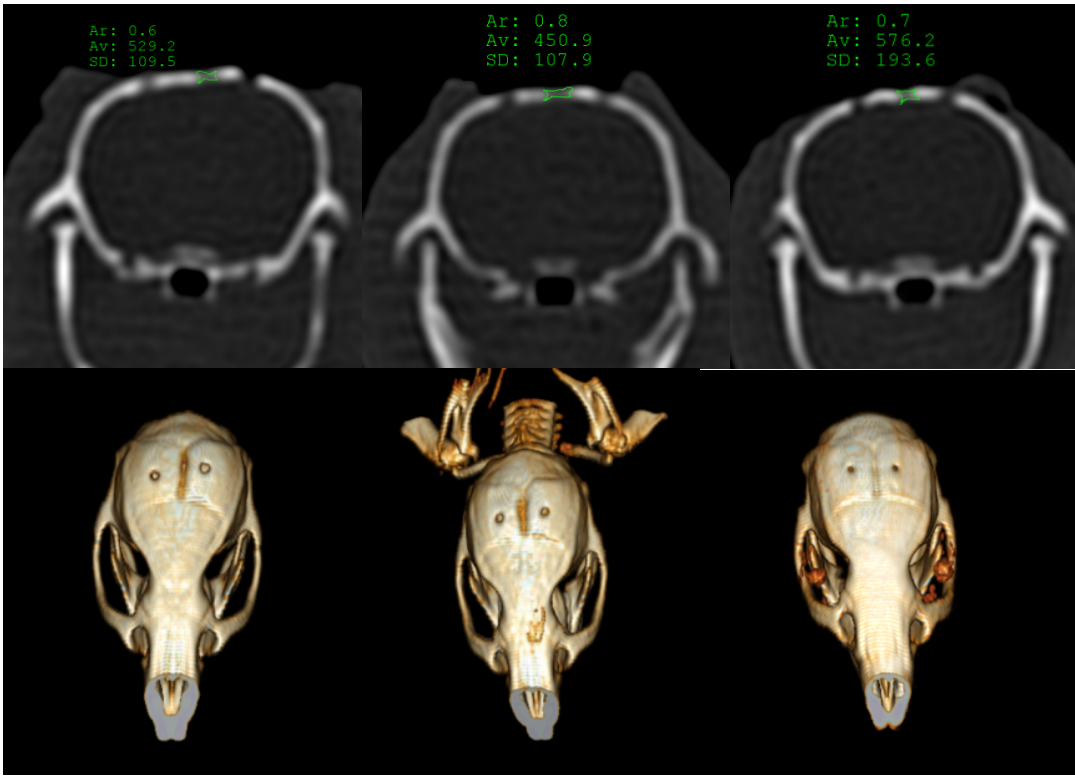
Resim 14: T1-T2-T3 periyotlarında elde edilen görüntüler

4.2.2 Ekspansiyon bölgesinde oluşan kemik yoğunluğunun değerlendirilmesi

Retansiyon periyodu sonrasında alınan BT kesitlerinde belirlenen ekspansiyon bölgesinde oluşan kemiğin yoğunluk miktarı Grup 1’de 536 ± 22.06 hounsfield unit, Grup 2’de 456.42 ± 17.25 hounsfield unit, Grup 3’de 597.42 ± 11.25 hounsfield unit olarak hesaplandı. Gruplara ait yoğunluk değerleri karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait yoğunluk değerleri ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup 1 ile Grup 3, Grup 2 ile Grup 3, Grup 1 ile Grup 3 arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. En fazla yoğunluğun çalışma grubunda olduğu gözlemlendi (Tablo VII). Gruplarda T3 periyodunda elde edilen görüntüler resim 15’de gösterilmiştir.

Tablo VII: Retansiyon periyodu sonrasında gruplara ait yoğunluk değerleri (T3)(Hounsfield unit)

GRUPLAR N=12	GRUP 1 X±S	GRUP 2 X±S	GRUP 3 X±S	
Yoğunluk	536.83±22.06	456.42±17.25	597.42±31.25	KW=31.14 p=0.001 p<0.05



Grup 1

Grup 2

Grup 3

Resim 15: Gruplarda T3 periyodunda elde edilen görüntüler

4.2.3 Relaps miktarının değerlendirilmesi

Gruplara ait relaps yüzdeleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Gruplara ait relaps miktarları ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup1-Grup2, Grup1-Grup3 ve Grup2-Grup3 arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Relaps oranlarına bakıldığında en fazla relapsın 7 gün retansiyonda beklenen 2. Grupta, en az relapsın ise etken madde ZA verilen ve 7 gün retansiyonda beklenen 3. Grupta olduğu gözlemlendi. ZA verilen 3. Grupta 7 gün retansiyon uygulanmasına rağmen 14 gün retansiyonda tutulan 1. Gruptan daha az relaps gözlemlenmiştir (Tablo VIII).

Tablo VIII: Gruplara ait relaps oranlarının karşılaştırılması

GRUPLAR N=6	RELAPS YÜZDELERİ X±S %
1	38.66±5.21
2	43.00±6.67
3	13.33±4.26
	KW=15.25 p=0.006 p<0.05

4.3 Histolojik Bulgular

HE boyaması ile değerlendirilen kesitler, anti- osteonectin, anti-osteocalcin, anti-VEGF ve anti-TGF- β primer antikoları ile indirek immuno-histokimyasal yöntemle boyanıp incelenerek immunoreaktivite dağılımları değerlendirilmiştir. Gruplara ait histolojik değerlendirme sonuçları Tablo IX'de, osteonectin ve osteocalcin immunoreaktiviteleri Tablo X'da ve VEGF ile TGF- β immunoreaktiviteleri Tablo XI'da belirtilmiştir.

Tablo IX: Histolojik değerlendirme

GRUPLAR	OSTEOBLAST	DAMARLANMA
Grup 1 Denek 1	+++	+++
Grup 1 Denek 2	+++	+++
Grup 1 Denek 3	+++	+++
Grup 1 Denek 4	++	++
Grup 1 Denek5	++	++
Grup 1 denek 6	++	++
Grup 2 Denek 1	++	++
Grup 2 Denek 2	++	++
Grup 2 Denek 3	++	++
Grup 2 Denek 4	++	++
Grup 2 Denek 5	++	++
Grup 2 denek 6	++	++
Grup 3 Denek 1	+++	+++
Grup 3 Denek 2	+++	+++
Grup 3 Denek 3	+++	+++
Grup 3 Denek 4	+++	+++
Grup 3 Denek 5	+++	+++
Grup 3 denek 6	+++	+++

X 40'lık büyütme alanında :

Aktif osteoblast: +: 1-10

++: 11-20

+++ : >20

Damar genişliği: +: Dar

++: Orta genişikte

+++ : Geniş

Tablo X. İmmuno-histokimyasal değerlendirme (Osteonektin-Osteokalsin)

GRUPLAR	OSTEONECTIN		OSTEOCALSIN	
	Osteoblast	B. D.	Osteoblast	B. D.
Grup 1 Denek 1	++	++	++	++
Grup 1 Denek 2	++	++/+++	++	++/+++
Grup 1 Denek 3	++	++/+++	++	++/+++
Grup 1 Denek 4	++	++/+++	++	++/+++
Grup 1 Denek 5	++/+++	++	++/+++	++/+++
Grup 1 denek 6	++/+++	++	++/+++	++
Grup 2 Denek 1	+ / ++	+	+ / ++	++
Grup 2 Denek 2	+ / ++	+	+ / ++	++
Grup 2 Denek 3	++	++	+ / ++	++
Grup 2 Denek 4	++	++	+ / ++	+ / ++
Grup 2 Denek 5	++	++	+	+ / ++
Grup 2 denek 5	++	+	+ / ++	++
Grup 3 Denek 1	+++	++	+++	++
Grup 3 Denek 2	+++	++	+++	+ / ++
Grup 3 Denek 3	+++	++	+++	++/+++
Grup 3 Denek 4	+++	++	+++	++
Grup 3 Denek 5	++/+++	++	++/+++	++/+++
Grup 3 denek 6	++/+++	++/+++	++/+++	++/+++

+: minimal immunoreaktivite

++: orta şiddette immunoreaktivite

+++: şiddetli immunoreaktivite

Tablo XI: İmmuno-histokimyasal değerlendirme (VEGF-TGF- β)

GRUPLAR	VEGF		TGF- β	
	osteoblast	B.D.	osteoblast	B.D.
Grup 1 Denek 1	++	++	++	++
Grup 1 Denek 2	++	++	++	++
Grup 1 Denek 3	++	++	++	++
Grup 1 Denek 4	++	++	++	++
Grup 1 Denek 5	++/+++	++/+++	++/+++	++/+++
Grup 1 denek 6	++/+++	++	++/+++	++
Grup 2 Denek 1	++	++	++	++
Grup 2 Denek 2	++	++	++	++
Grup 2 Denek 3	++	++	++	++
Grup 2 Denek 4	++	++	++	++
Grup 2 Denek 5	++	++	++	++
Grup 2 denek 6	++	++	++	++
Grup 3 Denek 1	+++	++	+++	++
Grup 3 Denek 2	+++	++	+++	++
Grup 3 Denek 3	+++	++	+++	++
Grup 3 Denek 4	+++	++	+++	++
Grup 3 Denek 5	+++	++	+++	++
Grup 3 denek 6	+++	++/+++	+++	++/+++

+: minimal immunoreaktivite

++: orta şiddette immunoreaktivite

+++ : şiddetli immunoreaktivite

Tablo XII: Histolojik ve immunohistokimyasal değerler

	Grup 1		Grup 2		Grup 3		SONUÇ
	X±S	ortanca	X±S	ortanca	X±S	ortanca	
Histolojik değerlendirme Osteoblast	2.5±0.54	2.50	2.00±0.00	2.00	3.00±0.00	3.00	KW=11.33 p=0.003 p<0.05
Histolojik değerlendirme Damarlanma	2.5±0.54	2.50	2.00±0.00	2.00	3.00±0.00	3.00	KW=11.33 p=0.003 p<0.05
İmmüno histokimya Osteonectin-osteoblast	2.16±0.25	2.00	1.83±0.25	2.00	2.83±0.26	3.00	KW=12.96 p=0.002 p<0.05
İmmüno histokimya Osteonectin-bağ doku	2.25±0.27	2.25	1.50±0.54	1.50	2.08±0.20	2.00	KW=7.52 p=0.023 p<0.05
İmmüno histokimya Osteocalcin-osteoblast	2.16±0.25	2.00	1.41±0.20	1.50	2.83±0.25	3.00	KW=15.14 p=0.001 p<0.05
İmmüno histokimya Osteocalcin-bağ doku	2.33±0.25	2.50	1.83±0.25	2.00	2.25±0.27	2.25	KW=7.48 p=0.024 p<0.05
İmmüno histokimya VEGF-osteoblast	2.16±0.25	2.00	2.00±0.00	2.00	3.00±0.00	3.00	KW=14.87 p=0.001 p<0.05
İmmüno histokimya VEGF-bağ doku	2.08±0.20	2.00	2.00±0.00	2.00	2.88±0.20	2.00	KW=1.06 p=0.588 p<0.05
İmmüno histokimya TGF_β -osteoblast	2.16±0.25	2.00	2.00±0.00	2.00	3.00±0.00	3.00	KW=14.87 p=0.001 p<0.05
İmmüno histokimya TGF_β -bağ doku	2.08±0.20	2.00	2.00±0.00	2.00	2.88±0.20	2.00	KW=1.06 p=0.588 p>0.05

Tüm gruplara ait HE ve immunohistokimyasal boyalı kesitlerden elde edilen histopatolojik görüntüler Resim 16-25' de gösterilmiştir.

7 gün ekspansiyonu takiben 14 gün retansiyon uygulanan gruptan (Grup 1) elde edilen sagittal sütür örneklerinin boyalı kesitlerinin, ışık mikroskop altında incelenmesinde, sütür boyunca yeni kemik oluşumu gözlenmiş olup, sütür boyunca yerleşmiş artmış aktif osteoblastlar ve genişlemiş kan damarları izlenmiştir (Resim 16).

Bu grupta anti-osteocalcin ve osteonectin primer antikoları ile yapılan indirek immunohistokimyasal boyamaların değerlendirilmesinde osteoblastlarda orta, sütür bağ dokusunda orta/şiddetli immunoreaktivite izlenmiştir. TGF- β ile VEGF immunoreaktiviteleri aktif osteoblastlarda ve sütür bağ dokusunda orta-orta/şiddetli immunoreaktivite saptanmıştır (Resim 17).

7 gün ekspansiyonu takiben 7 gün retansiyon uygulanan gruptan (Grup 2) elde edilen sagittal sütür örneklerinin HE ile boyalı kesitlerinin, ışık mikroskop altında incelenmesinde, aktif osteoblastlar ve orta derecede genişlemiş kan damarları ile yeni oluşan kemik dokusu gözlenmiştir. Osteoblastik aktivitenin henüz başlamış olduğu ve oluşan yeni kemik dokunun Grup 1'e göre daha az olduğu izlenmiştir (Resim 18).

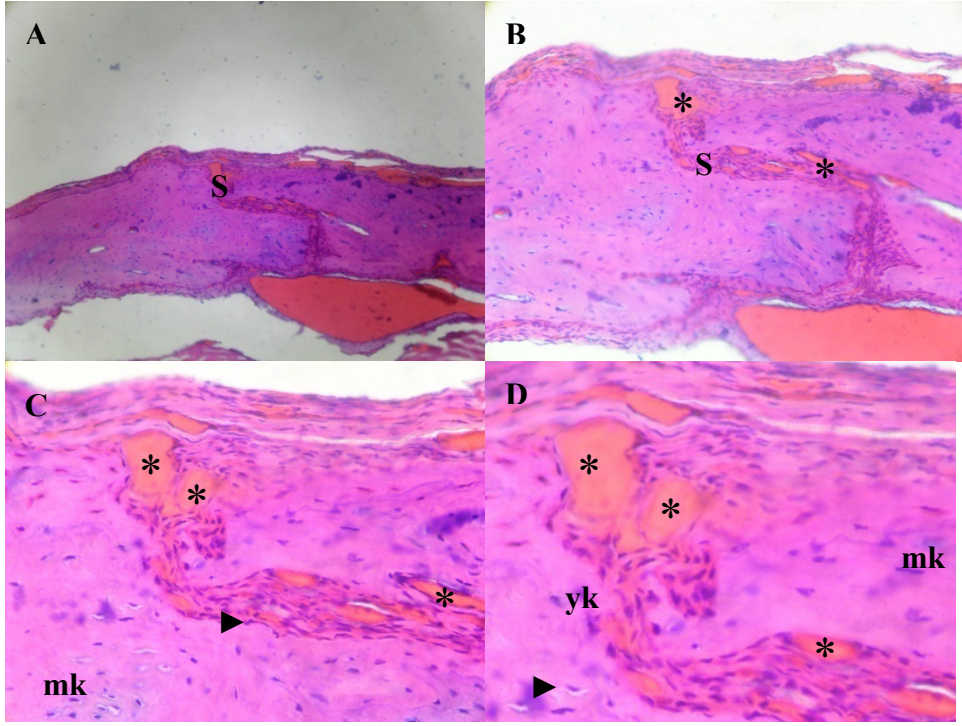
Bu grupta anti osteonectin ve anti-osteocalcin antikoları ile yapılan indirek immuno-histokimyasal boyamaların değerlendirilmesinde osteoblastlarda minimal/orta, sütür bağ dokusunda orta immunoreaktivite izlenmiştir. TGF- β ile VEGF immunoreaktiviteleri aktif osteoblastlarda ve sütür bağ dokusunda orta şiddette olarak değerlendirilmiştir (Resim 19).

7 gün ekspansiyonu takiben ZA uygulandıktan sonra, 7 gün retansiyon uygulanan gruptan (Grup 3) elde edilen sagittal sütür örneklerinin, HE ile boyalı kesitlerinin, ışık

mikroskop altında incelenmesinde, aktif osteoblastların olduğu ve osteoblastik aktivitenin artmış olduğu, kan damarlarının geniş olduğu, gruplar arasında en iyi kemikleşmenin görüldüğü izlenmiştir (Resim 20).

Bu grupta anti-osteonectin ve anti-osteocalcin antikorum ile yapılan indirek immuno-histokimyasal boyamaların değerlendirilmesinde osteoblastlarda artmış şiddetli, sütür bağ dokusunda minimal/orta immunoreaktivite izlenmiştir. TGF- β ile VEGF immunoreaktiviteleri aktif osteoblastlarda ve sütür bağ dokusunda artmış şiddette olarak değerlendirilmiştir (Resim 21).

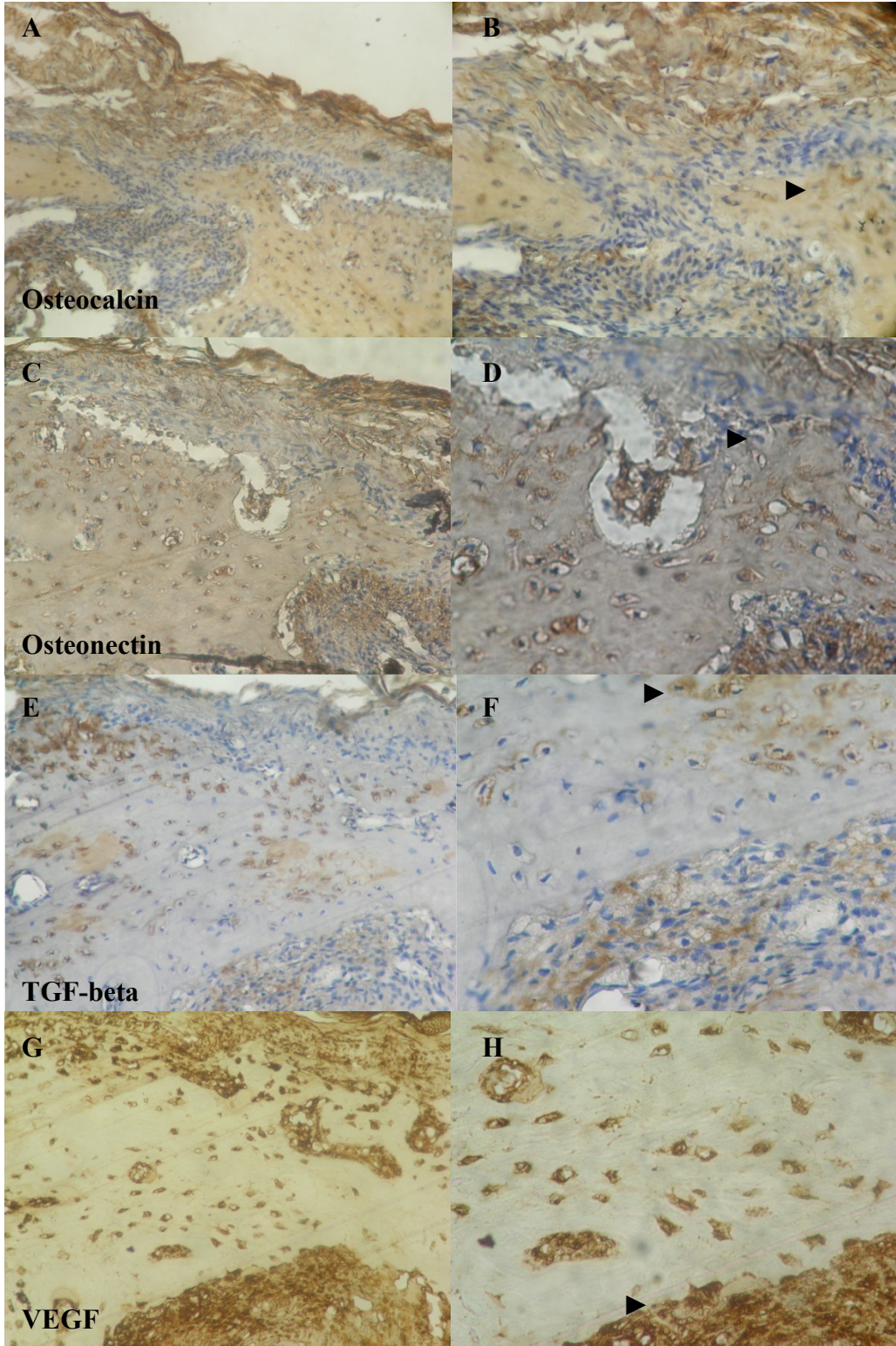
Primer antikorumların, her gruba ait immunohistokimyasal boyanmaları Resim 22 (Anti-Osteocalcin) Resim 23 (Anti-Osteonectin), Resim24 (Anti-TGF- β) ve Resim 25 (Anti-VEGF)'de gösterilmiştir.



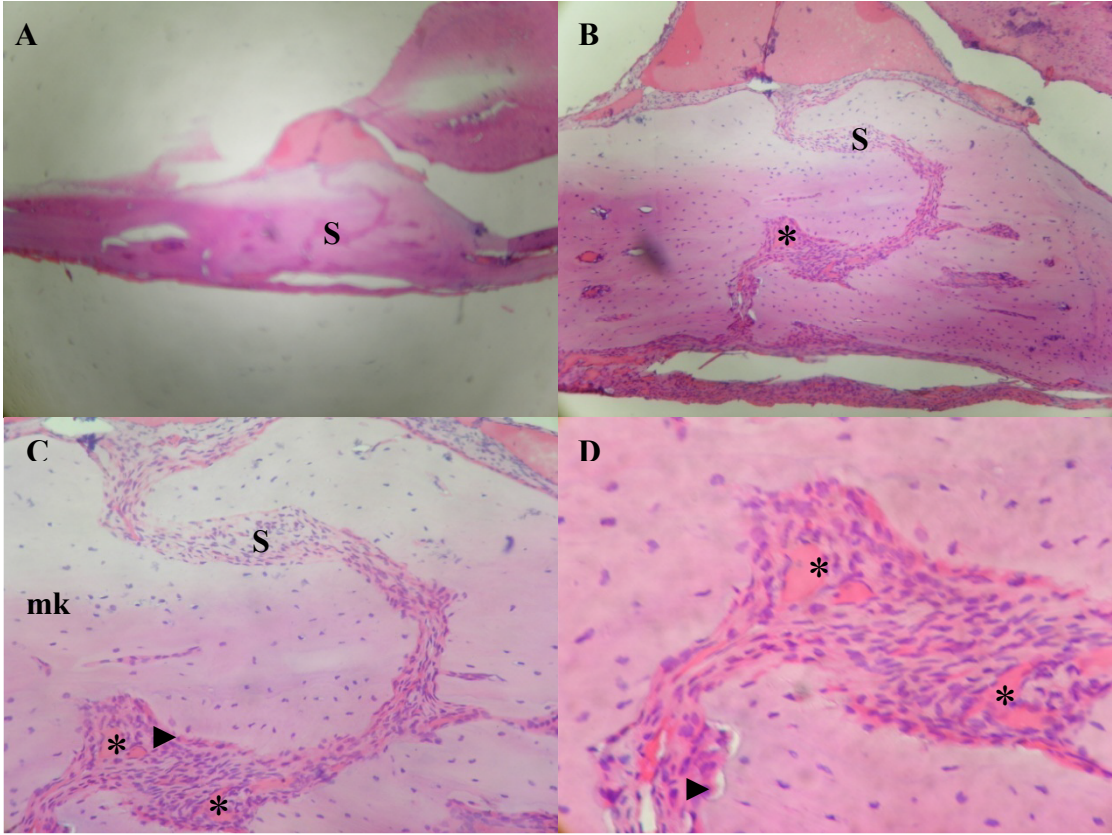
Resim 16. 2 hafta retansiyon uygulanan gruptan (Grup 1) elde edilen sagital suture örneklerinin mikrografları. Aktif osteoblastlar ve genişlemiş kan damarları izlenmektedir.

▶ : osteoblastlar, * : kan damarları, S: suture, yk: yeni oluşan kemik dokusu, mk: matur kemik

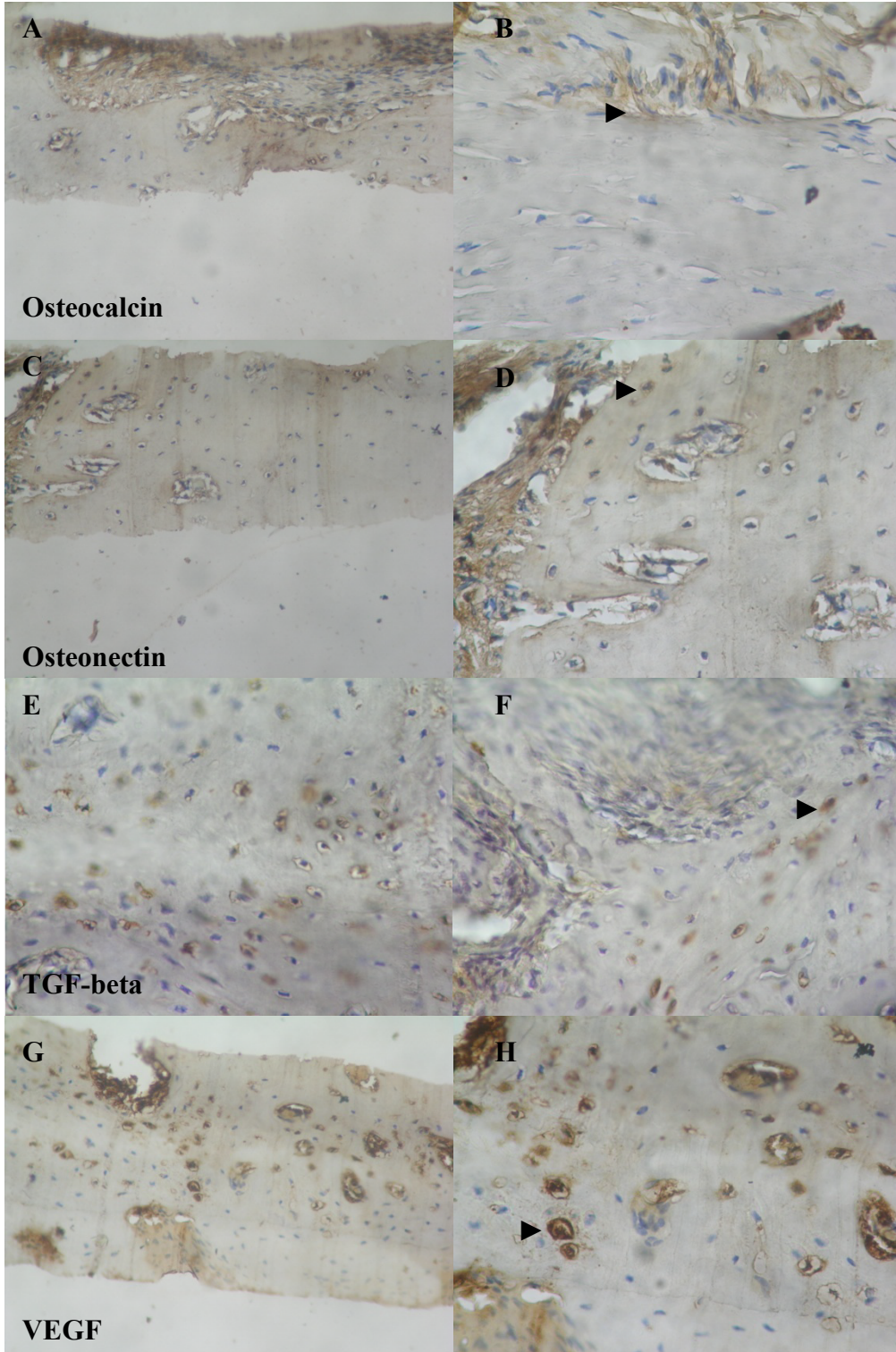
Boya: H.E. A: X 40, B: X 100, C: X 200, D: X 400 (Orijinal büyütmeler)



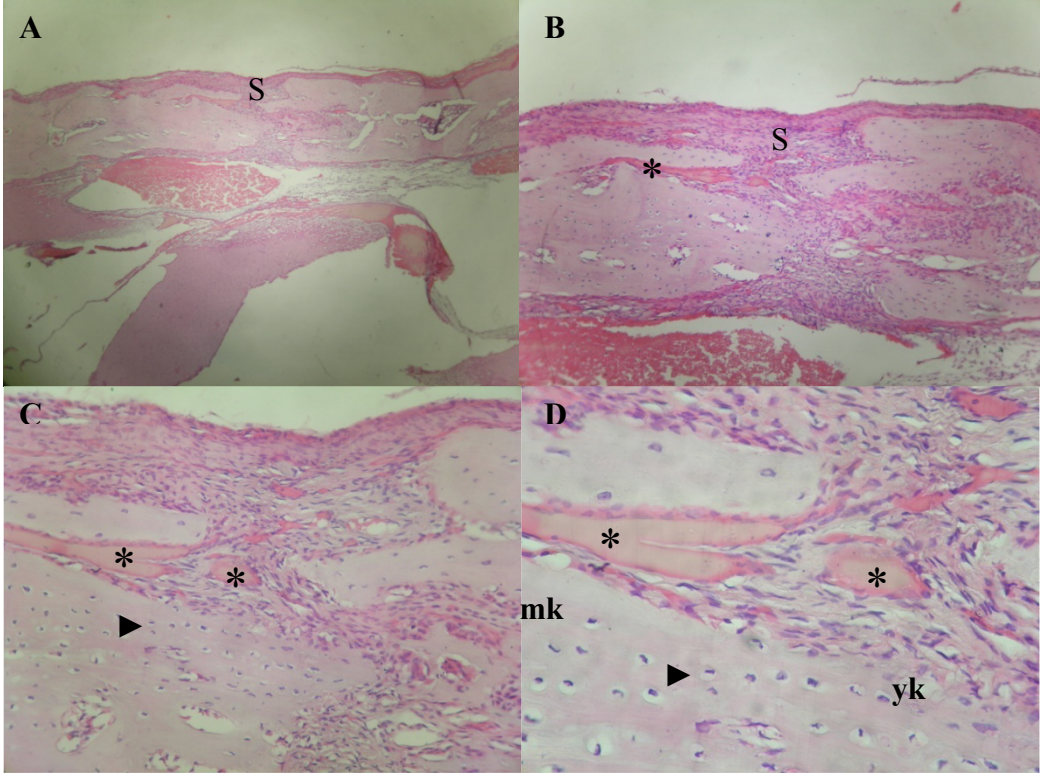
Resim 17. Grup 1'den elde edilen sagittal suture örneklerinin immunohistokimyasal boyalı mikrografları. Pozitif immunoreaktiviteler, DAB kromojeni ile kahverengi olarak boyanmış olarak izlenmektedir. ► : osteoblastlar. A, C, E, G: X 200, B, D, F, H: X 400 (Orijinal büyütme)



Resim 18. 1 hafta retansiyon uygulanan gruptan (Grup 2) elde edilen sagittal suture örneklerinin mikrografları. Aktif osteoblastlar ve orta derecede genişlemiş kan damarları ile yeni oluşan doku izlenmektedir. Osteoblastik aktivitenin henüz başlamış olduğu ve oluşan yeni kemik dokunun grup 1'e göre daha az olduğu gözlenmektedir
► : osteoblastlar, * : kan damarları, S: suture, mk: yeni oluşan kemik dokusu
Boya: H.E. A: X 40, B: X 100, C: X 200, D: X 400 (Orijinal büyütme)

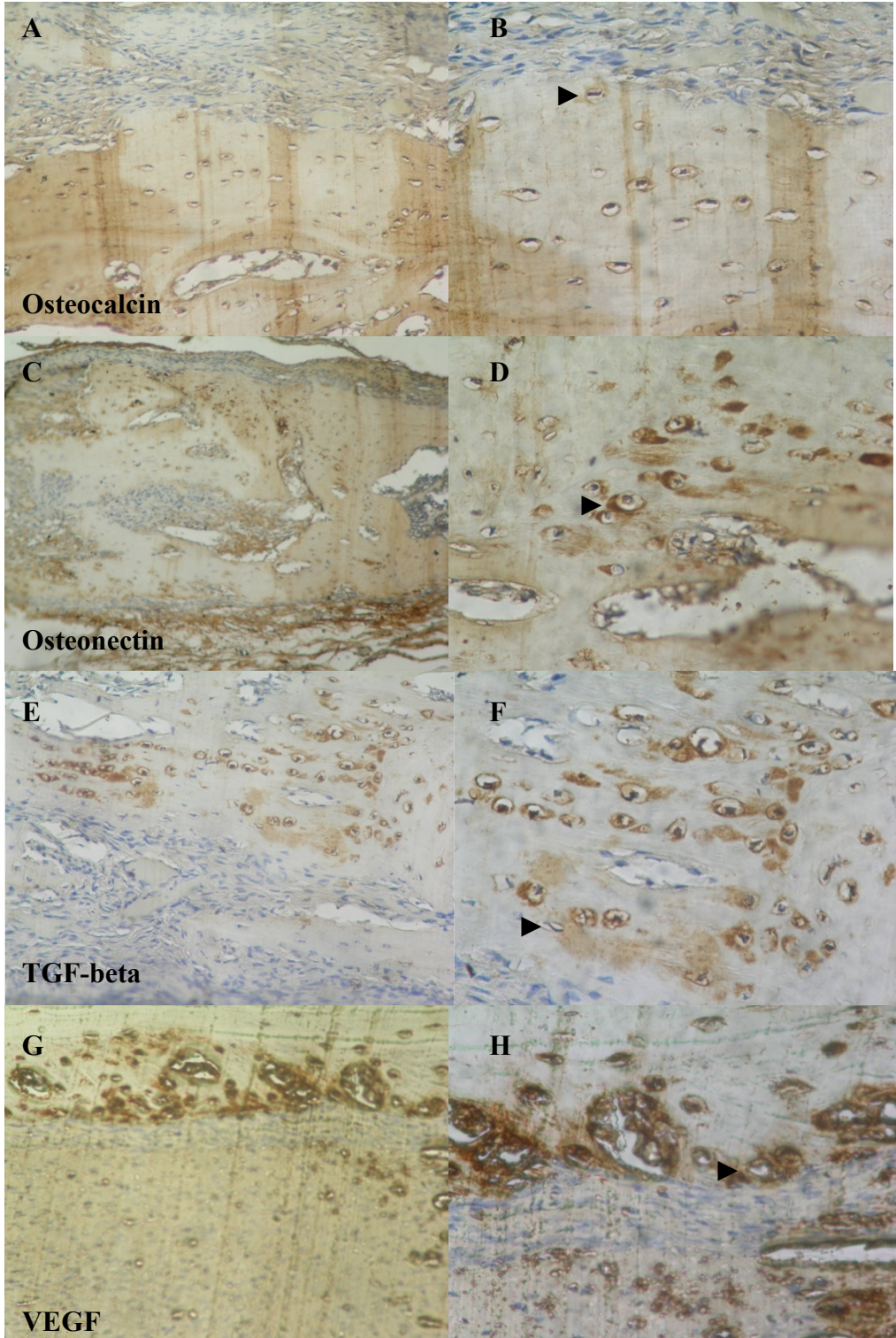


Resim 19. Grup 2'den elde edilen sagittal sütün örneklerinin immunohistokimyasal boyalı mikrografları. Pozitif immunoreaktiviteler, DAB kromojeni ile kahverengi olarak boyanmış olarak izlenmektedir. ► : osteoblastlar. A, C, E, G: X 200, B, D, F, H: X 400 (Orijinal büyütmeleler)

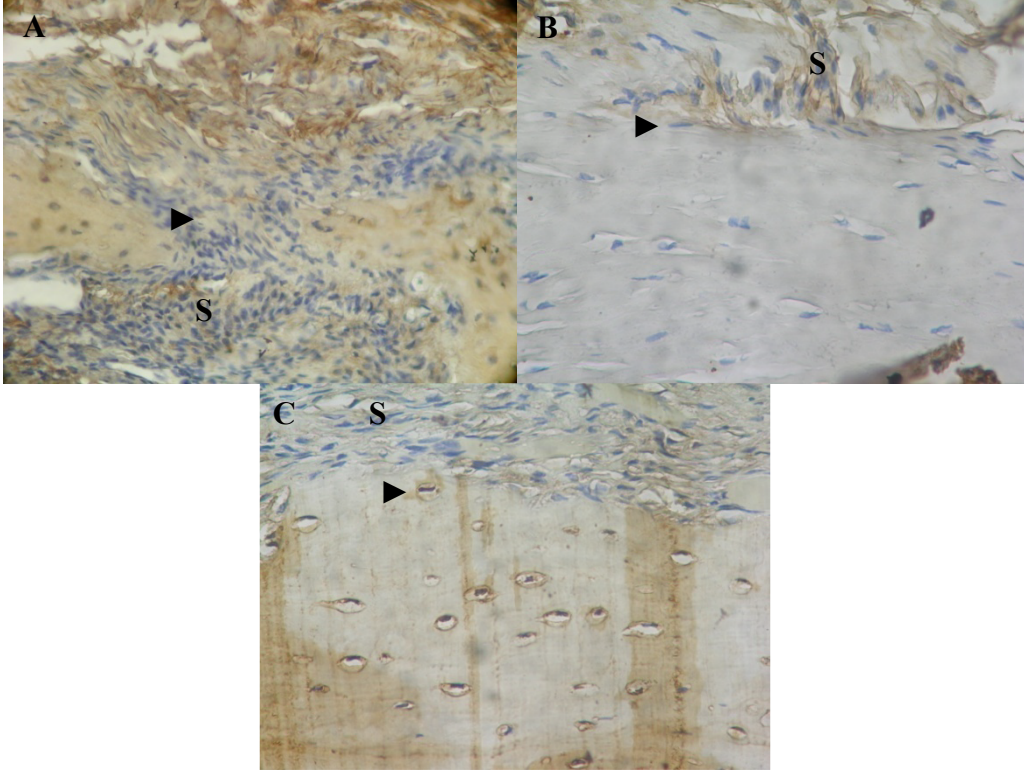


Resim 20. ZA uygulandıktan sonra, 1 hafta retansiyon uygulanana gruptan, (Grup 3) elde edilen sagital suture örneklerinin mikrografları. Aktif osteoblastların olduğu ve kan damarlarının geniş olduğu izlenmektedir. ▶ : osteoblastlar, * : kan damarları, S: suture, yk: yeni oluşan kemik dokusu, mk: matür kemik.

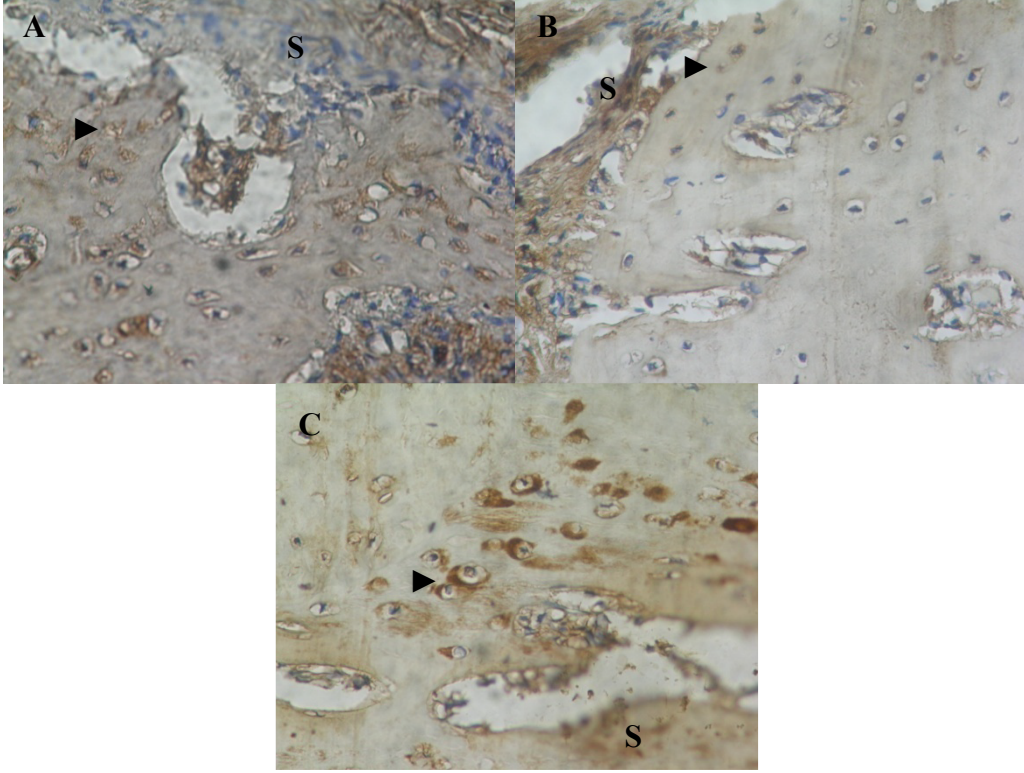
Boya: H.E. A: X 40, B: X 100, C: X 200, D: X 400 (Orijinal büyütmeler)



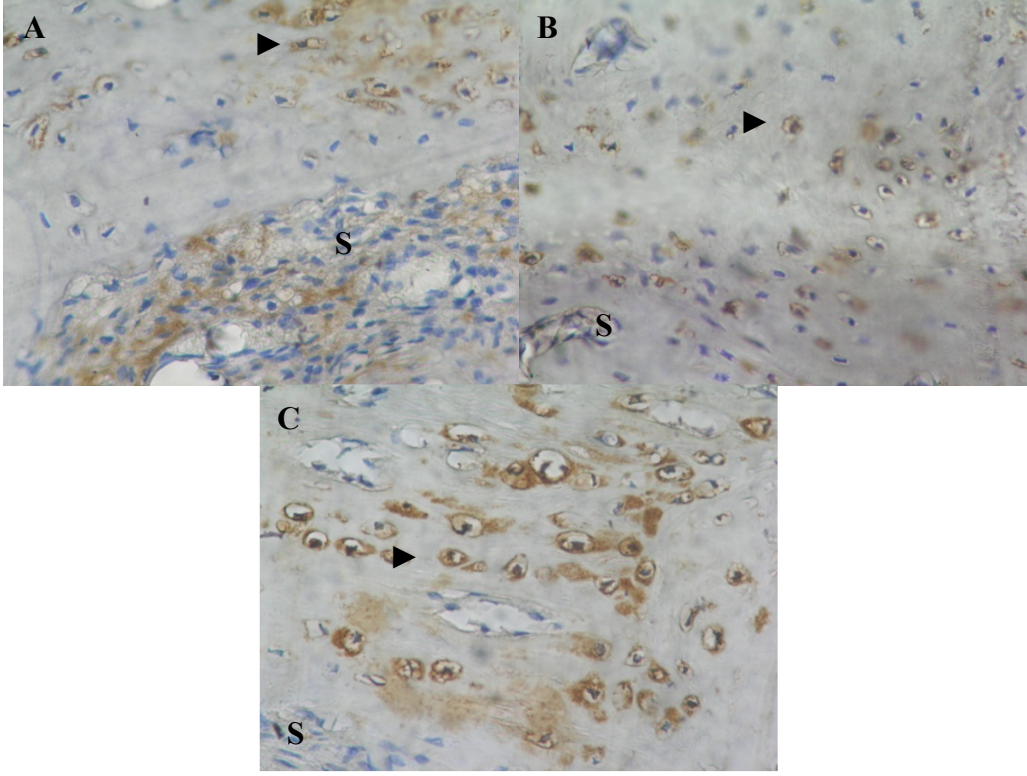
Resim 21. Grup 3'den elde edilen sagittal sütün örneklerinin immunohistokimyasal boyalı mikrografları. Pozitif immunoreaktiviteler, DAB kromojeni ile kahverengi olarak boyanmış olarak izlenmektedir. ► : osteoblastlar. A, C, E, G: X 200, B, D, F, H: X 400 (Orijinal büyütmeleler)



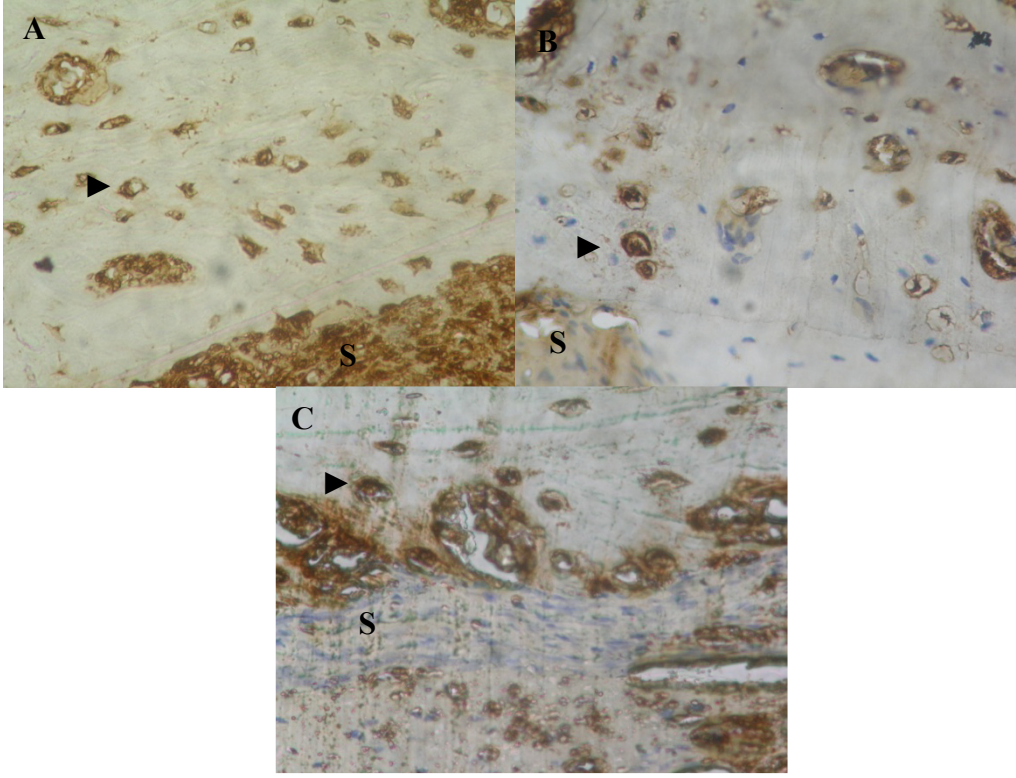
Resim 22. Gruplardan elde edilen sagittal sütür örneklerinin anti-osteocalcin primer antikorunu ile indirek immunohistokimyasal yöntemle boyanmış mikrografları. Pozitif immunoreaktiviteler, DAB kromojeni ile kahverengi olarak boyanmış olarak izlenmektedir. ►: osteoblastlar, S: sütür bağ dokusu X 400 (Orijinal büyütmeler) A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3



Resim 23. Graplardan elde edilen sagital sütür örneklerinin anti-osteonectin primer antikoru ile indirek immunohistokimyasal yöntemle boyanmış mikrografları. Pozitif immuno reaktiviteler, DAB kromojeni ile kahverengi olarak boyanmış olarak izlenmektedir. ►: osteoblastlar. X 400 (Orijinal büyütmeler)
A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3



Resim 24. Gruplardan elde edilen sagittal sütür örneklerinin anti--TGF- β primer antikoruna ile indirek immunohistokimyasal yöntemle boyanmış mikrografları. Pozitif immunoreaktiviteler, DAB kromojeni ile kahverengi olarak boyanmış olarak izlenmektedir. \blacktriangleright : osteoblastlar, S: sütür bağ dokusu X 400 (Orijinal büyütme)
A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3



Resim 25. Graplardan elde edilen sagital sütür rneklelerinin anti-VEGF primer antikorunu ile indirek immunohistokimyasal yöntemle boyanm mikrografları. Pozitif immunoreaktiviteler, DAB kromojeni ile kahverengi olarak boyanm olarak izlenmektedir. ►: osteoblastlar, S: sütür baē dokusu X 400 (Orijinal büyütmeler) A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3

5. TARTIŞMA

RME ağır ortopedik kuvvetler uygulanarak maksiller darlık ve yetmezlik sorunlarının tedavi edildiği bir tedavi yöntemi olarak kullanılmaya başlandıktan sonra farklı yönlerden araştırılmıştır.

RME sırasında uygulanan ağır kuvvetler sonrasında, sphenoid kemik hariç maksilla ile ilişkide olan frontal, ethmoid, nazal, lakrimal, vomer ve zigomatik kemiklerde hareket olduğu bildirilmiştir.^{21,54,61,143}

RME sırasında ve sonrasında midpalatal suturda meydana gelen değişiklikler de incelenmiş, kuvvet uygulamasını takiben kollojen liflerde gerilme, suturda aralanma ve daha çok fibroblastlarda olmak üzere osteojenik hücrelerde bol miktarda mitotik aktivite görüldüğü ve devamında osteoblast sayısında artış ve sutur boyunca yeni kemik oluşumu gözlemlendiği belirtilmiştir.^{34,45,104,105,111,146,153} RME' nin dentofasiyal yapılar üzerinde oluşturduğu değişiklikleri inceleyen araştırmacılar, her iki maksiller kemiğin birbirlerinden ayrılmasının paralel olmadığını, daha çok bukkale rotasyon ve bukkale devrilme şeklinde olduğunu ayrıca midpalatal suturdaki genişleme miktarının anterior nazal spina bölgesinde posterior nazal spina bölgesinden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.^{30,36,61,62,81,140,170}

RME sonrasında uygun apareylerle ve uygun sürelerde pekiştirme yapılmaz ise relaps meydana geldiği yapılan araştırma ve klinik gözlemler sonucu ortaya konmuştur. Sannomiya ve ark,¹³¹ cerrahi destekli hızlı üst çene genişletmesi yapılmış 18 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada RME öncesi, RME sonrası ve 3 ay sonra olmak üzere aldıkları okluzal radyografiler vasıtası ile optik dansite analizi yapmışlar. Analiz sonuçlarına göre midpalatal suturda 3 ay sonra yeni kemik formasyonunun

tamamlanmadığını belirtmişlerdir. RME uygulaması sonrası suturun yeniden yapılanması ve stabilizasyonu için genelde en az 6 aylık pekiştirme periyodu önerilmektedir.^{15,18,67} Da silva ve ark,³⁵ yaşları 5 ile 10 arasında değişen 17 hasta üzerinde ekspansiyon öncesi ve ekspansiyon sonrası BT kayıtları aldıkları çalışmalarında midpalatal suturun anterior nazal spinadan posterior nazal spinaya kadar komple kemikleştiğini ve bununla 8-9 ay sürdüğünü belirtmişlerdir. Bunun yanı sıra ekspansiyonun genişliğine bağlı olarak 1.5-4 yıl pekiştirme periyodu uygulanması gerektiğini belirten çalışmalar da mevcuttur.¹⁰⁷

Olabilecek nüksün nedenleri olarak alveoler kemik remodelingi, palatal konnektif dokunun gerilimi, diğer fasiyal kemiklere bağlı suturlardaki rejenerasyon ve oral kas fonksiyonların kalıcı olmaması sayılabilir. Bu nedenlerin çoğunu araştırmacılar midpalatal suturdaki yetersiz kemik rejenerasyonuna bağlamaktadır.¹²⁹

Literatürde ekspansiyon bölgesinde kemik formasyon hızını artırarak tedavi süresini kısaltmak ve oluşan kemiğin kalitesini artırarak meydana gelebilecek relapsları azaltmak ve tedavi sonucunda elde edilen durumun devamlılığını sağlamak amacı ile değişik girişimlerde bulunulmuştur.

Saito ve Shimizu¹²⁹ midpalatal suturda kemik oluşumunu stimüle etmek amacı 76 adet wistar ratı üzerinde yaptığı çalışmada ekspansiyon süresince midpalatal sutur bölgesine değişik süre ve frekanslarda gallium aluminum-arsenide diode lazer (Ga-Al-As) uygulamışlar. Diode lazer uygulamasının total uygulanan lazer dozunun yanı sıra lazer uygulamasının süresi ve frekansı ile bağımlı olarak da suturda meydana gelen kemik oluşumunu artırdığını belirtmişlerdir.

Darı³⁸ ratlarda midpalatal ekspansiyon uygulamasında düşük doz galyum arsenik (Ga-As) diode laserin etkilerini inceledikleri bir çalışmada galyum arsenik diode laser uygulamasının sutur boyunca kemik oluşumunu indüklediğini belirtmişlerdir.

Sawada ve Shimizu¹³⁴ 25 adet erkek wistar ratı üzerinde yaptıkları çalışmalarında ratların kesici dişlerinden destek alarak yaptıkları ekspansiyondan 24 saat sonra TGF- β_1 'i midpalatal sutur alanına enjekte etmişler, midpalatal suturdaki kemik formasyon hızında ve miktarında artış olduğunu bildirmişlerdir.

Bifosfonatlar genellikle kemik mineraline bağlanarak ve sonrasında onunla ilişkili osteoklastların aktivitelerini inhibe ederek kemik rezorpsiyonu üzerine etki ederler.¹²⁸ Bifosfonatlar ile ilgili yapılan deneysel çalışmalarda periyodontitis cerrahisi sonrası ve dental implant uygulaması sonrası bifosfonatların lokal olarak uygulanması ile kemik rezorpsiyonunun engellenmesi ve yeni kemik yapımının sağlandığı görülmüştür.^{39,40} Aynı zamanda tedavi amacı ile bifosfonat kullanılması amacı ile ilgili yapılan çalışmalarda total kemik mineral içeriğinin de arttığı gözlemlenmiştir.¹³³

Bifosfonatların osteoklastik aktiviteyi baskılaması ortodontik alanda da araştırmacıların dikkatini çekmiştir. İstenmeyen diş hareketleri kemik yıkımını önleyen ajanlarla engellenebilirse ankraj dişlerde hareketin önlenmesi için kompleks mekanizmaların kurulmasına gerek kalmayacağını, tedavi sonunda da hareket ettirilerek ideal ilişkisi sağlanmış dişlerin relapsının önlenebileceği düşünülmüştür. Bu düşünce ile bifosfonatların sistemik ve lokal kullanımları ile değişik çalışmalar yapılmıştır. Hem sistemik hem de lokal kullanım şeklinde bifosfonatlar hem ankraj dişlerin hareketini hem de önceden hareket etmiş dişlerin relapsını azaltmıştır.^{1,70,80,93}

Ayrıca Lee ve ark,⁸⁶ 2001 yılında ratlarda sagittal suturda oluşturulan ekspansiyon sonrasında osteoklastik aktiviteyi baskılıyarak relapsın önlenmesi amacı ile 44 rat üzerinde yaptıkları çalışmalarında deneklere ekspansiyon sonrasında birinci nesil bifosfonat olan etidronat uygulamışlardır. Genişletme sonrasında deneklerin yarısına mekanik retansiyon ile birlikte bifosfonat uygulamışlar diğer yarısına ise mekanik retansiyon uygulaması olmadan sadece bifosfonat uygulamışlardır. Ekspansiyon ve relaps miktarlarını elde ettikleri fotoğrafları imaj analiz programına aktarılması ile belirledikleri çalışmalarında relaps miktarının ölçülmesinin yanı sıra histolojik değerlendirme de yapmışlar ve en az relapsın mekanik retansiyon ile birlikte bifosfonat uygulanan grupta olduğunu, histolojik olarak da osteoklastların bifosfonat uygulanan grupta daha az görüldüğünü belirtmişlerdir.

Üçüncü nesil bifosfonat olan ZA'nın diğer bifosfonatlardan daha etkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bifosfonatlar osteoklastik aktiviteyi baskılamasının yanı sıra kemik oluşumunu da artırmaktadır. Literatürde ZA'nın sutur bölgesinde kemik oluşumuna katkısı yönünden hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı da ekspansiyon sonrası genişlemiş olan suturlarda pekiştirme periyodunu kısaltmak ve nüksü önlemek amacı ile ratlarda expansion sonrasında sistemik olarak uygulanan ZA'nın suturlarda kemik formasyonu üzerine etkilerini radyolojik, histolojik ve immüno-histokimyasal olarak incelemek ve bu sonuçları retansiyon süresi ve relaps açısından değerlendirmektir.

Çalışmamızda kullandığımız ekspansiyon zembereği vasıtası ile sutura ve çevre dokulara iletilen 120 gram kuvvetin kullanım amacına uygun olarak ekspansiyon işlemini başarıyla gerçekleştirdiği görülmüştür. Çalışmamızda tomografi kesitlerinden

elde edilen bulgulara göre ekspansiyon zembereği vasıtası ile sutura iletilen kuvvet neticesinde tüm gruplardaki suturlarda ortalama 2mm' lik bir ekspansiyon belirlenmiştir. Miyawaki ve ark,¹¹¹ ratlarda sagittal sutur da yaptıkları genişletme işleminde hafif kuvvetler, orta şiddetli kuvvetler ve ağır kuvvetler uygulayarak suturlarda oluşan değişiklikleri gözlemlemişlerdir. 14. Günün sonunda sutural açılmanın orta şiddetli kuvvet (100-150 gram) uygulanan grupta 3 mm ağır kuvvetlerin (200-250 gram) uygulandığı grupta 3,2 mm ve hafif kuvvet (50-70 gram) uygulanan grupta ise 2,1 mm olduğunu belirtmişlerdir. Lee ve ark,⁸⁶ nın yaptığı çalışmada ise 60 gram kuvvet uygulaması sonrasında üçüncü günün sonunda suturlarda ortalama 1,26 mm ayrılma gözlemlemişlerdir.

BT kayıtlarından yapılan değerlendirmeye göre T1-T2 periyodunda tüm gruplarda elde edilen 2mm lik sutural açılma diğer çalışmalarla uyum göstermektedir.

Çalışmamızda ekspansiyon sonrası genişletme zembereği çıkarılmış ve yerine retansiyon teli takıldıktan sonra retansiyon periyodu sonunda elde edilen ekspansiyon miktarının sabit kaldığı gözlemlenmiştir. Lee ve ark,⁸⁶ ekspansiyon sonrası retansiyon amacı ile ekspansiyon zembereğinin looplarını akrilik rezin ile fixe ederek retansiyon periyodu uygulamıştır. Elde ettikleri sonuçlara göre 7 günlük retansiyon döneminde de suturlarda bir miktar genişleme olduğunu belirtmişlerdir. Suturlardaki retansiyon döneminde gerçekleşen genişleme apareyin akrilik rezin ile fikse edilmesine rağmen kuvvet uygulamasına devam ettiğini göstermektedir.

Retansiyon dönemi sonrası relaps açısından değerlendirildiğinde on dört gün retansiyon uygulanan 1. Grupta %38, yedi gün retansiyon uygulanan 2. Grupta %43, yedi gün retansiyon uygulanan ve ZA uygulanan 3. Grupta ise %13 relaps

gözlemlenmiştir. Etkin madde ZA uygulanan 3. Grupta, aynı süre retansiyonda tutulan Grup 2' den ve daha uzun süre retansiyonda tutulan Grup 1' den daha az miktarda relaps görülmüştür. Lee ve ark,⁸⁶ rat sagittal suturunda yaptıkları genişletme sonrası birinci nesil bifosfonat uygulamasının relapsı azalttığını ve bifosfonatların mekanik retansiyon ile birlikte uygulanmasının relapsın önlenmesinde daha etkili olduğunu belirtmiştir. Çalışmalarında histolojik olarak kontrol grubuna göre daha az osteoklast gözlemlediklerini, bifosfonatların osteoklast sayısını azaltıp kemik rezorpsiyonunu önleyerek relaps miktarını azaltmış olabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda sutur bölgesinde ekspansiyon sonrası oluşan yeni kemiğin yoğunluğu BT cihazı ile belirlenmiştir. Kemik mineral yoğunluğunun tespiti direkt radyolojik yöntemlerle de yapılabilmektedir fakat direkt radyolojik yöntemlerin duyarlılığının düşük olması daha duyarlı ve kantitatif değerlendirme yapılabilen yöntemlerin geliştirilmesi zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. Kemik mineral yoğunluğunun ölçülmesi amacıyla kantitatif ultrasonografi, dual enerji X –ışını absorpsiyometri (DEXA) ve kantitatif BT yöntemleri günümüzde kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesinde en yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir. Belirtilen yöntemlerin dışında, yerini yeni tetkiklere bırakan, daha nadir olarak kullanılan, ya da geliştirilme aşamasında olan single foton absorpsiyometri, dual foton absorpsiyometri, single enerji X-ışını absorpsiyometri, nötron aktivasyon yöntemi, kemik sintigrafisi ve kantitatif magnetik rezonans görüntüleme gibi metodlar da mevcuttur.^{132, 83}

Sutur bölgesinde yeni oluşan kemiğin yoğunluk miktarları karşılaştırıldığında beklendiği gibi on dört gün retansiyonda tutulan 1. Grup'ta yedi gün retansiyonda tutulan 2. Grup'tan daha fazla miktarda kemik yoğunluğu tespit edilmiştir. Retansiyon

süresi arttıkça yeni oluşan kemik yoğunluğu artmıştır. Bifosfonatların yalnız osteoklastları azaltarak değil aynı zamanda sutur bölgesinde genişletme sonrası yeni oluşan kemik miktarını artırarak da relapsın önlenmesine yardımcı olacağını düşünerek yola çıktığımız çalışmamızda gruplar arasında radyolojik olarak genişletme bölgesinde yeni oluşan kemik yoğunluğu en fazla ZA uygulanan grupta görülmüştür ($p<0.05$). Sistemik olarak uygulanan ZA genişletme bölgesindeki kemik yoğunluğunu daha uzun süre retansiyonda tutulan ve aynı süre retansiyonda tutulan gruplara göre istatistiksel olarak artırmıştır.

Uzun kemiklerde distraksiyon osteogenezis uygulamasının ardından fonksiyonsuzluğa ve distraksiyon işlemi esnasında oluşan gerilime bağlı olarak osteoporöz ortaya çıkabilmekte ve bunun neticesinde distraktörün çıkarılmasının ardından rejenerat sahasında ya da yakın bir bölgede fraktür görülebilmektedir.^{37,139} Bu sorunların giderilmesi amacıyla bifosfonat kullanımına ait yapılan deneysel çalışmalarda Miyazaki ve ark,¹¹² 0,6mg/kg olarak kullandıkları pamidronatın tavşanlarda distraksiyon osteogenezis uygulaması sonrasında çevre kemikteki yoğunluk ölçümünü DEXA ile yapmışlar. Pamidronatın ilk 2 hafta içinde çevre kemikte dansite artışına yol açtığı fakat daha sonra bu etkinin ortadan kalktığı belirtilmiştir. Little ve ark,⁹² kemik mineral yoğunluğunu BT ile belirledikleri çalışmalarında klinik uygulama için de uygun doz olan 1mg/kg pamidronatın distraksiyon osteogenezis üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. 1 mg/kg'lık dozun deney grubunda kontrol grubuna göre kemik mineral yoğunluğu ve kemik mineral içeriğini artırdığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre pamidronatın nefrokalsinozise yol açma potansiyeli bulunduğu ve dolayısıyla klinik olarak etkin ve güvenilir dozun belirlenmesi için yeni

çalışmalara ihtiyaç olduğunu söylemişlerdir. Bununla birlikte ZA gibi çok daha küçük dozlarda daha güçlü etki oluşturan yeni nesil bifosfanatların daha anlamlı sonuçlar verebileceğini de belirtmişlerdir.

Williams ve ark,¹⁷¹ tarafından yayınlanan bir başka çalışmada Little ve ark,⁹² 'nın distraksiyon protokolü kullanılarak 1 mg/kg pamidronat ve 0.1 mg/kg ZA'nın distraksiyon osteogenezis üzerine olan etkileri karşılaştırılmıştır. Kemik yoğunluk tespiti için değerlendirmelerini BT cihazı ile yapmışlar. İki ilaç da intraoperatif ve sistemik olarak verilmiş, ayrıca üçüncü bir grupta ZA'nın ilk uygulama dozunun aynısı postoperatif on dördüncü günde aynı yöntemle verilerek tekrar dozun etkinliği de araştırılmıştır. Distraksiyon osteogenezis sırasında kemik mineral içeriğinde olması istenen artışla ilişkili olarak nispi etkinlikleri kıyaslandığında ZA, pamidronattan 18 kat daha etkindir. 1 mg/kg pamidronat verilen grupta % 70 oranında nefrokalsinozis saptanırken, ZA uygulaması yapılan her iki grupta da incelenen hiçbir böbrekte nefrokalsinozise rastlanmamıştır.

Pampu ve ark,¹¹⁸ ZA'nın mandibular distraksiyon osteogenezis üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında elde ettikleri kemik dansitometrisi (DEXA) sonuçlara göre 0.1mg/kg tek doz intraoperatif olarak verilen ZA'nın 5 gün latent dönem ve toplam 5 mm distraksiyonun ardından 32 günlük konsolidasyonun sonunda hem rejenerat hem de rejenerat çevresi alanlarda kemik mineral yoğunluğu ve kemik mineral içeriğinde anlamlı bir yükselmeye yol açtığını belirtmişlerdir.

Takahashi ve ark,¹⁴⁸ nin 2006 yılında yaptıkları çalışmada distraksiyon osteogenezis uygulaması sonrasında tavşan tibialarının radyolojik olarak anteroposterior filmlerini çekmişler ve filmleri scanner ile tarayıp bilgisayar ile dansite

analizi yaparak kemik yoğunluğunu tespit ettikleri çalışmalarında, yeni oluşan kemikte bifosfonatların kemik formasyonunu ile birlikte kemik turn overında artırdığını belirtmiştir.

Borba ve ark,²⁶ 18 osteoporöz hastasına artmış kırık riski nedeni ile sistemik olarak tek doz 4mg ZA uygulamışlar. ZA uygulaması öncesi, ZA uygulandıktan 12 ay sonra ve ZA uygulandıktan 18 ay sonra kemik mineral yoğunluğunu DEXA ile değerlendirdikleri çalışmalarında 12. ayda kemik mineral yoğunluğunda artış olduğunu 18. ayda ise kemik mineral yoğunluğunda 12. aya oranla azalma olduğunu ama başlangıç seviyesine göre hala kemik mineral yoğunluğunda artış bildirmişlerdir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bifosfonat uygulanan grupta kemik yoğunluğunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış bu çalışmalarla uyum göstermektedir.

Çalışmamızda histolojik olarak osteoblast sayısı ve damarlanma en fazla ZA uygulanan grupta gözlemlenmiştir ($p<0.05$). ZA ekspansiyon bölgesinde kemik oluşumundan sorumlu hücreler olan osteoblastları stimüle etmiş ve bölgedeki damarlanmayı artırmıştır.

Im ve ark,⁷¹ bifosfonatların osteoblastlar üzerinde anabolik etkilerinin olduğu, osteoblastların proliferasyon ve matürasyonunu artırdığını bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada insan primer trabeküler kemik hücre kültürü, osteoblast benzeri hücre sayımı ve polimeraz zincir reaksiyonu gibi yöntemlerle bifosfonatların kontrol grubuna göre anlamlı derecede osteoblast sayısını artırdığını göstermişlerdir.

Little ve ark,⁹¹ intraoperatif ve sistemik olarak 3mg/kg bifosfonat uygulamasının distraksiyon osteogenezis uygulanan kemikte osteoporözü engellediği, histolojik

incelemede ise osteoblast sayısında belirgin artma ve osteoklast sayısında azalma gözlemlendiğini belirtmiştir

Altundal ve ark,⁶ ratların femurlarında oluşturdukları kemik defektlerine yerleştirdikleri otojen kemik grefti uygulaması sonrası bifosfonatların kemik formasyonunda meydana getirdikleri değişiklikleri incelemek için yaptıkları çalışmalarında bifosfonat uygulanan grupta histolojik incelemede istatistiksel olarak anlamlı derecede osteoblast sayısında artış tespit etmişlerdir.

Pampu ve ark,¹¹⁸ mandibular distraksiyon osteogenezis uygulamasında 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.

Çalışmamızda elde ettiğimiz ZA uygulanan grupta osteoblast sayısının arttığı yönündeki verilerimiz bu çalışmalarla uyum göstermektedir.

ZA uygulanan grupta damarlanmada artma olduğu hakkındaki bulgumuz bifosfonatların damarlanmayı azaltıp kemiğin kanlanmasını azaltarak osteonekroz oluşturduğu yönündeki çalışmalarla ters düşmektedir. Zahrowski'nin¹⁷⁷ 2007'de yayınlanan çalışmasında ZA ile ilgili olarak düşük ilaç konsantrasyonlarının başlangıç safhasında osteoklastik aktiviteyi azalttığı dengenin osteoblastik aktiviteye kaydığına ve kemik formasyonununda artışa sebep olduğunu belirtmiştir. İlaç konsantrasyonunun arttığı ileriki safhalarda osteoklastik aktivite daha da azalır bu da yeni kemikteki damarlanmayı ve osteoblastik aktivitenin azalmasını başlatarak kemik tamiri ve kemik turnoverında azalma gözleneceğini belirtmiştir. Pampu ve ark,¹¹⁸ sistemik olarak uyguladıkları tek dozluk ZA'nın mandibular distraksiyon osteogenezis sonrasında

fibroblast sayısında ve vasküler yapılarda artma eğilimine sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ZA'yı sistemik olarak tek doz uyguladığımızdan dolayı çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuç bu çalışmalarla uyum göstermektedir.

İmmüno histokimyasal değerlendirmede ZA uygulanan grupta sutur bölgesindeki osteoblastların immüno reaktivitelerinin diğer gruplara oranla daha fazla olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Bifosfonatlarla ilgili olarak immüno histokimyasal değerlendirme yapılan bir çalışma bulunamamıştır. Ama çalışmamızda elde ettiğimiz sutur boyunca osteoblast sayısının ZA uygulanan grupta daha fazla olması, genişletme bölgesinde yeni oluşan kemik miktarının ZA uygulana grupta daha fazla olması ve relapsın en az ZA uygulanan grupta olması bulguları ile ZA uygulanan grupta osteoblastların immüno reaktivitelerinde artış bulunması uyum göstermektedir.

7 gün retansiyonda tutulan ve ZA uygulanan grupta 14 gün retansiyon uygulanan gruba göre daha az relaps gözlemlenmesi, ZA gibi farmakolojik ajanların yardımı ile hem pekiştirme süresinin kısaltılabileceği hem de elde edilen genişletme miktarının stabilizasyonu artırılabilireceği düşüncesini desteklemektedir. Elde edilen BT, histoloji ve immüno histokimya bulguları ZA uygulamasının ekspansiyon bölgesinde yeni oluşan kemik miktarını artırdığını göstermektedir.

Seçilecek deney hayvanının yapılacak olan çalışmaya uygun olması gerekmektedir. Sutural genişletme için yapılan hayvan çalışmalarında maymun,^{33,34,141} kedi,¹⁶² tavşan,¹¹⁹ domuz,⁵⁹ fare,¹⁷⁵ ve rat^{38,77, 86,111,129,134,145} kullanılmıştır.

Suturlarda hızlı genişletme yöntemine yönelik deneysel araştırmalar genellikle ratlarda yapılmış ve 180-220 gramlık wistar türü erkek denekler kullanılmıştır.^{38,77,129,134} Wistar türü erkek ratların erişkin ağırlığı 300-350 gramdır.¹²¹ 180-220 gram

ağırlığındaki erkek bir ratın büyüme gelişimi insanda erkek bireylerde 14-16 yaşına yani büyüme gelişimin tamamlanmasından önceki döneme tekabül etmektedir.

Denek hayvanı olarak rat ve farelerin tercih edildiği farklı çalışmalarda değişik suturlar çalışma bölgesi olarak kullanılmıştır. Lee ve ark,⁸⁶ Tanaka ve ark,¹⁵⁰ Yen ve ark,¹⁷⁵ Steenvoorden ve ark,¹⁴⁵ Miyawaki ve ark,¹¹¹ ekspansiyon uygulamasını sagittal (interparietal) suturda yapmıştır. Kanekawa ve ark,⁷⁷ Hou ve ark,⁶⁹ Saito ve ark,¹²⁹ Sawada ve ark,¹³⁴ ekspansiyon uygulamasını midpalatal sutur üzerinde yapmışlardır.

Denek hayvanlarından domuz, köpek ve ratların immünitesi ile insan immünitesine çok benzerlik göstermektedir. Etik olarak ülkemizde köpekler üzerinde son 3 yıldır çalışma yapılmamaktadır. Domuzların hem bakımı hemde opere edilmesi zordur. Bu çalışmanın da kolay bulunmasının yanı sıra barındırılmasının ve beslenmesinin kolaylığı ve ucuz olmasından dolayı ratlar üzerinde yapılmasına karar verilmiştir. Ayrıca ekspansiyon kuvvetinin remodeling üzerindeki direk etkisini değerlendirmek, çiğneme ve okluzal kuvvetlerin etkilerini elimine edebilmek amacı ile ekspansiyonu sagittal (interparietal) sutur üzerinde yapılması planlanmıştır.

Ratlar üzerinde suturalarda ekspansiyon yapmak amacı ile araştırmacılar tarafından çeşitli apareyler kullanılmıştır.^{38,77,86,111,129,134,145,150} Bu apareylerin görünüşleri farklı olsa da sonuçta hepsinin etki mekanizmaları basınç altında suturanın yırtılması şeklindedir. Yapılan literatür tarama ve pilot çalışma sonrası Lee ve ark,⁸⁶ nın kullandığı apareyin kullanılmasına karar verilmiştir.

Lee ve ark,⁸⁶ sagittal suturda ekspansiyon oluşturmak için 60 gram kuvvet uygulamışlar ve ekspansiyon süresi olarak 3 günlük bir periyod belirlemişlerdir. Saito ve ark,¹²⁹ ratlarda midpalatal ekspansiyonun 7 günde olduğunu, Kanekawa ve Shimizu⁷⁷

rapid palatal ekspansiyon uygulaması ile 7 gün sonunda dekalsifiye edilen deneklerde suturada açılmanın meydana geldiğini gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Miyawaki ve Forbes,¹¹¹ ratlar üzerinde yaptığı çalışmada sutural genişletme yapmak amacı ile kullanılan ekspansiyon kuvvetleri 50-70 gram arası hafif kuvvetler, 100-150 gram arası kuvvetler orta şiddetli kuvvetler, 200-250 gram arası kuvvetler ağır kuvvetler olarak sınıflandırılmıştır. 1, 4, 7 ve 14 günlük ekspansiyon periyodları sonrasında meydana gelen değişiklikler radyolojik, histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Hafif kuvvet uygulanan grupta 7. günün sonunda çok az bir miktar sutural genişleme olduğu, genişlemenin artan kuvvetlerle doğru orantılı olarak arttığı belirtilmiştir. Dördüncü günün sonunda hafif kuvvetler uygulanan grupta kollojen liflerde gerilme ve osteoblast sayısında artış olmasına rağmen yeni kemik oluşumunun henüz tam olarak gözlemlenmediği 7. günün sonunda hafif kuvvet uygulanan grupta yeni kemik formasyonunun gözlemlendiği belirtilmiştir. Bu çalışmada ayrıca kuvvet miktarı arttıkça hücresel proliferasyon ve kemik formasyonunda artış meydana geldiği belirtilmiştir. Darı,³⁸ 2002 yılında yaptığı çalışmada midpalatal suturda ekspansiyon oluşturmak için dişlerden destek aldığı apareyi ile 120 gramlık kuvvet uygulamışlardır. Biz de çalışmamızda interparietal suturda ekspansiyon yapmak için 120 gram (orta şiddette) kuvvet uygulamayı ve yeterli ekspansiyon oluşması için 7 günlük bir ekspansiyon periyodu uygulamayı uygun gördük.

Little ve ark,⁹¹ tavşan tibiasında gerçekleştirdikleri distraksiyon protokolü sonrasında distraksiyon aralığındaki kallusun stimülasyonu ve daha kısa sürede daha kaliteli yeni kemik oluşturmak amaçlarıyla deneklere intraoperatif ve postoperatif 14. günde 0.1 mg/kg dozunda ZA uygulamışlardır. Pampu ve ark,¹¹⁸ tavşanlarda

distraksiyon osteogenezis uygulaması sonrasında distraksiyon aralığında kemik oluşumunu artırmak amacı ile intraoperatif olarak tek doz 0.1mg/kg ZA uygulamışlardır. Amant ve ark,⁷ ratlarda oluşturulan kırık modelinde kırık onarımını stimüle etmek amacı ile tek doz olarak intravenöz uyguladıkları ZA'yı 0.1mg/kg dozunda uygulamışlardır.

Uygulanacak ZA'nın dozu hakkında yapılan literatür tarama sonrasında çalışmamızda ZA'yı 0.1mg/kg dozunda uygulamayı uygun gördük.

Saito ve Shimizu¹²⁹ sıçanlarda midpalatal ekspansiyon esnasındaki değişik doz ve frekanslardaki düşük dozlu Ga-A1-As diode laserin farklı günlerde uygulamasının kemik stimülasyon üzerindeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, radyasyon uygulanan ve uygulanmayan gruplarda apareylerin tatbik edilmesinden sonra ilk üç güne kadar kilo kaybının olduğunu sonraki günlerde bu durumun ortadan kalktığını belirtmişlerdir. Sawada ve Shimizu¹³⁴ sıçanlarda genişlemiş midpalatal sutura enjekte edilen TGF-B₁ ile ilgili çalışmalarında deney hayvanlarının kilolarında birinci günde yaklaşık %5 lik bir azalmanın olduğunu daha sonraki günlerde bu kilo kaybında düzelme olduğunu bildirmişlerdir. Kanekawa ve Shimizu⁷⁷ sıçanlarda ekspansiyon uygulaması sonrasında kilo kaybının ilk iki gün olduğunu daha sonra deney grubu ile kontrol grubu arasında fark olmadığını belirtmiştir.

Çalışmamızda uyguladığımız zembereğin uygulanması esnasında ve sonrasında apereyin yerleşimine bağlı hayvanlarda herhangi bir komplikasyon görülmemiştir. Deneklerde uygulanan operasyonlar sonrasında bir miktar kilo azalması gözlemlense de daha sonra deneklerin normal kilo alımına devam ettiği ve sağlık durumlarının normal

olduğu gözlemlendi. Bu bulgularımız diğer araştırmacılarla paralellik göstermektedir.^{77,86,129,134}

Bifosfonat kullanan hastalarda osteonekroz görüldüğü yönünde literatürde son yıllarda yayınlanmış vakalar bulunmaktadır. 1982 yılında Schwartz,¹³⁵ kanser kemoterapisinin çenelerde osteonekroza yol açabileceğini belirtmiştir. 2003 yılından itibaren bifosfonatların kullanımı ve osteonekroz oluşumu arasındaki olası etkiden bahseden artan sayılarda vaka sunumu bulunmaktadır.^{12,29,42,,66,87,98,101,108,109,126,130,137,166}

Osteonekroz görülen vakaların çoğunluğunu ileri yaştaki kanser hastaları oluşturmakta ve vakaların birçoğu bifosfonat tedavisine ilave olarak steroid, kanser kemoterapisi,glukokortikoid ve radyoterapi alan hastalardır. Osteonekrozun tek sebebinin sadece bifosfonat kullanımı bağlı olarak değil kemoterapi, steroid, glukokortikoid, radyoterapi gibi uygulanan prosedürlerden de kaynaklanabileceğini belirten çalışmalar da mevcuttur.^{31,44,58,88,99,126,136,172,}

Zavras ve ark,¹⁷⁸ 2001-2004 yılları arasında tedavi olan 255.757 kanser hastasını incelemişler toplam 224 osteonekroz vakası bulmuşlardır. Bifosfonat kullanan 26.288 hastadan 39'u, 229.469 bifosfonat kullanmayan hastadan 185'inde osteonekroz görüldüğünü ve bifosfonat kullanımı ile osteonekroz arası istatistiksel olarak bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir.

Kullanılan bifosfonatlar doza, kullanım süresine, devamlı kullanım olup olmadığına, ilacın cinsine göre etki gösterdiğini belirten çalışmalar, nekrotik kemik şikayetleri ortalama 9-14 ay IV zoledronat veya pamidronat, ortalama 3 yıllık alendronat kullanımı sonrası gözlenmektedir diye belirtmişlerdir. En erken şikayet IV kullanımda 4. ayda gözlenirken, oral kullanımda 2. yılda görülmüştür.^{99,177}

Yapılan bir kontrollü çalışmada 335 hasta periyodontal hastalıklı ve alendronat kullanan hastalarda 2 yıldan fazla bir süreliğine takip yapılmış ve osteonekroz görülmemiş.⁷⁶ Jeffcoat⁷⁶ tek kör olarak yaptığı çalışmasında 50 hastaya 210 implant uygulamış hastaların yarısı implant uygulaması öncesi 1-4 yıl arası oral bifosfonat kullanmış diğer yarısı ilaç kullanmamış ve implant yerleşimi sonrası en az 3 yıllık takip yaptığı vakalarda osteonekroz bulgusuna raslamamış ve implantlarda % 99 başarı belirtmiştir.

Bifosfonatların kullanıldığı bir başka problemde osteogenezis imperfektadır. Çocuklarda ve erişkinlerde çenelerde osteonekroz lenfoma ve lösemi gibi malignansilerde kortizon tedavisi görmüş hastalarda rastlanabilmektedir. Malmgrenve ark,⁹⁶ 2007 yılında sunduğu çalışmasında osteogenezis imperfektalı yaş ortalaması 8,1 olan (3 ay-20,9 yaş) 64 hastaya aylık 1 kere olmak üzere ortalama 4,5 yıllık (0,5-12,5 yıl) tedavi neticesinde toplam 1623mg/m² (140-4020) lık intravenöz pamidronat uygulaması yapılmıştır. 10 hastanın tedavisi oral alendronat, 2 hastanın tedavisi de IV ZA ile devam etmiş. Bu hastaların 22 tanesinde ortalama 12.2 yaş (3.4-31.9 yıl) tedaviye başladıktan ortalama 3.6 yıl sonra çoğu ortodontik amaçlı diş çekimi veya cerrahi müdahale içeren 38 cerrahi prosedür gerçekleştirilmiş ve klinik olarak toplam 64 hastanın hiçbirinde çenelerde osteonekroz görülmemiştir.

Distraksiyon uygulamasının ardından bifosfonatlar kullanılarak yapılan hayvan çalışmalarının ardından distraksiyon uygulaması sonrası bifosfonatlar tedavi amacı ile insanlarda da kullanılmaya başlanmıştır. 2007 yılında Kiely ve ark,⁷⁹ distraksiyon osteogenezis sonrası regenerat oluşumunda yetersizlik olan 7 hastaya regenerat oluşumunu artırmak için bifosfonat (3 hastaya ortalama 8 hafta süresince pamidronat, 4

hastaya ortalama 18 hafta ZA) uygulamışlar. 7 hastanın 6 tanesinde başka müdahaleye gerek kalmadan uygulanan bifosfonatlar başarılı olmuştur.

6. SONUÇLAR

Sistemik olarak uygulanan ZA'nın hızlı genişletme sonrasında rat sagittal suturundaki kemik oluşumuna ve relaps üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada bulguların değerlendirilmesinde şu sonuçlara varılmıştır:

1. Uygulanan ekspansiyon zembereği suturlarda genişletme işlemini başarıyla yerine getirmiştir.

2. Retansiyon apareyi amacına uygun olarak suturda yeterli stabilizasyonu sağlamıştır.

3. Relaps miktarlarının değerlendirilmesinde en az relaps ZA uygulanan grupta tespit edilmiştir ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

4. BT incelemeleri sonucunda yeni oluşan kemik yoğunluğu en fazla ZA uygulanan grupta gözlemlenmiştir ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

5. Histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler sonucunda ZA uygulanan ve 7 gün retansiyonda bekleyen grupta osteoblast sayısında ve damarlanmadaki artışın 7 ve 14 gün retansiyonda beklenen kontrol gruplarından fazla olduğu gözlemlenmiştir.

6. ZA uygulanan grupta osteoblastların immüno reaktivite yönünden daha aktif olduğu tespit edilmiştir.

Radyolojik, histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda ZA'nın hızlı genişletme sonrasında rat sagittal suturundaki kemik oluşumunu artırarak hem aynı süre retansiyonda beklenen, hemde daha uzun süre retansiyonda beklenen gruba göre relaps miktarını azalttığı tespit edilmiştir.

7. ÖZET

Öztürk F. Zoledronik asit uygulamasının hızlı genişletme sonrasında rat sagittal suturundaki kemik oluşumuna ve relaps üzerine etkisinin incelenmesi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ortodonti A.D Doktora Tezi, Sivas, 2008

Hızlı üst çene genişletmesi iskeletsel transversal yön anomalilerinden olan üst çene darlığının tedavisinde kullanılan yöntemlerden birisidir. Hızlı çene genişletme sonrası elde edilen değişikliklerin kalıcı olabilmesi için pekiştirme yapılmasına ihtiyaç vardır. Pekiştirme tedavisinin kısa sürmesi dental ve/veya iskeletsel nükslerle sonuçlanabilmektedir.

Çalışmamızın amacı sistemik olarak uygulanan zoledronik asitin ekspansiyon sonrasında rat sagittal suturundaki kemik formasyonu ve relaps üzerine olan etkilerini radyolojik, histolojik ve immünohistokimyasal olarak araştırmaktır.

Çalışmamızda 36 adet Wistar ratı kullanılmıştır. 12'şerli 3 grup oluşturulduktan sonra ilk gruba ekspansiyon işlemi sonrasında subkütan olarak serum fizyolojik solüsyonu enjekte edilmiştir. Retansiyon apareyi takıldıktan sonra denekler 14 günlük retansiyon döneminde bekletilmişlerdir. İkinci grupta da aynı prosedürler uygulanmış fakat retansiyon periyodu olarak 7 gün beklenmiştir. Üçüncü grupta ekspansiyon işlemi sonrasında 0,1 mg zoledronik asit serum fizyolojik ile dilüe edilerek deneklere subkütan olarak enjekte edilmiş ve 7 günlük retansiyon periyodu uygulanmıştır. Retansiyon periyodu sonrasında her gruptan 6 fare histolojik değerlendirme için sakrifiye edilmiş, geri kalan 6 fare de relapsın değerlendirmesi amacı ile yedi gün daha takip edilmiştir. Sagittal suturda açılan delikler arası mesafeler başlangıçta (T1), ekspansiyon

periyodunun sonunda (T2), retansiyon periyodundan sonra (T3) ve relaps periyodu sonunda (T4) olmak üzere bilgisayarlı tomografi cihazı ile ölçülmüştür.

Retansiyon dönemi sonrasında elde edilen histolojik ve radyolojik bulgulara göre zoledronik asit kemik yapımını stimüle ederek ekspansiyon bölgesinde daha hızlı kemik oluşumu sağlamıştır. Relaps oranlarını karşılaştırdığımızda en az relaps zoledronik asit grubunda görülmüştür.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre ekspansiyon sonrası sistemik zoledronik asit uygulaması ile retansiyon süresinin kısaltılabileceği ve oluşabilecek relapsın azaltılmasının sağlanabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bifosfonatlar, ekspansiyon, relaps, zoledronik asit

8. SUMMARY

Öztürk F. Effects of systemically applied zoledronic acid on osteoblastic bone formation and relapse at rat sagittal suture after expansion. Cumhuriyet University Graduate School of Health Sciences, Ph.D. Thesis in Orthodontics, Sivas, 2008

In treatment of maxillary transversal deficiency cases, one of the options is expansion of the narrow maxilla. After expansion, retention is needed to maintain the achieved results. If the retention phase continues for a short time, dental and/or skeletal relapses may occur.

The aim of this study was to investigate the effects of systemically applied zoledronic acid on osteoblastic bone formation and relapse at rat sagittal suture after expansion.

For this experiment, 36 wistar rats were used. 3 groups were composed by allocating the rats in twelves. In the first group saline solution was given subcutaneously after expansion and the retention period lasted for 14 days. In the second group, saline solution was given subcutaneously as same as the first group, but the retention period lasted for 7 days. In the third group, 0.1mg zoledronic acid diluted with saline solution and was given subcutaneously after expansion and the retention period lasted for 7 days. Computed tomography measurements were taken in the beginning (T1), after expansion period (T2), after retention period (T3), and after relapse period (T4). After retention period, 6 rats from each group were sacrificed for histological assessment and 6 rats were remained for observing the relapse period.

According to the histological and radiological findings, zoledronic acid stimulated bone formation. When we compared the relapse ratios, minimum relapse was observed in the zoledronic acid group.

As a result of our study, by applying zoledronic acid after expansion, the retention period can be shortened and relaps can be reduced.

Key Words: Bisphosphonates, expansion, relapse, zoledronic acid

9. KAYNAKLAR

1. Adachi H, Igarashi K, Mitani H, Shinoda H. (1994): Effects of topical administration of a bisphosphonates (risedronate) on orthodontic tooth movements in rats. *J Dent Res.* 73: 1478-1486.
2. Akarırmak Ü. (1999): Osteoporoz tedavisinde bifosfonatlar ve deneysel tedaviler. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Osteoporoz Sempozyumu. 91-99.
3. Akay T. Genel histoloji. (2001): Palme yayıncılık. Ankara. 126-149.
4. Alpern MC, Yurosko JJ. (1987): Rapid palatal expansion in adults with and without surgery. *Angle Orthod.* 57: 245-263.
5. Altundal H. (1999): Alendronatın dişçekimi sonrası processus alveolariste oluşan rezorbsiyona etkisi. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD Doktora Tezi.
6. 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.
7. 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.
8. Angell EC. (1860): Treatment of irregularities of the permanent or adult teeth. *Dental Cosmos* 1.540-544.(Alınmıştır, Haas AJ.1961): Rapid expansion of the maxillary dental arch and nasal cavity by opening the midpalatal suture. *Angle Orthod.* 31.73-91

9. Aparicio A, Gardner A, Tu Y, Savage A, Berenson J, Lichtenstein A. (1998): In vitro cytoreductive effects on multiple myeloma cells induced by bisphosphonates. *Leukemia*. 12: 220–229.
10. Aras A, Sürücü R. (1990): Oklüzal ısırma düzlemi taşıyan modifiye haas apareyi ile hızlı üst çene genişletmesi etkilerinin karşılaştırmalı incelenmesi. *Türk Ortodonti Dergisi*. 3: 14-20.
11. Astrom E, Soderhall S. (1998): Beneficial effect of bisphosphonate during five years of treatment of severe osteogenesis imperfecta. *Acta Paediatr*. 87: 64–68.
12. Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y, Poveda R, Milian MA, Sanchis JM, et al. (2005): Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy series of 10 cases. *J Oral Pathol*. 34: 120–123.
13. Barber AF, Sims MR. (1981): Rapid maxillary expansion and external root resorption in man: A scanning electron microscope study. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 79: 630-652.
14. Başçiftçi FA, Karaman AI. (2002): Effects of a modified acrylic bonded rapid maxillary expansion appliance and vertical chin cap on dentofacial structures. *Angle Orthod*. 72: 61-71.
15. Baykara C. (1999): Banded ve bonded rapid palatal ekspansiyon apareylerinin dentofasiyal sistemdeki etkilerinin karşılaştırılması. Doktora Tezi, H Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
16. Bell HW, Epker BN. (1976): Surgical-orthodontic expansion of the maxilla. *Am J Orthod*. 70: 517-528.

17. Bell RA, LeCompte EJ.(1981): The effects of maxillary expansion using a quadhelix appliance during the deciduous and mixed dentitions. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 79: 152-161.
18. Bell RA. (1982): A review of maxillary expansion in relation to rate of expansion and patient's age. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 81: 32-37.
19. Benford HL, Frith JC, Auriola S, Mönkkönen J, Rogers MJ. (1999): Farnesol and geranylgeraniol prevent activation of caspases by aminobisphosphonates: biochemical evidence for two distinct pharmacological classes of bisphosphonate drugs. *Mol Pharmacol.* 56: 131-140.
20. Berenson JR, Lichtenstein A, Porter L, Dimopoulos MA, Bordoni R, George S et al. (1998): Long-term pamidronate treatment of advanced multiple myeloma patients reduces skeletal events. *J Clin Oncol.* 16: 593-602.
21. Biederman W, Chem B. (1973): Rapid correction of class III malocclusion by midpalatal expansion. *Am J Orthod.* 63: 47-55.
22. Binkley N, Kimmel D, Bruner J, Haffa A, Davidowitz B, Meng C et al (1998): Zoledronate prevents the development of absolute osteopenia following ovariectomy in adult rhesus monkeys. *J Bone Miner Res.* 13: 1775–1782.
23. Bishara SE, Staley RN. (1987): Maxillary Expansion: Clinical implications. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 91: 3-14.
24. Body JJ, Lortholary A, Romieu G, Vigneron AM, Ford J (1999): A dose-finding study of zoledronate in hypercalcemic cancer patients. *J Bone Miner Res.* 14: 1557–1561.

25. Boissier S, Ferreras M, Peyruchaud O, Magnetto S, Ebetino FH, Colombel M (2000): Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *Cancer Res.* 60: 2949–2954.
26. Borba V.Z.C, Paz-filho G, Kulak C.A.M, Seibel M.J, Bilezikian J.P. (2007): Bone turnover 18 months after a single intravenous dose of zoledronic acid. *International Journal of Clinical Practice.* 61: 1058-1062.
27. Brudvik JS, Nelson DR. (1981): Adult palatal expansion prosthesis. *J. Prosth. Dent.* 43: 315. (Alınmıştır, Alpern MC, Yurosko JJ. (1987): Rapid palatal expansion in adults with and without surgery. *Angle Orthod.* 57: 245-263.
28. Brunsvold MA, Chaves ES, Kornman KS, Aufdermorte TB, Wood R. (1992): Effects of a bisphosphonate on experimental periodontitis in monkeys. *J Periodontol.* 63: 825-830
29. Carter GD, Goss AN. (2005): Bisphosphonates and avascular necrosis of the jaw a possible association. *Med J Aust.* 182: 413–415
30. Chaconas S, Caputo AA. (1982): Observation of orthopedic force distribution produced by maxillary orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 82: 492-501.
31. Chang J. ODS postmarketing safety rev. ODS PID D040283, bisphosphonates, osteonecrosis and osteomyelitis, 2004. Available from:URL:http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/ac/05/briefing/2005-4095B2_03_04-FDA-TAB3.
32. Cireli E. Genel Histoloji Hücre ve Dokular. (1976): Ege Üniversitesi Matbaası. İzmir. 238-256.

33. Cleall JF, Bayne DI, Posen JM, Subtelny JD. (1965): Expansion of the midpalatal suture in the monkey, *Angle Orthod.* 35: 23-25. (Alınmıştır, Lines PA, (1975): Adult rapid maxillary expansion with corticotomy *Am J Orthod.* 44-56.
34. Cotton LA. (1978): Slow maxillary expansion, skeletal versus dental response to low magnitude force in *Macaca Mulatta*. *Am J Orthod.* 73: 1-23.
35. Da Silva Filho OG, Lara TS, Da Silva HC, Bertoz FA. (2006): Post expansion evaluation of the midpalatal suture in children submitted to rapid palatal expansion: a CT study. *J Clin Pediatr Dent.* 31: 142-8.
36. Da Silva Filho OG, Lara TS, De Almeida AM, Da Silva HC. (2005): Evaluation of the midpalatal suture during rapid palatal expansion in children: a CT study. *J Clin Pediatr Dent.* 29: 231-8.
37. Danziger MB, Kumar A, DeWeese J. (1995): Fractures after femoral lengthening using the Ilizarov method. *J Pediatr Orthop.* 15: 220-223.
38. Darı O. (2002): Sıçanlarda midpalatal ekspansiyon uygulamasında düşük doz laser etkilerinin incelenmesi. Doktora tezi. Dicle Üni. sağlık bilimleri enstitüsü. Diyarbakır.
39. Denissen H, Martinetti R, Lingen A, Hoof A. (2000): Normal osteoconduction and repair in and around submerged highly bisphosphonate- complexed hydroxiapatite implants in rat tibiae. *J Periodontol.* 71: 272-278.
40. Denissen H, Montanari C, Martinetti R, Lingen A, Hoof A. (2000): Alveolar bone response to Submerged highly Bisphosphonate-complexed hydroxyapatite implants. *J Periodontol.* 71: 279-286.

41. Derenne S, Amiot M, Barille S, Collette M, Robillard N, Berthaud B et al (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: 2048-2056.
42. Diego R, Ornella D'Orto, Davide Pagani, Alessandro Agazzi, Umberto Marzano, Giancarlo Derada Troletti et al. (2007): Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a therapeutic dilemma *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 103: e1-e5.
43. Dixon RB, Tricker ND, Garetto LP. (1997): Bone turnover in elderly canine mandible and tibia (IADR abstract #2579). *J Dent Res.* 76: 336.
44. Durie B, Katz M, Crowley J. (2005): Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates (letter). *New Engl J Med.* 353: 99-102.
45. Ekström C, Henrikson CO, Jensen R. (1977): Mineralization in the midpalatal suture after orthodontic expansion. *Am J Orthod.* 71: 449-455
46. Ertekin FH, Onbaşı KT, Yaradanakul S, Öner C. (1999): Postmenapozal Osteoporozda Etidronat ve Alendronat Tedavisinin Karşılaştırılması Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 24: 125-137.
47. Evans CE, Braidman IP (1994): Effects of two novel bisphosphonates on bone cells in vitro. *Bone Miner.* 26: 95-107.
48. Fang TD, Nacamuli RP, Song HM, Fong KD, Warren SM, Salim A et al. (2004): Creation and characterization of a mouse model of mandibular distraction osteogenesis. *Bone.* 34: 1004-1012.
49. Fleisch H. (1993): Biphosphonates in Osteoporosis. An Introduction *Osteoporosis Int.* 3: 3-5.

50. Garib DG, Henriques J'F, Janson G, de Freitas MR; Fernandes AY. (2006): Periodontal effects of rapid maxillary expansion with tooth-tissue-borne and tooth-borne expanders: a computed tomography evaluation. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 129: 749-58.
51. Garib DG, Henriques J'F, Janson G, de Freitas MR, Coelho RA. (2005): Rapid Maxillary Expansion—Tooth Tissue-Borne Versus Tooth-Borne Expanders: A Computed Tomography Evaluation of Dentoskeletal Effects. *Angle Orthod.* 75: 548-557.
52. 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.
53. 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.
54. Graber TM, Swain BF. (1985): *Orthodontics current principles and techniques.* The Mosby Company, St Louis, Toronto, Princeton.
55. Green JR, Müller K, Jaeggi KA. (1994): Preclinical pharmacology of CGP 42'446, a new, strong, heterocyclic bisphosphonate compound: *J Bone Miner Res.* 9: 745–751.
56. Green JR, Seltenmeyer Y, Jaeggi KA, Widler L (1997): Renal tolerability profile of novel, potent bisphosphonates in two short-term rat models: *Pharmacol Toxicol.* 80: 225–230.

57. Greenbaum KR, Zaccrisson BU. (1982): The effect of palatal expansion therapy on the periodontal supporting tissues. *Am J Orthod.* 81: 12-21.
58. Guarneri V, Donati S, Nicolini M, Givannelli S, D'Amico R, Conte PF. (2005): Renal safety and efficacy of i.v. bisphosphonates in patients with skeletal metastases treated for up to 10 years. *Oncologist.* 10: 842-848.
59. Haas AJ. (1959): Gross reactions to the widening of the maxillary dental arch of the pig by splitting the mid palatal suture. *Am J Orthod.* 45: 868-869.
60. Haas AJ. (1961): Rapid expansion of the maxillary dental arch and nasal cavity by opening the mid palatal suture. *Angle Orthod.* 31: 73-90.
61. Haas AJ. (1965) The treatment of maxillary deficiency by opening mid palatal suture. *Angle Orthod.* 35: 200-217.
62. Haas AJ. (1970): Palatal Expansion: just the beginning of dentofacial orthopedics. *Am. J. Orthod.* 57: 219-255.
63. Haas AJ. (1980): Long-term posttreatment evaluation of rapid palatal expansion. *Angle Orthod.* 50:189-217.
64. Halazonetis DJ, Katsavrias E, Spyropoulos MN. (1994): Changes in cheek pressure following rapid maxillary expansion. *Eur. J. Orthod.* 16: 295-300.
65. Hanada K, Solchaga LA, Caplan AI, Hering TM, Goldberg VM, Yoo Ju, et al. (2001) BMP-2 induction and TGF-beta 1 modulation of rat periosteal cell chondrogenesis. *J. Cell. Biochem.* 81: 284–294.
66. Hellstein JW, Marek CL, Pharm BS. (2005): Bisphosphonate osteochemonecrosis (bis-phossy jaw) is this phossy jaw of the 21st century?, *J. Oral Maxillofac. Surg.* 63: 682–689.

67. Hicks EP. (1978): Slow maxillary expansion. *Am J Orthod.* 73: 121-141.
68. Hortobagyi GN, Theriault RL, Porter L, Blayney D, Lipton A, Sinoff C, et al. (1996): Efficacy of pamidronate in reducing skeletal complications in patients with breast cancer and lytic bone metastases. *N Engl J Med.* 335: 1785-1791.
69. Hou B, Fukai N, Olsen BR. (2007): Mechanical force-induced midpalatal suture remodeling in mice. *Bone.* 40: 1483-1493.
70. Igarashi K, Mitani H, Adachi H, Shinoda H. (1994): Anchorage and retentive effects of a bisphosphonate (AHBuBP) on tooth movement in rats. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 106: 279-89.
71. Im GI, Qureshi SA, Kenney J, Rubash HE, Shanbhaq AS. (2004): Osteoblast Proliferation and Maturation by bisphosphonates. *Biomaterials.* 25: 4105-4115.
72. Isaacson RJ, Ingram AH. (1964): II. Forces present during treatment. *Angle Orthod.* 34:261.
73. Isefuku S, Joyner CJ, Simpson AHRW. (2000): A murine model of distraction osteogenesis. *Bone.* 27: 661–665.
74. Jagdev SP, Coleman RE, Shipman CM, Rostami-h A, Croucher PI. (2001): The bisphosphonate, zoledronic acid, induces apoptosis of breast cancer cells: evidence for synergy with paclitaxel. *Br J Cancer.* 20, 84: 1126–1134.
75. Janquerira LC, Carnerio J *Basic Histology.* (2005): Barış Kitabevi. İstanbul. 170-195.
76. Jeffcoat MK. (2006): Safety of oral bisphosphonates: controlled studies on alveolar bone. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 21: 349-353.

77. Kanekawa M, Shimizu N. (1998): Age-related changes on bone regeneration in midpalatal suture during maxillary expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 114: 646-653.
78. Kayaalp O. (2000): Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Cilt:2, Basım:9, 1360-1362.
79. Kiely P, Ward K, Bellemore C M, Briody J, Cowell CT, Little DG. (2007): Bisphosphonate rescue in distraction osteogenesis: a case series. *J Pediatr Orthop.* 27: 467-471.
80. Kim T, Yoshida Y, Yokoya K, Sasaki T. (1999): An ultrastructural study of the effects of bisphosphonate administration on osteoclastic bone resorption during relapse of experimentally moved rat molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 115: 645-653.
81. Krebs AA. (1959): Expansion of midpalatal suture studied by means of metallic implants. *Acta. Odontol. Scand.* 17: 491-501. (Alınmıştır, Bishara SE, Staley RN. (1987): Maxillary Expansion: Clinical implications. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 91: 3-14).
82. Kutsal YG. Osteoporoz. (1998): Roche, İstanbul. 207-233.
83. Kutsal YG. (2000): Osteoporoz .In :Beyazova M,Kutsal YG (ed).Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon. Güneş Kitabevi. Ankara. 2.cilt: 1872-1893.
84. Kutsal YG. (2004): Osteoporozda kemik kalitesi. Güneş Kitabevi. Ankara. 331-354.
85. Langford SR, Sims MR. (1982): Root surface resorption, repair, and periodontal attachment following rapid maxillary expansion in man. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 81: 108-115.

86. Lee K, Sugiyama H, Imoto S, Tanne K. (2001): Effects of bisphosphonate on the remodeling of rat sagittal suture after rapid expansion. *Angle Orthod.* 71: 265-273.
87. Lenz JH, Steiner-krammer B, Schmidt W, Fietkau R, Mueller PC, Gundlach KK. (2005): Does avascular necrosis of the jaws in cancer patients only occur following treatment with bisphosphonates? *J Craniomaxillofac Surg.* 33: 395-403.
88. Leite AF, Figueiredo PT, Melo NS, Acevedo AC, Cavalcanti MG, Paula LM, et al. (2006): Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. Report of a case and literature review *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* [102](#): 14-21
89. Lin JH. (1996): Bisphosphonates: A review of their pharmacokinetic properties. *Bone.* 75-85
90. Lipton A, Theriault RL, Hortobagyi GN, Simeone J, Knight RD, Mellars K, et al. (2000): Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long-term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer.* 88: 1082-1090.
91. 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.
92. Little DG, Cornell MS, Hile MS, Briody J, Cowell CT, Bilston L. (2001): Effect of pamidronate on distraction osteogenesis and fixator-related osteoporosis. *Injury.* 32: 14-20.

93. Liu L, Igarashi K, Haruyama N, Saeki S, Shinoda H, Mitani H. (2004): Effects of local administration of clodronate on orthodontic tooth movement and root resorption in rats. *Eur J Orthod.* 26: 469-473
94. Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Graham R, Russell G, Rogers MJ. (1998): Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res.* 13: 581-589.
95. Maduro JH, Pras E, Williemse PH, de Vries EG. (2003): Acute and longterm toxicity following radioteraphy alone or in combination with chemotherapy for locally advanced cervical cancer. *Cancer Treat Rev.* 29: 471-488.
96. Malmgren B, Aström E, Söderhall S. (2007): No osteonecrosis in jaws of young patients with osteogenesis imperfecta treated with bisphosphonates. *J Oral Pathol Med.* 2008;37:196-200
97. Marini JC. (2003): Do bisphosphonates make children's bones beter or brittle? *N Engl J Med.* 349: 423-426 .
98. Marx RE. (2003): Pamidronate (Aredia) and zolendronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg.* 61: 1115–1117 (letter).
99. Marx RE, Sawatari J, Fortin M, Broumand V. (2005): Bisphosphonate induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 63: 1567-75.

100. Masarachia P, Weinreb M, Balena R, Rodan GA. (1996): Comparison of the distribution of ³H-alendronate and ³H-etidronate in rat and mouse bones. *Bone*. 19: 281-290.
101. Mavrokokki T, Cheng A, Stein B, Goss A. (2007): Nature and Frequency of Bisphosphonate-Associated Osteonecrosis of the Jaws in Australia. *J Oral Maxillofac Surg*. 65: 415-423.
102. Melo MD, Obeid G. (2005): Osteonecrosis of the jaws in patients with a history of receiving bisphosphonate therapy. *J Am Dent Assoc*. 136: 1675-81.
103. Melsen, B (1972): A histological study of the influence of sutural morphology and skeletal maturation on rapid palatal expansion in children. *Trans Eur Orthod* 499–507.
104. Melsen B. (1975): Palatal growth study on human autopsy material. A histological microradiograph study. *Am J Orthod*. 68: 42-54.
105. Melsen B, Melsen F. (1982): The postnatal development of the palatomaxillary region studied on human autopsy material. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 82: 329-342.
106. Meraw SR, Reeve CM, Wollan PC. (1999): Use of alendronate in peri-implant defect regeneration. *J Periodontol*. 70: 151-158.
107. Mew J. (1983): Relapse following maxillary expansion. A study of 25 consecutive cases. *Am J Orthod*. 33: 56-61.
108. Migliorati CA (2003): Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. *J Clin Oncol*. 21: 4253-4254.

109. Miglioratti CA, Schubert MM, Peterson DE, Seneda LM. (2005): Bisphosphonate-associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bones. An emerging oral complication of supportive cancer therapy, *Cancer*. 104: 83–93.
110. Mitsuta T, Horiuchi H, Shinoda H. (2002): Effects of topical administration of clodronate on alveolar bone resorption in rats with experimental periodontitis. *J Periodontol*. 73: 479-486.
111. Miyawaki S, Forbes DP. (1987): The morphologic and biochemical effects of tensile force application to the interparietal suture of the sprague-dawley rat . *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 92: 123-133.
112. Miyazaki H, Hamanishi C, Yoshii T, Tanaka S (1997): Effect of a single intravenous dose of bisphosphonate (pamidronate) on tibial cortical bone after lengthening, *Acta Med Kinki Univ*. 22: 155-158.
113. Mommaertz MY. (1999): Transpalatal distraction as a method of maxillary expansion (technical note). *Br J Oral Maxillofac Surg*. 37: 268-72.
114. Moyers RE. (1988): *Handbook of orthodontics*. Chicago yearbook of Medical Publications.
115. Munday GR. (1993): Bone resorbing cells. In: Favus MJ (Ed). *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Second edition. Philadelphia. Lippincott-Raven Publishers. 25–32.
116. Mundy GR, Yoneda T. (1998): Bisphosphonates as anticancer drugs. *N Engl J Med*. 339: 398-400.
117. Orhan M. (1999): High Angle özellikli bireylerde rapid maksiller ekspansiyonun etkileri. Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi. Uzmanlık tezi. Konya. 50.

118. Pampu AA. (2005): Zoledronik Asitin Distraksiyon Osteogenezis Ve Fiksatorle İlişkili Osteoporozis Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD Doktora Tezi.
119. Par JA, Garetto LP, Wohlford ME, Arbuckle GR, Roberts E. (1997): Sutural expansion using rigidly integrated endosseus implants: An experimental study in rabbits. *Angle Orthod.* 67: 283-290.
120. Pataki A, Müller K, Green JR, Ma YF, Li ON, Jee WS. (1997): Effects of short-term 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.
121. Poole T (1987) *The ufaw handbook on the care and management of laboratory animals*. Sixth Edition. Harlow: Longman Group, U.K. Ltd. Page 322.
122. 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
123. Reddy MS, Waetherford TW, Smith CA, West BD, Jeffcoat MK, Jacks T.M. (1995): Alendronat treatment of Naturally-Occuring Periodontitis in beagle dogs. *J Periodontol.* 66: 211-217.
124. Rinchuse Daniel J, Rinchuse Donald J, Sosovicka MF, Robison JM, Pendleton R. (2007): Orthodontic treatment of patients using bisphosphonates: A report of 2 cases. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 131: 321-326.
125. Ross MH, Rowell LJ. (1989) *Histology a text and atlas*. Williams and Wilkins. Maryland. 45-73.

126. 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: 527-34.
127. Russell RG, Rogers MJ. (1999): Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone.* 25: 97-106.
128. Sahni M, Guenter HL, Fleisch H, Collin P, Martin TJ. (1993): Bisphosphonates act on bone resorption through the mediation of osteoblasts. *J Clin Invest.* 91: 2004–2011.
129. Saito S, Shimizu N. (1997): Stimulatory effects of low-power-laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 111: 525-532
130. Sanna G, Zampino MG, Pelosi G, Nolè F, Goldhirsch A. (2005): Jaw avascular bone necrosis associated with long-term use of bisphosphonates. *Ann Oncol.* 16: 1207–1208.
131. Sannomiya EK, Macedo MM, Siqueira DF, Goldenberg FC, Bommarito S (2007): Evaluation of optical density of the midpalatal suture 3 months after surgically assisted rapid maxillary expansion. *Dentomaxillofac Radiol.* 36: 97-101.
132. Sarıdoğan ME. (2004): Metabolik kemik hastalıkları. Alınmıştır: Oğuz H, Dursun E, Dursun N (ed), *Tıbbi Rehabilitasyon İstanbul, Nobel.* 1199-1220
133. Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H, Thompson DD, et al. (1991): Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest.* 88: 2095-105.

134. Sawada M, Shimizu N. (1996): Stimulation of bone formation in the expanding mid-palatal suture by transforming growth factor- β 1 in the rat. *Eur J Orthod.* 18: 169-179.
135. Schwartz HC (1982): Osteonecrosis of the jaws: a complication of chemotherapy. *Head Neck Surg.* 4: 251-253.
136. Schwartz HC. (2004): Osteonecrosis and bisphosphonates: correlation versus causation. *J Oral Maxillofac Surg.* 62:763-764.
137. Schwartz HC. (2005): Bisphosphonate-associated osteonecrosis of jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 63: 1555-1556.
138. Schwartz JE. (2005): Ask us: Some drugs affect tooth movement. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 127:644
139. Simpson AH, Kenwright J. (2000): Fracture after distraction osteogenesis: *J Bone Joint Surg Br.* 82: 659-665.
140. Subtelny JD. (1980): Oral respiration, facial maldevelopment and corrective dentofacial orthopedics. *Angle Orthod.* 50: 147-164.
141. Sugiyama RM. (1968): Craniofacial changes resulting from expansion of the midpalatal suture in the *Macaca mulata* monkey as revealed by roentgenographic analysis. (MS Thesis). Loma Linda University.
142. Spolyar JL. (1984): The design, fabrication, and use of a full-coverage bonded rapid maxillary expansion appliance. *Am J Orthod.* 86: 136-145.
143. Spurrier SW, Hall SH, Joondeph DR, Shapiro PA, Reidel RA. (1990): A comparison of apical root resorption during orthodontic treatment in endodontically treated and vital teeth. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 97: 130-134.

144. Starnbach HK, Cleall JF. (1964): The effects of splitting the midpalatal suture on the surrounding structures. *Am J Orthod.* 31: 327-327.
145. Steenvoorden GP, van de Velde JP, Prah-Andersen B. (1990): The effect of duration and magnitude of tensile mechanical forces on sutural tissue in vivo. *Eur J Orthod.* 12: 330-339.
146. Stern MD. (1975): In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature.* 254: 56-58. (Alınmıştır, Ogart LM. (1994): Laser Doppler Flowmetry in Vitality Testing of Teeth. *Realites Cliniques.* 5, 283-291).
147. Storey A. (1973): Tissue response to the movement of bones. *Am J Orthod.* 64: 229-247.
148. Takahashi M, Yukata K, Matsui Y, Abbaspour A, Takata S, Yasui N. (2006): Bisphosphonate modulates morphological and mechanical properties in distraction osteogenesis through inhibition of bone resorption. *Bone.* 39: 573-581.
149. Takushima A, Kitano Y, Harii K. (1998): Osteogenic potential of cultured periosteal cells in a distracted bone gap in rabbits. *J Surg Res.* 78: 68-77.
150. Tanaka E, Miyawaki Y, del Pozo R, Tanne K. (2000): Changes in the biomechanical properties of the rat interparietal suture incident to continuous tensile force application. *Archives of Oral Biology.* 45: 1059-1064.
151. Tanvetyanon T, Stiff PJ. (2006): Management of the adverse effects associated with intravenous bisphosphonates. *Ann Oncol.* 17: 897-907.
152. Tekelioğlu M. Genel Tıp Histolojisi. (1993): Güneş Kitabevi, Ankara. 138-147.
153. Ten Cate AR, Freeman E, Dickinson JB. (1977): Sutural development structure and its response to rapid expansion. *Am J Orthod.* 71: 622-636.

154. Terespolsky MS, Brin I, Harari D, Steigman S. (2002): The effect of functional occlusal forces on orthodontic tooth movement and tissue recovery in rats. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 121: 620-628.
155. Timms DJ. (1980): A study of basal movement with rapid maxillary expansion. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 77: 500-507.
156. Timms DJ. (1981): After rapid maxillary expansion (theory and practise) in rapid maxillary expansion. Chicago Quintessence Publishing Co Inc. 59-76
157. Tuncer BB. (2007): Bifosfonatlar ve dişhekimliği. Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi.16: 57-60
158. Türker N. (2003): Alveolar distraksiyon osteogenezisinde kemik rejenerasyonunun histolojik ve radyolojik olarak incelenmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Doktora Tezi.
159. Tyrell CJ, Collinson M, Madsen EL, Ford JM, Coleman T. (1994): Intravenous pamidronate: Infusion rate and safety. *Annals of Oncology.* 5: 27-29
160. Ülgen M. (2000): Ortodontik anomaliler, sefalometri, etiyoloji, büyüme ve gelişim, tanı. T.C Yeditepe Üniversitesi Yayınları. İstanbul. 244-245
161. Van Beek ER, Löwik CW, Ebetino FH, Papapoulos SE. (1998) Binding and antiresorptive properties of heterocyclecontaining bisphosphonate analogs: structure-activity relationships. *Bone.*23: 437-442.
162. Vardimon AD, Brosh T, Spiegler A, Lieberman M, Pitaru S. (1998): Rapid palatal expansion; Part 1. Mineralization pattern of the midpalatal suture in cats. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 113: 371-178.

163. Vardimon AD, Graber TM, Voss LR, Lenke J. (1991): Determinants controlling iatrogenic external root resorption and repair during and after palatal expansion. *Angle Orthod.* 61: 113-124.
164. Vinholes J, Guo CY, Purohit OP, Eastell R, Coleman RE. (1996): Metabolic effects of pamidronate in patients with metastatic bone disease. *Br J Cancer.*73: 1089-1095.
165. Von Knoch F, Jaquier C, Kowalsky M, Schaeren S, Alabre C, Martin I, et al. (2005): Effects Of Bisphosphonates On Proliferation And Osteoblast Differentiation Of Human Bone Marrow Stromal Cells. *Biomaterials.* 26, 6941–6949.
166. Wang J, Goodger NM, Pogrel MA. (2003) Osteonecrosis of the jaws associated with cancer chemotherapy. *J Oral Maxillofac Surg.* 61: 1104–1107.
167. Warren DW, Hershey HG, Turvey TA, Hinton VA, Hairfield WM. (1987): The nasal airway following maxillary expansion. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 91: 111-116.
168. Watts NB. (2001): Treatment of Osteoporosis with Bisphosphonates. *Rheum. Dis Clin North Am.* 27: 197-208.
169. Wertz RA. (1970): Skeletal and dental changes accompanying rapid midpalatal suture opening. *Am J Orthod.* 58: 41-66.
170. Wertz RA, Dreksin M.(1977): Midpalatal suture opening: A normative study. *Am J Orthod.* 71: 367-381.
171. Williams PR, Smith NC, Cooke-Yarborough C, Little DG (2001): Bisphosphonates and nephrocalcinosis in a rabbit leg lengthening model: a histological and therapeutic comparison. *Pharmacol Toxicol.* 89: 149-152.

172. Woo S, Hellstein JW, Kalmar JR. (2006): Systemic review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med.* 144: 753-61.
173. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, Bellahcene A, Devy L, Foidart JM et al (2002): Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol xp Ther.* 302, 1055–1061.
174. Yaffe A, Iztkevich 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; 84-889.
175. Yen EH, Yue CS, Suga DM. (1989): Effect of force level on synthesis of type III and type I collagen in mouse interparietal suture. *J Dent Res.* 68: 1746-1751.
176. Yılmaz C. (1997): Tüm yönleriyle osteoporoz. Bilimsel Tıp Yayınevi: Ankara. 5–126.
177. Zahrowski JJ. (2007): Bisphosphonate treatment: an orthodontic concern calling for a proactive approach. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 131: 311-320.
178. Zavras AI, Zhu S. (2006): Bisphosphonates are associated with increased risk for jaw surgery in medical claims data: is it osteonecrosis? *J Oral Maxillofac Surg.* 64: 917-923,
179. Zimring JF, Isaacson RJ. (1965): Forces produced by rapid maxillary expansion III. Forces present during retention. *Angle Orthod.* 35: 178-186.

10. ÖZGEÇMİŞ

14.07.1979 tarihinde Van'da doğdu. Öğrenim hayatına Erzurum Kültür Kurumu İlköğretim okulunda başladı. Orta öğrenimini sırasıyla Aksaray Kılıçaslan Orta Okulu ve Ankara Deneme lisesinde sürdürdükten sonra lise eğitimini Ankara Aydınlikevler Süper Lisesinde tamamladı. Yüksek öğrenimine 1997 yılında Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesinde başladı ve 2002'de mezun oldu. 2002 Eylül ayında gönüllü olarak başladığı Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'nda 2003 Eylül ayında doktora eğitimine başladı. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.

11.TEŞEKKÜR

Her zaman, her konuda, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sayın hocalarım Doç.Dr. Cenk DORUK, Doç.Dr. Hasan BABACAN, Doç.Dr. A.Altuğ BIÇAKÇI ve Yrd.Doç.Dr. Oral SÖKÜCÜ'ye, çalışmamda emeği geçen Doç.Dr. Sevinç İNAN'a, Yrd.Doç.Dr. Cesur GÜMÜŞ'e, veteriner hekim Yücel YALMAN'a, deney hayvanları laboratuvarı sorumlusu Seyfettin ŞENER'e, bölümümüz teknisyeni Zafer KARAÇINAR'a, radyoloji teknisyeni Sadegül Erdem SOYDAN'a, bütün bölüm arkadaşlarıma, istatistik bilgisini ve deneyimlerini esirgemeyen Yrd.Doç.Dr. Ziyet ÇINAR'a, destekleri için eşime ve aileme, psikolojik motivasyonu için kızım İrem'e teşekkür ederim.