

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**OSTEOPOROTİK RAT MODELİNDE ZOLEDRONİK
ASİT'İN DEFİKT TAMİRİNDEKİ ETKİSİ: HİSTOLOJİK,
STEREOLOJİK VE RADYOGRAFİK DEĞERLENDİRME**

DOKTORA TEZİ

Dt. Akif TÜRER

**Samsun
Şubat-2013**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**OSTEOPOROTİK RAT MODELİNDE ZOLEDRONİK
ASİT'İN DEFİKT TAMİRİNDEKİ ETKİSİ: HİSTOLOJİK,
STEREOLOJİK VE RADYOGRAFİK DEĞERLENDİRME**

DOKTORA TEZİ

Dt. Akif TÜRER

Danışman: Yrd. Doç. Dr. İsmail ŞENER

**Samsun
Şubat-2013**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Dt. Akif TÜRER tarafından Yrd. Doç. Dr. İsmail ŞENER Danışmanlığında hazırlanan OSTEOPOROTİK RAT MODELİNDE ZOLEDRONİK ASİT'İN DEFEKT TAMİRİNDEKİ ETKİSİ: HİSTOLOJİK, STEREOLOJİK VE RADYOGRAFİK DEĞERLENDİRME başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 11/02/2013 tarihinde yapılan sınav ile Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Sinan AY, Gaziantep Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. B. Zuhale ALTUNKAYNAK, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Nilüfer ÖZKAN, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. İsmail ŞENER, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. M. Cihan BERKET, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

/ /

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, bana her daim yol gösteren danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. İsmail ŞENER' e,

Tezime olan katkılarından dolayı tez izleme jürimdeki Sayın hocalarım Yrd. Doç. Dr. M. Cihan BEREKET' e ve Doç. Dr. B. Zuhâl ALTUNKAYNAK' a,

Gösterdiği anlayış ve yardımlarından dolayı Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Nergiz YILMAZ' a,

Çalışmamın gerçekleştirilebilmesi için destek sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü'ne ve Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Üyelerine (proje no: PYO.DIS.1904.11.007),

Tez verilerimin istatistiksel olarak incelenmesinde yardımcı olan Sayın Öğr. Görv. Naci MURAT' a

Deneklerin overektomize edilmesinde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Murat FINDIK ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Serhan Serhat AY' a,

Akademisyen yönü ile benim için her zaman ayrı bir yere sahip olan Sayın Doç. Dr. Nilüfer ÖZKAN' a ve doktora öğrenimim boyunca gösterdikleri anlayış ve yardımları için Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalındaki tüm hocalarıma,

Doktora eğitimimde yardımlarını benden esirgemeyen ve çok şey öğrendiğim kıdemli asistanlarım Dr. Dt. Özgün ŞENYURT ve Dr. Dt. Uğur MERCAN' a, tezimin işleyiş sürecinde yanımda olup destek olan Dr. Dt. Umut BALLI' ya, Vet. Tek. S. Sinan BERK' e, Araş. görv. Mehmet Emin ÖNGER' e, Araş. görv. Gamze YAYLA' ya ve birlikte çok güzel günlerimin geçtiği bölüm arkadaşlarıma,

Bugüne gelmemde büyük pay sahibi olan anneme, babama ve desteğini her zaman hissettiğim kardeşime,

Hayatını benimle paylaşma fedakarlığını gösteren sevgili eşim Çiğdem COŞKUN TÜRER 'e ve olmazsa olmazım biricik kızım İdil TÜRER' e

Teşekkürler...

ÖZET

OSTEOPOROTİK RAT MODELİNDE ZOLEDRONİK ASİT'İN DEFEKT TAMİRİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ: HİSTOLOJİK, STEREOLOJİK VE RADYOGRAFİK DEĞERLENDİRME

Amaç: Osteoporoz, kemik remodelingindeki dengesizlik sonucu ortaya çıkan iskeletsel bir hastalıktır. Zoledronik asit (ZA) nitrojen içeren bir bifosfonattır ve osteoklast aktivitesini inhibe ederek kemik rezorpsiyonunu engeller. Bu çalışmanın amacı zoledronik asitin osteoporotik rat modellerinde oluşturulan kemik defekti iyileşmesi üzerine etkilerini incelemektir.

Materyal ve Metot: Tüm ratlara overektomi işlemi uygulandıktan 6 hafta sonra deneklerin kalvaryalarında steril serum fizyolojik irrigasyonu altında, trefin frez kullanılarak sagittal suturun bir kısmını da içine alacak şekilde 5 mm çapında defektler oluşturuldu. Operasyondan sonra 48 adet rat her grupta eşit sayıda hayvan olacak şekilde altı gruba ayrıldı. Grup 1 (kontrol), grup 2 (kontrol+ZA), grup 3 (otojen greft), grup 4 (otojen greft+ZA), grup 5 (Mineross), grup 6 (Mineross+ZA). Tüm hayvanlar operasyondan 8 hafta sonra sakrifiye edildi. Yeni kemik oluşumu, rezorbe olmadan kalan greft materyali ve bağ dokusu radyolojik, histolojik ve stereolojik olarak değerlendirildi.

Bulgular: Yapılan değerlendirmeler sonucunda 8. hafta sonunda grup 4 te yeni kemik oluşumunun en iyi düzeyde olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Sonuç: ZA, osteoklastik aktiviteyi inhibe ederek kemik apozisyonunu arttırmış ve rat kalvaryalarına uygulanan kemik greft materyalleri ile beraber yeni kemik oluşumunu stimüle etmiştir.

Anahtar kelimeler: kritik boyutta defekt; osteoporoz; otojen; yeni kemik; zoledronik asit

Akif TÜRER, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Şubat-2013

ABSTRACT

EFFECT OF ZOLEDRONIC ACID ON DEFECT REPAIRMENT IN OSTEOPOROTIC RAT MODELS: HISTOLOGICAL, STEREOLOGICAL AND RADIOGRAPHIC EVALUATION

Aim: Osteoporosis is a systemic skeletal disorder which results from an imbalance in bone remodelling. Zoledronic acid is a nitrogen-containing bisphosphonate that inhibits osteoclast activity and bone resorption. The aim of this study is to evaluate effect of zoledronic acid on bone defect healing in osteoporotic rat model.

Material and Method: All rats underwent bilateral ovariectomy. 6 weeks after ovariectomy. A 5-mm diameter critical size defect was made with a trephine used in a low-speed handpiece under continuous sterile saline irrigation. The defect included a portion of the sagittal suture. After operation forty-eight rats were divided into six groups: Group 1 (control), Group 2 (control+ZA), Group 3 (autogenous graft), Group 4 (autogenous graft+ZA), Group 5 (Mineross), Group 6 (Mineross+ZA). All animals were sacrificed at 8 weeks postoperative. New bone formation, the remaining bone graft particles and connective tissue were evaluated by radiographic, histologic and stereologic methods.

Results: Analysis showed that autogenous graft and zoledronic acid treated defects (Group 4) had significantly more new bone at 8 weeks compared with all other groups ($p < 0.05$).

Conclusions: Zoledronic acid enhances the new bone formation by bone graft in the rat calvarial defect model suggesting that the inhibition of the osteoclastic activity allows an increased rate of bone apposition.

Keywords: autogenous; critical size defect; osteoporosis; new bone; zoledronic acid

Akif TÜNER, PhD Thesis

Ondokuz Mayıs University Samsun, February-2013

SİMGELER VE KISALTMALAR

ZA	:Zoledronik asit
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü
DEXA	:Dual enerji X ray
KMY	:Kemik mineral yoğunluğu
SS	:Standart sapma
KMİ	:Kemik mineral içeriği
PTH	:Paratiroid Hromon
DKK	:Doruk kemik kütlesi
LRP5	:Lipoprotein reseptör ilişkili protein 5
SOST	:Sklerostin
OPG	:Osteoprotegerin
RANK	:NF- κ B reseptör aktivatörü
RANKL	:NF- κ B reseptör aktivatör ligandı
SERM	:Selektif östrojen reseptör modülatörleri
RKÇ	:Randomize klinik çalışma
FDA	:Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
ATP	:Adenozin trifosfat
FPP	:Farnesildifosfat
GGPP	:Geranilgeranildifosfat
β -CTx	:Serum β -C-telopeptitleri
BSAP	:Kemik spesifik alkalın fosfat
P1NP	:Tip 1 kollajen serum N- terminal propeptid
cAMP	:Siklik adenosin monofosfat
IGF	:İnsülin benzeri büyüme faktörü
TNF- α	:Tümör nekrotizan faktör alfa
TGF- α	:Tümör büyüme faktörü alfa
BHF	:Bölgesel hızlandırıcı fenomen
HIV	:İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
CJD	:Jakob- Creutzfeldt hastalığı
BMP	:Kemik morfojenik protein

PGDF	:Prostoglandin derived faktör
TGF - β	:Tümör büyüme faktörü beta
TAK1	:TGF- β aktive eden kinaz 1
TME	:Temporomandibular eklem
GİS	:Gastrointestinal sistem
IV	:İntravenöz
BRONJ	:Bifosfonatla ilişkili çene kemiği nekrozu

İÇİNDEKİLER	
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Osteoporoz	3
2.1.1. Tanımı ve Tarihçesi	3
2.1.2. Epidemiyoloji	4
2.1.3. Sınıflandırma	5
2.1.4. Risk Faktörleri	7
2.1.5. Patogenez.....	11
2.1.6. Tanı.....	13
2.1.7. Osteoporozun Çene Kemikleri Üzerine Etkisi	15
2.1.8. Tedavisi	16
2.2. Bifosfonatlar.....	21
2.2.1. Zoledronat (Zoledronik asit).....	23
2.3. Kemik	25
2.3.1. Kemik Zarları	26
2.3.2. Kemik Matriksi.....	28
2.3.1. Kemik Oluşumu.....	29
2.3.1. Kemik Greftleri	31
3. MATERYAL VE METOT	39
3.1. MinerOss Kemik Grefti.....	39
3.2. Overektomi Tekniği	40
3.3. Cerrahi Teknik	41
3.4. Radyografik İnceleme	43
3.5. Histolojik Değerlendirme.....	44
3.6. Stereolojik Yöntem	45
3.7. İstatistiksel Analiz.....	46
4. BULGULAR	47
4.1. Radyolojik Bulgular	47
4.2. Histolojik Bulgular.....	47
4.2.1. Grup 1 (Kontrol grubu)	47
4.2.2. Grup 2 (Yalnızca ZA uygulanan grup).....	48
4.2.3. Grup 3 (Otojen greft grubu)	48
4.2.4. Grup 4 (Otojen greft ve ZA uygulanan grup).....	49
4.2.5. Grup 5 (Mineross greft grubu)	49
4.2.4. Grup 6 (Mineross greft ve ZA uygulanan grup).....	50
4.2. Stereolojik Bulgular	51
4.3.1. Yeni Oluşan Kemik Hacmi	51
4.3.1. Bağ Dokusu Hacmi.....	52
4.3.1. Rezorbe Olmayan Greft Materyali Hacmi	53
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	70

EK-1 Etik Kurul Onayı	92
ÖZGEÇMİŞ	93

1.GİRİŞ

Kemik, yoğun damarlanmaya sahip ve yenilenme kabiliyeti yüksek olan bir dokudur. Bu sahip olduğu özelliklerine rağmen, travma, rezeksiyon veya patoloji sonucu oluşan segmental kemik defektleri ve açıklıklar maksillofasiyal cerrahlar için önemli sorunlar teşkil etmektedir (Koike ve ark., 2004; Kanczler ve Oreffo, 2008).

Kemik iyileşmesinde temel amaç, kendiliğinden ve hızlı bir şekilde iyileşmeyi sağlamaktır. Uygun büyüklükte kemik defektlerinde bunu sağlamak mümkün olsa da; farklı vücut bölgelerinde, belli büyüklüğün üzerindeki kemik defektleri kendiliğinden iyileşmemekte ve cerrahiye ihtiyaç göstermektedir (Frame, 1980; Dodde ve ark., 2000; Aybar ve ark., 2005).

Defekt tamiri tedavisinde en sık başvurulanan cerrahi yöntem kemik greftleme işlemidir. Her yıl tüm dünyada yaklaşık 2.2 milyon greftleme operasyonunun gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Eastlund, 1995; Lewandrowski ve ark., 2000).

Kemik defekt tamirinde kullanılan ideal greft materyali osteoindüktif, osteokondüktif ve osteogenetik özelliklere sahip olmalıdır (Urist, 1965). Otojen greftler bu üç özelliğe sahip olan tek kemik greft materyalleridir ve bu yüzden altın standart olarak değerlendirilirler ancak sınırlı miktarda elde edilebilmeleri, donör saha morbiditesi, uzun süreli postoperatif ağrı ve hareket kısıtlılığı görülebilmesi gibi nedenlerden dolayı farklı greft materyalleri de defekt tamirinde kullanılmaya başlanmıştır. Otojen kemik greft materyallerine alternatif olarak tercih edilen greft çeşitlerinden biride allojenik greftlerdir. Allojenik kemik greft materyalleri aynı türün farklı bireylerinden ve genellikle kadavra orjinli olarak elde edilirler (Precheur, 2007).

Osteoporoz, günümüzde tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkan metabolik bir kemik hastalığıdır. Özellikle ortalama yaşam süresinin uzaması ve modern yaşam tarzı bu hastalığın görülme oranını arttırmaktadır. Osteoporozda kemik yapım-yıkım dengesi bozulur ve bu durum kemik iyileşmesini olumsuz etkiler (Sweet ve ark., 2009).

Osteoporozun medikal tedavisinde bifosfonatlar sıkça kullanılmaktadır. Bifosfonatlar genellikle osteoklastların aktivitelerini inhibe ederek kemik rezorpsiyonu

üzerine etki ederler (Sahni ve ark., 1993). Zoledronik asit (ZA) halka yapısında ikinci bir azot atomu içeren üçüncü nesil bifosfonatlardandır. İmidazol türevidir ve güçlü bir bifosfonattır (Green ve ark., 1994). ZA'nın yeni kemik üzerine etkisini inceleyen çalışmalar bulunmasına rağmen, osteoporotik bir modelde, yeni oluşan kemik üzerine etkisini stereolojik olarak inceleyen hiçbir araştırma bulunmamaktadır.

Çalışmamızın amacı overektomize edilerek osteoporotik hale getirilen rat modellerinde sistemik uygulanan ZA'nın kemik defekt tamiri üzerindeki etkilerini histolojik, stereolojik ve radyolojik olarak incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OSTEOPOROZ

2.1.1. Tanımı ve tarihçesi

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi ve kemik dokusu yapısının bozulması sonucu kemik kırılabilirliği ve kırığa yatkınlığında artış ile karakterize olan bir sistemik iskelet hastalığıdır (Sweet ve ark., 2009). Osteoporoz, yaşlanmayla birlikte en sık gözlenen hastalıklardan biridir. Ortalama yaşam süresinin uzaması ile birlikte osteoporoz ve osteoporozla ilgili kırıklar mortalite, morbidite ve ekonomik maliyet açısından önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir (Sandhu ve Hampson, 2011). Bu hastalık, birçok faktöre bağlı kompleks ve kronik bir hastalık olup yıllar boyu sessizce ilerleyebilir. Kırıklar oluşuncaya kadar semptom vermediğinden dolayı, zamanında teşhis edilip etkin bir şekilde tedavi edilebilen hasta oranı çok düşüktür bu yüzden osteoporoz "sessiz epidemik hastalık" olarak tanımlanmaktadır. Osteoporozda, kemikte mekanik bir yetersizlik durumu mevcuttur. Bu mekanik yetersizlik; kemiğin normal aktiviteler sırasında ağrması, incinmesi ve kırılmasıdır. Osteoporozda mineralizasyon tam olmakla beraber, birim hacme düşen kemik kütlesi azalmıştır (Hahn BH, 1993). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) "normal", "osteopeni", "osteoporoz" olarak kemik durumu kategorilerini beyaz kadınlarda dual-enerji X-ray absorpsiyometre (DEXA) ile omurga, kalça veya önkolda ölçülen kemik mineral yoğunluğu (KMY) değerlerine göre belirlemiştir (Kanis, 1994). Bu kategoriler şöyle sıralanabilir:

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

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

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

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

Osteoporozun ilk defa kesin tanımı 1829 yılında histolojik olarak gözenekli kemik anlamına gelen "porous bone" başlığı altında Strasbourg'lu patolog Jean Georges

Lobstein tarafından yapılmıştır (Rizzoli ve ark., 2001). Fransız ve Alman hekimlerin 19. yüzyıldaki yazılarında osteoporozdan bahsedilmekte, normal mineralize olmuş, fakat miktarı azalmış kemik dokusu olarak tarif edilmektedir. Fuller Albright ve arkadaşları 1940 yılında "kemikte çok az kemik" ifadesiyle postmenopozal osteoporozu tarif etmiş ve hastalığın östrojen yetmezliğine bağlı olduğunu söylemişlerdir (Gambert ve ark., 1995; Yılmaz ve Yaşar, 2003). 1940 ve 1970 yılları arasında osteoporozla ilgili gelişim yavaş olmuştur. Cerrahi menopozdan sonra hormon tedavisi 1976'da, postmenopozal ve senil osteoporoz ayırımı ise, ancak 1983 yılında yapılabilmektedir. Son 15 yıldaki bilimsel gelişim ve konuya eğilim, kemik yoğunluğu ölçüm tekniğindeki gelişmeler, laboratuvar yöntemlerindeki yeni aşamalar ve tedavideki yeni ilaçların ortaya çıkması sonucu osteoporozla ilgili gelişim artmıştır (Eryavuz, 2005).

2.1.2 Epidemiyoloji

Teknolojik gelişmeler, yaşam kalitesini artırarak yaşam süresini uzatırken aynı zamanda az hareketli, sedanter ve kolay bir yaşam biçimi sunmuştur. Yaşam süresinin uzaması ve bu tarz yaşam biçimi çeşitli riskleri ve kronik sağlık sorunlarını da beraberinde getirmektedir (Yılmaz, 1997). Osteoporoz uzun süre asemptomatik olarak ilerleyen, insidansı, morbidite ve mortalitesi yüksek, bireyin günlük yaşam aktivitelerini yerine getirebilme yeteneğinde azalmaya neden olan ve tam olarak tedavi edilemeyen bir sağlık sorunudur (Bailey ve ark., 2002; Sandhu ve Hampson, 2011).

Dünyada yaklaşık 200 milyon kişiye osteoporoz tanısı konmuştur (Meryl, 1997). Hastalık yaşlı erişkinlerde, özellikle de menopoz sonrası kadınlarda salgın düzeyine ulaşmaktadır. WHO, osteoporozu kadınlar için ikinci en büyük halk sağlığı sorunu olarak tanımlamıştır. 50 yaş ve üzerindeki kadınların hayat boyu kardiyovasküler hastalık riski % 40, osteoporoz riski % 40, meme, over ve uterus kanseri riskinin ise ancak %15 olduğu göz önüne alınırsa hastalığın önemi daha iyi anlaşılmaktadır (Dilşen, 2002)

İngiltere'de 50 yaş üstü her 2 kadın ve her 5 erkekten biri osteoporotik kırık nedeniyle hastanelere başvurmaktadır ve bu nedenle her sene 2 milyon pound harcanmaktadır (Burge, 2001; Van Staa, 2001; Dennison, 2005). Tüm Avrupa'da ise bu miktar 2000 yılında 31,7 milyon euro olarak belirlenmiştir ve 2050 yılına kadar bu harcamalarının iki katına çıkması beklenmektedir (Melton ve ark., 2003). Amerika'da

10 milyon kişi osteoporozlu, 34 milyon kişi ise düşük kemik yoğunluğuna ve bu hastalık için artmış riske sahiptir. 2007 yılında osteoporozla ilgili 1,5 milyon kırık vakası meydana gelmiştir ve bu sayının 2025 yılında 3 milyonu geçmesi beklenmektedir. Amerika'da osteoporozla ilgili kırıkların tedavisi için 17 milyon dolar harcanmıştır ve yine 2025 yılında bu rakamın 25 milyon dolar olması beklenmektedir (Burge ve ark., 2007).

2.1.3 Sınıflandırma

Osteoporoz için yaş, etiyoloji, lokalizasyon, tutulan kemik yapısı veya histolojik görünüm gibi farklı açılardan yaklaşılarak birçok sınıflama geliştirilmiştir.

Kinnon osteoporozu 3 gruba ayırmıştır:

1. 65 yaşa kadar kadınlarda görülen postmenopozal osteoporoz.

2. 65 yaş üzerinde her iki cinsten görülen senil osteoporoz.

3. Menopoz, yaşlanma veya herhangi bir başka nedenin ortaya koyulmadığı idiyopatik osteoporoz (Kinnon, 1988).

Etyolojik nedene göre osteoporoz primer ve sekonder olarak iki grupta toplanabilir (Favus ve Christakos, 1993; Bozkuş ve ark., 2000).

1. Primer Osteoporoz

A-İdiyopatik osteoporoz

1) İdiyopatik juvenil osteoporoz

2) Gençte idiyopatik osteoporoz

B-İnvolyusyonel osteoporoz

1) Tip1-Postmenopozal osteoporoz

2) Tip2-Senil osteoporoz

2. Sekonder Osteoporoz

A-Endokrin Nedenler

1) Adrenal Korteks

2) Gonad Hastalıkları

3) Östrojen-testosteron Yetmezliği

4) Hipofizier hastalıklar

5) Şeker hastalığı

6) Tiroid Hastalıkları

7) Hiperparatiroidi

B-Kemik İliği Tutulumu

1) Myeloma

2) Lösemi

3) Metastatik Hastalıklar

4) Gaucher Hastalığı

C-İlaçlar

1) Kortikosteroidler

2) Heparin

3) Antikonvülsanlar

4) İmmünespresifler

5) Alkol

6) GnRH agonistleri

D-Kronik Hastalıklar

E-Eksiklikler

F-Genetik Hastalıklar

G-Gebelik ve Laktasyon

Tip 1 osteoporoz (postmenopozal osteoporoz) temelde menopoz sonrası dönemde görülen kemik kaybı ile ilişkilendirilmiş olup 65 yaş altı bireylerde görülmektedir. Erken menopozun osteoporoz sürecini hızlandırıp öne aldığı eskiden beri bilinmektedir. Menopoz sonrasındaki osteoporozun patogenezinin sorumlu olduğu düşünülen faktörler arasında en çok östrojen üzerinde durulmuştur (Christiansen ve ark., 1987; Wark, 1991). Postmenopozal dönemde östrojenin kemik rezorpsiyonunu önleyici etkisi ortadan kalkınca hızlı bir şekilde trabeküler kemik kaybı olur. Trabeküler kemik kaybının çok, kortikal kemik kaybının az olmasına bağlı olarak; postmenopozal osteoporozda daha çok vertebra ve distal radius (colles) kırıkları görülür (Pocock ve ark., 1987).

Tip 2 osteoporoz (senil osteoporoz) kadında ve erkekte 70 yaş ve üzerinde ortaya çıkar. Yaşlılıkta serum 25-hidroksikolekalsiferol seviyesi normaldir, fakat hidroksilasyondaki bozulmaya bağlı olarak 1,25-dehidroksikolekalsiferol seviyesi düşer, diyetle alınan ve barsaklardan emilen kalsiyum miktarı azalır. Diyet kalsiyumunun azlığı kemikten kalsiyum uzaklaştırılarak yerine konacağından diyetle kalsiyum alımının azlığı sonuçta negatif kalsiyum dengesi oluşturacaktır. Bunun sonucunda osteoporoz riski artacaktır. Yaşın ilerlemesi ile kalsitonin seviyelerinin de azalmış bulunması, osteoporoz patogenezinde sorumlu bir faktör gibi görünmesine yol açmıştır (Menkes, 1994; Gambert ve ark., 1995; Sweet ve ark., 2009). Senil osteoporozda en sık kalça kırıkları görülür (Lone ve Genant, 1993) (Tablo 1).

Tablo 1. Tip1 ve Tip2 osteoporozun karşılaştırılması

	Tip I osteoporoz	Tip II osteoporoz
Yaş	< 65	> 70
Kadın/Erkek	6/1	2/1
Kemik kaybı	Trabeküler	Trabeküler, kortikal
Yapım/yıkım	Osteoklast aktivitesi artar	Osteoblast aktivitesi azalır
Kırıklar	Vertebra, diş, radius	Kalça,vertebra
Serum Ca ⁺⁺ , P	Normal	normal
ALP	Normal(kırık varsa artar)	Normal(kırık varsa artar)
Paratiroid Hormon(PTH)	Azalır	artar
D vit-böbrekte dönüşümü	Sekonder azalma	Primer azalma

Tablo 1. devam Tip1 ve Tip2 osteoporozun karşılaştırılması

	Tip I osteoporoz	Tip II osteoporoz
İdrarda Ca ⁺⁺	Artar	Normal
Ca ⁺⁺ absorpsiyonu	Azalı	azalı
Neden	Menopoza bağlı	Yaşlanmaya bağlı

2.1.4. Risk Faktörleri

Hastalıkların önlenmesinde ilk basamak şüphesiz ki en fazla riskte olan grubu tanımlamak ve özellikle bu grup için önleyici tedbirler almaktır. Genelde kadınların tümünde osteoporoz riski bulunmaktadır. Ancak bazıları bu riski daha fazla taşımaktadır (Lone ve Genant, 1993; Dilşen, 2002). Erkeklerde kemik kütlesi, kadınlardan %30-50 daha yüksektir (Hamerman, 2000). Kadınlar 40 yaşından, erkekler ise 60-65 yaşından sonra fizyolojik kemik kaybına uğrarlar (Kanis ve Gluer, 2000). Osteoporoz geliştikten sonra kemik kütlesini arttıran etkin ve güvenilir yöntemler bulunmamaktadır. Bu nedenle osteoporoz risk faktörlerinin erken tanımlanması ve önleme programlarının geliştirilmesi hastalığın artışını azaltmak için gereklidir (Kanis, 1997). Risk faktörlerinin değerlendirilmesiyle bir kişide osteoporoz gelişip gelişmeyeceği tahmin edilebilmektedir. Üç veya daha fazla risk faktörü olan kadınlarda osteoporoz olduğu düşünülmektedir (Lypaczewski ve ark., 2002). Osteoporoz gelişme ihtimalini artıran risk faktörlerinin bazıları değiştirilebilirken bazıları değiştirilememektedir.

Değiştirilemez risk faktörleri;

- Cinsiyet (Kadınlar daha riskli)
- Yaş
- İnce veya küçük beden yapısı
- Asyalı ya da Beyaz ırk
- Genetik faktörler

Değiştirilebilir risk faktörleri;

- Postmenopoz - erken ya da cerrahi menopoz
- Menstrual periyodun anormal yokluğu
- Anoreksia nervosa veya bulimia

- Kullanılan bazı ilaçlar (Glukokortikoidler ve antikonvülsanlar gibi)
- Erkeklerde düşük testosteron seviyesi
- Düşük kalsiyum ve D vitamini içeren diyet
- Hareketsiz yaşam biçimi
- Sigara kullanımı
- Aşırı alkol kullanımı (Kanis ve ark. 2005; Nguyen ve ark., 2005; 2007)

Cinsiyet

Osteoporoz genellikle menopoz sonrası kadınlarda ve 65 yaş üstünde görülmektedir. Yapılan çalışmalarda orta yaş ve yaşlı kadınlarda vertebra, humerus, pelvis ve el bileği kırık riskinin aynı yaş grubunda olan erkeklere göre 3-5 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (Felsenthal, 1994).

İrk ve Kemik Morfolojisi

Asyalı kadınlarda vücut kemik indeksi %10-15 daha düşük olmasına rağmen Avrupalı ve Amerikalı kadına göre daha az riske sahiptir (Cummings ve ark., 1995). Osteoporoz risk faktörleri içinde vücut kütle indeksi konusunda yapılan çalışmalarda, osteoporozun minyon, kısa boylu, zayıf yapılı kadınlarda daha fazla görüldüğü saptanmıştır. Vücut kütle indeksi küçük olan postmenopozal kadınların risk grubunda olduğu özellikle 6 Akdeniz ülkesinde yapılan araştırmalar sonucunda saptanmıştır (Anderson ve Mets., 1993; Cummings ve ark., 1995). Obezitenin osteoporozda koruyucu etkisi olduğu bildirilmektedir. Ancak KMY ve vücut ağırlığı arasındaki ilişki tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Obezite kemik kaybına karşı koruyucu olma görevini; iskelete yüklenme stresini ve kemiğin PTH seviyesini, D vitaminine direncini, androjenlerin östrojenlere periferik değişimini arttırarak gerçekleştirir (Kanis ve ark., 1994; Kaplan, 1995).

Genetik faktörler

Osteoporoz patogeneğinde genetik yapının incelendiği çok sayıda çalışmada aile bireyleri, tek ve çift yumurta ikizleri kemik mineral yoğunluğu ve kırık riski yönünden değerlendirilmiştir. Kalıtsal faktörlerin osteoporoz patogeneğinde önemli

bir yeri olduğu bilinmektedir. Bireyler arası kemik mineral yoğunluğu farklılıklarının %70-80 oranında genetik faktörlere bağlı olduğu belirtilmiştir. KMY'nin kadınlarda %42-98 oranında kalıtıma bağlı olarak belirlendiği saptanmıştır (Howard ve ark., 1998). Kemik döngüsünün ve kemik kaybının da genetik olarak etkilendiği ve "vitamin D reseptör geni", "Kollojen 1 Alfa1 geni", "Östrojen reseptör genleri", "İnterlökin-6 geni", "Transforming growth factor β 1 geni" gibi değişik genlerin etkili olduğu saptanmıştır (Frost, 2001; Yamada ve ark., 2003; Qin ve ark., 2004).

Postmenopoz - erken yada cerrahi menopoz

Erken ya da cerrahi menopoz, kısa reproduktif yaşam süresi osteoporozda risk faktörü teşkil edebilir. Sağlıklı kadınlarda fizyolojik yaş ve menopoz süresi kemik kaybını en fazla etkileyen faktörlerdir (Zhang ve ark., 2002). Kadınlar menopoz sonrasındaki 20 yıl boyunca her yıl kemiklerinin %0,5'i ile %1'ini kaybederler. 65 yaşından sonra kemik kayıp oranı yavaşlar (Garrison, 2005). Erken menopoza giren kadınlarda kemik kaybı daha erken başlar ve normal popülasyona göre kırık riskleri artmıştır (Carranza-Lira, 2002). Menopoz süresi de, osteoporoz ve kırık için risk faktörüdür (George ve ark., 2003).

Beslenme ve Yaşam Tarzı

Beslenme ile kemik kalitesi ve KMY arasındaki ilişki kesindir. Yetersiz beslenme sonucunda ortaya çıkan pek çok durum kemik metabolizmasını ve iskelet gelişimini etkilemektedir. Kalsiyum, D vitamini, diğer bazı vitaminler, çinko, kafein ve protein tüketiminin kemik metabolizması üzerindeki etkileri ile ilgili pek çok çalışma yayınlanmıştır. Yetersiz alınan vitamin ve mineraller veya aşırı miktarda tüketilen protein, sodyum, kafeinli içecekler osteoporoz yönünden oldukça önemli risk faktörleri oluşturabilmektedir (Barrett-Connor ve ark., 1994; Sellmeyer ve ark., 2001; Harrington ve Cashman, 2003). Hastaların dengeli diyet yönünden bilgilendirilmesi özellikle osteoporozdan koruma açısından en önemli stratejiler arasındadır (Ilich ve ark., 2003).

Kalsiyum

Kalsiyum alınması ve KMY arasında pozitif bir bağlantı bulunmaktadır. Pek çok çalışmada düşük kalsiyum alımı kırık için risk faktörü olarak saptanmıştır (Clark ve

ark., 1998; Lau ve ark., 2001). Kalsiyumun barsaktan emilimi başlıca 1.25(OH)²D vitaminine bağlı olarak aktif transportla gerçekleşir. Yüksek miktarlarda kalsiyum alındığında ise pasif emilim de gerçekleşebilir. Yaşlandıkça kalsiyum emilimi azalır. Her iki cinste de bu azalma 70 yaşın üzerinde belirgindir. Ayrıca menopoza sonrası kadınlarda da kalsiyum emilimi düşer. Azalmış kalsiyum emilimine bağlı olarak osteoporotik kırık riskinin arttığı belirlenmiştir (Ensrud ve ark., 2000). Kalsiyum geç menopozal dönemde ise kemik kaybı hızını azaltır. Süt ürünleri, kalsiyumun en zengin ve biyoyararlılığı en fazla olan kaynaklarıdır (Suzuki ve ark., 2003).

Vitamin D

Vitamin D'nin kemik metabolizmasındaki rolü çok ayrıntılı incelenmiştir. Vitamin D yetersizliği osteoporoz için önemli bir risk faktörüdür (Mezquita-Raya ve ark., 2001). Vitamin D başlıca iki kaynaktan sağlanmaktadır: Besinler ve ciltteki üretim. Barsaktan D vitamini emilimi yaşlandıkça %40 azalırken deride üretimi de düşer. Yaşlıların önemli bir kısmında D vitamini yetersizliği bildirilmiştir (Gloth ve ark., 1995). Bunun nedeni olarak da alımın kısıtlanması, emilimin azalması ve güneşe az çıkma düşünülmektedir (Nutri ve ark., 2004).

Hareketsiz Yaşam Biçimi

Kötü fiziksel performans düzeyi ve düşük fiziksel aktivite, kırık için bağımsız risk faktörleridir (Stel ve ark., 2004). Fiziksel aktivitenin eksikliği tüm yaşlarda kemik yapımını olumsuz yönde etkiler. Ağırlık taşıyıcı egzersizler ve kasların kemik üzerinde mekanik kuvvet oluşturduğu egzersizler KMY'yi arttırmaktadır (Layne ve Nelson, 1999). Diğer yandan immobilizasyonun kısa sürede (1 ay) anlamlı kemik kaybına neden olduğu saptanmıştır (Nguyen ve ark., 1998). Fiziksel aktivite, KMY'yi arttırmakla birlikte KMY'den bağımsız olarak da kırık riskini azaltmaktadır ve bu etki muhtemelen kemik kalitesi, kas gücü ve koordinasyon üzerindeki olumlu etkilerden kaynaklanmaktadır (Bean ve ark., 2004). Egzersiz programları ile bir diğer önemli risk faktörü olan düşme riski de önemli derecede azalmakta ve başka kronik rahatsızlıkları da bulunan yaşlılarda mortalite ve morbidite oranları düşmektedir (Zhang ve ark., 2002).

Sigara ve Alkol Kullanımı

Bazı kaynaklara göre aşırı sigara kullanımı osteoporozun önemli risk faktörlerinden biridir (Bjarnason ve Christiansen, 2008). Sigara, premenopozal kadınlarda dolaşımdaki östrojen seviyelerini düşürerek menopozun gelişimini hızlandırır. Sigara osteoblastları inhibe eder, östrojen yıkımına ve erken menopoza sebep olur (Aloia ve ark., 1985). Sigara kullananlarda kullanmayanlara göre menopoz yaşı 1-2 yıl daha erken olarak saptanmıştır. Sigaranın osteopeninin gelişiminde bir risk faktörü olduğu ve düşük vücut ağırlığı ve kemik rezorpsiyonu üzerindeki direkt veya indirekt etkileriyle kemik kütlesi üzerine zararlı etki gösterdiği belirlenmiştir (Daniell, 1976). Başka bir çalışmada da sigara içen yaşlı postmenopozal kadınlarda, aynı yaş ve kiloda olan sigara içmeyen kadınlara göre daha hızlı kemik kaybı olduğu gösterilmiştir (Bjarnason ve Christiansen, 2008).

Orta derecede alkol kullanımının KMY üzerine olumlu etkileri olmakla birlikte (Williams ve ark., 2005), aşırı derecede alkol, osteoporoz risk faktörleri arasında sayılmaktadır (Heaney ve ark., 2000). Alkol karaciğer fonksiyonlarını bozarak D vitamininin normal metabolizmasını engeller ve barsaktan kalsiyum absorpsiyonunu azaltır, kemik hücreleri üzerinde toksik etkili olup, osteoblastları inhibe eder. Ayrıca kötü beslenmeye yol açarak fiziksel aktiviteyi azaltarak da osteoporoz oluşumu için risk teşkil eder (Seeman ve ark., 1983).

2.1.5. Patogenez

Osteoporoz, doruk kemik kütlesine (DKK) ulaşılmadığı takdirde ve kemiğin remodeling safhasında, rezorpsiyon hızının yüksek ve/veya yapım hızının düşük olması sonucunda meydana gelir. Bu iki durumdaki değişiklikler sonucu osteoporozun derecesinde farklılıklar olur.

DKK'ye ulaşım, osteoporozdan korunmada ve yetişkinlikte meydana gelebilecek kırıkları önlemede çok önemli bir yere sahiptir. DKK'deki %10 luk artış kalça kırığı riskini %30 oranında azaltmaktadır. Genetik faktörler DKK ve kemik yıkımının en önemli belirleyicileridir ve yapılan ikiz çalışmalarında %80 oranında etkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmalar sonucunda kemik kütlesini düzenleyen ve aralarında lipoprotein reseptörü ile ilişkili protein 5 (lipoprotein receptor-related protein 5(LRP5),) sklerostin (sclerostin (SOST)), osteoprotegerin (OPG), östrojen reseptör 1 and receptor

activator of NF- κ B (RANK)'nda bulunduğu bir dizi genetik varyant tespit edilmiştir (Styrkarsdottir ve ark., 2009). Şimdiye kadar osteoporozla yatkınlığı arttıran 20 gen tespit edilmiştir (Ralston ve Uitterlinden, 2010). Bu gelişmelere rağmen şu an için osteoporoz hakkında klinik seyrini etkileyecek kadar genetik bilgi elde edilememiştir. Kemik kütleindeki artış, çocukluk ve ergenlik dönemlerindeki hormonal durumla da (özellikle östrojen) ilişkilidir. Beslenme, egzersiz ve sigara gibi çevresel faktörler de DKK'ye ulaşımında önemli rol oynar (Bonjour ve ark., 1994; 2009). Şu an için DKK modülasyonunun, intrauterin hayatta başlayıp beslenme alışkanlıkları, sigara ve egzersiz seviyelerinden etkilendiği belirtilmektedir (Winsloe ve ark., 2009).

Kemik yapım ve yıkımı arasındaki dengesizlik

Erişkinlerde kemik remodeling aşaması, mikro hasarlı bölgelerin tamiri ve kemik sağlığının kazandırılmasını amaçlar. Bu durum, osteoklast (kemik yıkım hücreleri) ve osteoblastlar (kemik yapım hücreleri) arasındaki uyumlu çalışma ile meydana gelir. OPG/RANK ve ligandı (RANKL) en önemli osteoklastik aktivite mediatörleridir, LRP5 ise en önemli osteoblastik aktivite mediatörüdür (Hofbauer ve ark., 2000; Glass ve ark., 2005). Diğer hücreler kemik remodeling aşamasına katkıda bulunurlar ve diferansiye olan osteoblast, osteoklast ve vasküler elementleri içerirler. Kemik rezorpsiyonu osteoblastik kökenli hücrelerden RANKL salınımı ile başlar. RANKL'nin soydaş reseptörü olan RANK'e bağlanması sonucu NF- κ B'nin içinde bulunduğu intraselüler yol aktive olur ve osteoklastojenik genler indüklenir. OPG ise RANKL'nin RANK'e bağlanmasını engelleyen bir bariyer olarak görev yapar. Wnt proteinleri LRP5 yolunu aktive eder ve bu sayede kemik formasyonunu aktive ederken rezorpsiyonu inhibe etmiş olur. LRP5 sinyallerini inhibe eden birçok mediyatör tespit edilmiştir ve bunlardan biri de SOST'dir (Robling ve ark., 2008).

OPG/RANKL oranı normal kemik yapım-yıkım sirkülasyonu, kemik kütlelerinin ve dayanıklılığının korunması için anahtar rol oynar. Birçok hormon, büyüme faktörleri(TGF-b, IGF-1, BMP2), sitokinler(IL-1, IL-6, TNF-a, prostaglandin E2), ve ilaçlar bu orana etki eder (Rosen ve ark., 1994; Pacifici, 1996; Kearns ve ark., 2008). Menopozda izlenen kemik remodeling düzensizliğinin en önemli nedeni olarak östrojen yetersizliği gösterilmektedir (Cummings ve ark., 1998). Erkeklerde, ilerleyen yaşlarla birlikte serum testosteron seviyesinin azalması da kemik kaybına neden olmaktadır

(Greendale ve ark., 1997). Artmış kemik rezorpsiyon hızı her ne kadar kemik kaybı ve kırık oluşma riskine etki eden en önemli faktör olarak görünse de kemik yapım hızının da eş zamanlı azalması osteoporozun patogeneğinde önemli yer tutar. Bu duruma osteoprogenitör/pre-osteoblastik hücrelerin miktarındaki azalma ve/veya yaşla beraber proliferatif ve diferansiyasyon yeteneklerini kaybetmelerinin neden olduğu düşünülmektedir. Yaşın ilerlemesi ile beraber kemik iliği stromal hücreleri osteoblastlar yerine adipositlere diferansiye olurlar ve bunun sonucunda kemik yapım hızı yıkım hızına göre daha düşük seviyede seyrederek. Yaşa ve menopoza bağlı kemik yıkımı osteoporoz için önemli bir faktördür ve aynı yaşta insanların farklı iskeletsel yapılarla sahip olması ise genetik faktörlerin bu duruma etki ettiğinin göstergesidir (Feik ve ark., 1997).

2.1.6 Tanı

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

Görüntüleme Yöntemleri

KMY ölçümleri düşük kemik yoğunluğu ve kırık sendromu ile ortaya çıkan osteoporoz tanısını desteklemek ve kanıtlamak, kemik yoğunluğu azaldıkça artan kırık riski bağlamında osteopeni derecesini saptamak, tedavi gereksinimi olup olmadığına karar vermek ve tedavinin etkinliğini saptamak amacı ile kullanılan yöntemlerdir. İdeal dansitometrik ölçüm; çabuk uygulanabilir ve güvenilir olmalı, kişiyi düşük oranda ışına maruz bırakmalı, az hata payı olmalı, kırık riski konusunda fikir verebilmeli, trabeküler ve kortikal kemiği ayrı olarak değerlendirebilmeli ve tedavinin etkinliğinin takibinde güvenli olarak kullanılabilir.

Osteoporoz riskinin tayininde bilgisayarlı tomografi, tek foton absorpsiyometri, çift foton absorpsiyometri, DEXA ve ultrasonografi yöntemlerinden biri

kullanılmaktadır. DEXA aralarında en çok tercih edilen yöntemdir (Riggs ve Melton, 1992; Bozkuş ve ark., 2000)

Direk kemik grafilinde ortaya çıkan değişiklikler ancak iskelet kütlesindeki %30-50 kayıptan sonra belirlenebilir ve bu yüzden tanı koyma işlemini geciktirebilir (Seeger, 1997; Bozkuş ve ark., 2000).

Osteoporozda kullanılan görüntüleme yöntemleri şöyle sıralanabilir (Sindel, 1998):

- a. Konvansiyonel radyografiler
- b. Radyogrametri
- c. Fotodansitometri (Radyografik absorbsiyometri)
- d. Kompüterize dijital absorbsiyometri
- e. Tek foton absorbsiyometri
- f. Çift foton absorbsiyometri
- g. Tek enerji X ray absorbsiyometri
- h. Çift enerji X ray absorbsiyometri
- ı. Tek enerji kantitatif kompüterize tomografi
- i. Çift enerji kantitatif kompüterize tomografi
- j. Periferik kantitatif kompüterize tomografi
- k. Kantitatif ultrasonografi
- l. Magnetik rezonans görüntüleme
- m. Nötron aktivasyon analizi
- n. Proton aktivasyon analizi
- o. Skening slit fluografi
- ö. Compton scattering
- p. Kemik sintigrafisi

Osteoporozda rutin laboratuvar incelemeleri

Primer osteoporoz'lu hastalarda rutin laboratuvar bulguları genellikle normal sınırlardadır. Sekonder osteoporoz'un dışlanması için, eritrosit sedimentasyon hızı, hemoglobin, lökosit ve lökosit formülü, açlık kan şekeri, kreatinin, serumda kalsiyum ve fosfor, total alkalen fosfataz, karaciğer fonksiyon testleri ve tam idrar tetkiki mutlaka yapılmalıdır. Bu testler ile diyabet, kronik karaciğer hastalıkları, nefropati, hematolojik maliniteler, kemik metastazı yapmış kanserler gibi sekonder osteoporoz nedenleri dışlanabilir. Bu testlerin yeterli olmadığı, hipertiroidi, hiperparatiroidi, hipogonadizm, hiperprolaktinemi, cushing sendromu, multpl myeloma, renal osteodistrofi gibi durumlar düşünüldüğünde ise; 24 saatlik idrarda kalsiyum, serum ve/veya idrar elektroforezi, 25 (OH) D, TSH, Serbest T3-T4, PTH, LH, FSH, prolaktin, plazma

testosteron veya östradiol düzeyleri, serum kortizol düzeyi, Bence Jones Protein incelemelerinin yapılması gereklidir (Bauer ve ark., 1999).

Osteoblast ve osteoklastların enzimatik aktiviteleri, yapım-yıkım esnasında dolaşıma geçen kemik matriksi elemanlarının ölçülmesiyle elde edilirler. Kan ve idrarda tespit edilebilen bu belirleyiciler kemik metabolizmasındaki akut farklılıkları hemen saptayabilirler. İnvaziv olmayan ve kolay tekrar edilebilen yöntemlerdir. Kemik yapım-yıkımının biyokimyasal belirleyicileri tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Kemik yapım ve yıkımının biyokimyasal belirleyicileri (Sepici, 2001)

Kemik Yapımının Biyokimyasal Belirleyicileri	Kemik Yıkımının Biyokimyasal Belirleyicileri
<ul style="list-style-type: none">• Total Alkalen Fosfataz (ALP)• Kemik Alkalen Fosfatazı• Osteokalsin• Tip 1 Kollajenin Karboksi Terminal Propeptidi (P1CP)• Tip 1 Kollajenin Amino Terminal Propeptidi (P1NP)	<ul style="list-style-type: none">• Asid Fosfataz• Hidroksiprolin• Hidroksilizin• Piridolin• Deoksipiridolin• Kemik Sialoprotein• Kollajen Çapraz Bağlanma Molekülleri• Kollajen 1'in Tellopeptidleri• Beta 2 Mikroglobulin

2.1.7 Osteoporozun çene kemikleri üzerine etkisi

Osteoporoz ve oral kemik kaybı arasındaki ilişki ilk olarak 1960'larda belirtilmiştir (Groen ve ark., 1960). Yapılan araştırmalarda, Amerika'da 60 yaş üstü tüm bireylerin en az %40'ının osteoporozdan dolayı diş kaybına uğradıkları belirtilmiştir (Albrektsson ve ark., 1998). Araştırmalar sistemik kemik kaybının diş kaybına yol açtığını göstermiştir. Yapılan çalışmalarda mandibulada kortikal porozitenin yaşla arttığı, mandibula içinde kortikal porozitede değişiklikler olduğu, kemik rezorpsiyon ve depozisyonunun mandibula gövdesine zıt olarak alveolar proseste daha aktif olduğu bulunmuştur (Ramesh ve ark., 2011). Kortikal kalınlığın metabolik kemik kaybını değerlendirmede yararlı bir parametre olduğu ve gonial kortikal kalınlığın 1 mm'den az olmasının metabolik kemik kaybının göstergesi olduğu belirtilmiştir (Bras ve ark., 1982). Ayrıca postmenopozal dönemdeki kadınlara mandibular mental foramenin bulunduğu yerdeki kortikal genişlik ile ağızda mevcut diş sayısı ile uyumlu bir ilişki olduğu, diş sayısının azalmasına bağlı olarak, kortikal kalınlığın da azaldığı rapor

edilerek postmenopozal dönemdeki kadınlarda, osteoporoz ile diş kaybı ilişkisi ortaya konmuştur (Taguchi ve ark., 1995).

Semptomatik osteoporozlu bireylerin maksillasındaki kemik mineral içeriği değerinin, aynı yaştaki sağlıklı ve menopoz yaşı aynı olan kadınların mineral değerine göre daha düşük olması ile osteoporozun maksiller kemikte rezorpsiyonu ciddi şekilde artıracağını düşündürmüştür (Von Wower, 2001). Edante bayanlarda semptomatik osteoporoz, maksilladaki (büyük olasılıkla maksiler trabeküler alanlardaki daha şiddetli osteoporotik değişikliklerden dolayı) rezidüel sırt kaybı açısından yüksek risk oluşturmaktadır (Tanaka ve ark., 2001).

2.1.8 Tedavisi

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

Diyet

Beslenme ile gerekli kaloringin alınması malnütrisyonun korunma açısından önemlidir. Günlük elemental Ca^{+2} ihtiyacı (postmenopozdaki kadınlar ve yaşlı erkekler için) 1200-1500 mg olduğundan bu yemekler ile veya Ca^{+2} içeren tabletler ile yerine konmalıdır. Alınan Ca^{+2} 'un kemiklere ulaşması için D vitamini 400-800 IU/gün yeterli olmaktadır (Bozkuş ve ark., 2000).

Magnezyum ve potasyumun kemik sağlığının korunması ve kalsiyum absorpsiyonun etkin biçimde sağlanması için gerekli olduğu ve postmenopozal osteoporozdan korunma ve tedavi amacıyla yeterli miktarlarda alınmasının gerekliliği vurgulanmaktadır. 40-59 yaş aralığında ortalama alınması gereken magnezyum dozunun 258 mg/gün, 60 yaş ve üstünde 236 mg/gün olduğu belirtilmiştir (Nieves, 2005). Diyetle alınan yeterli miktardaki protein ile kemik ve kas sağlığı olumlu etkilenmekte, yaşla artan kemik kaybı ve osteoporoz sebebi ile gelişen komplikasyon oranı azalmaktadır (Heaney ve Layman, 2008).

Sigara

Sigara içen kadınlarda içmeyenlerle kıyaslandığında kemik kaybının daha önce başladığı ve osteoporotik kırık oluşum riskinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Kanis ve ark., 2005). Sigaranın kemik kaybının ne şekilde hızlandığı net olarak bilinmese de sigara kullananlarda nikotinin D vitamini aktivitesini baskılayarak kalsiyum absorpsiyonunda bozulmaya sebep olduğu, sigaranın beta östradiol seviyesini düşürdüğü ve osteoporoz riskini arttırdığı tespit edilmiştir (Krall ve Dawson-Hughes, 1999).

Alkol kullanımı

Alkol, kalsiyum dengesini düzenleyen hormonları etkileyerek kemik formasyonunu ve kalsiyum emilimini azaltmakta ayrıca kalsiyum atılımını arttırmaktadır. Böylece osteopeniye neden olmaktadır. 11000 kadının katıldığı üç farklı kesitsel çalışmada günde iki üniteden fazla alkol tüketiminin düşme sayısını artırarak osteoporotik kırık riskini arttırdığı da belirlenmiştir (Kanis ve ark., 2005).

Egzersiz

Egzersiz mekanik olarak kassal aktiviteyi artırır ve kemikte remodeling olayının başlamasına yol açar. Kemik mineral miktarının artması egzersizin tipine ve yoğunluğuna göre değişir. Egzersizin osteoporozlu kadınlara kemik mineral dansitesinde sağladığı faydalar egzersizin azaltılması veya bırakılmasından sonra süratle ortadan kalkmaya başlar (Önvural ve Posacı, 2000). Son yıllarda osteoporozda fiziksel aktivite konusundaki ortak kanı, egzersiz programının postmenopozal dönemde kemik kaybı hızını yavaşlattığıdır. Yapılan araştırmalar kemik üzerine yaratılan dinamik streslere karşı alınan biyolojik cevabın kemik kütlelerinde artış olduğunu göstermiştir. Kemik kütlelerini korumak için en yararlı egzersizler yerçekimine karşı ayakta yapılan egzersizlerdir (Dalsky ve ark., 1988; Bozkuş ve ark., 2000) . Yapılan bir çalışmada, postmenopozal osteoporozu bulunan ve düzenli olarak aerobik ve ağırlık çalışan 18 kadın hastanın hepsinin omurgalarında BMD artışı gözlenmiştir (Bonaiuti ve ark., 2009).

Osteoporozun medikal tedavisi

Osteoporoz tedavisi için çok sayıda farmakolojik tedavi seçeneği bulunmaktadır (Tablo 3). Temel amaçlar; kemik kütlelerinin korunması, kaybın yerine

konması ve kırıkların önlenmesidir. Tedavide kullanılan ilaçlar, kemik rezorbsiyonunu azaltanlar, kemik formasyonunu arttıranlar, hem kemik rezorbsiyonunu azaltanlar hem de kemik formasyonunu arttıranlar olmak üzere üç temel grupta incelenebilir (Dequeker ve Mundy, 2000).

Tablo 3. Osteoporozun medikal tedavisinde kullanılan ilaçlar

Kemik rezorbsiyonunu azaltanlar
<ul style="list-style-type: none">• Kalsiyum• D vitamini• Östrojen• Kalsitonin• Bifosfonatlar• Selektif Östrojen Reseptör Modülatörü
Kemik formasyonunu arttıranlar
<ul style="list-style-type: none">• Floridler• D vitamini metabolitleri• PTH• Östrojen/Progesteron/Androjen kombine ilaçlar
Kemik rezorbsiyonunu azaltanlar ve kemik formasyonunu arttıranlar
<ul style="list-style-type: none">• Anabolik steroidler• D vitamini türevleri• Stronsiyum ranelat

Kalsiyum

Önemli hücrel metabolik fonksiyonları olan kalsiyumun %99'u kemiklerde hidroksiapatit formunda yer alır. Geri kalan %1'lik kısmı ekstrasellüler sıvılarda ve yumuşak dokularda bulunur. Kemiklerde bulunan kalsiyumun sadece %1'i ekstrasellüler sıvılarla yer değiştirebilir. Bu miktar çok düşük olmasına rağmen önemli bir tampon görevi görür.

Diyetle kalsiyumun yetersiz alımı, hücrel fonksiyonları engellemekle birlikte serum kalsiyum seviyesini sabit tutmak için görevli olan kontrol mekanizmalarını aktive etmekte ve kemiklerden kalsiyum mobilizasyonuna neden olmaktadır. Serum kalsiyum seviyesindeki azalma ile artış gösteren PTH osteoklastik kemik resorbsiyonu arttırmakta ve dolaylı olarak kemik kütlelerinde ve dayanıklılığında azalmaya neden olmaktadır. 50 yaş ve üstü kadınlarda alınması gereken günlük kalsiyum miktarının 1200-1500 mg olması gerektiği belirtilmiştir (Brown ve Josse, 2002; Watts ve ark., 2008). Kalsiyumun osteoporotik kırık riskini azalttığı da bilinmektedir. 5 yıllık plasebo kontrollü çift kör çalışmada kalsiyum takviyesi yapılan ortalama yaşları 75 olan 830 postmenopozal

kadında yaşa göre optimal kalsiyum alımı ile kırık riskinin %66 oranında azaldığı bildirilmiştir (Prince ve ark., 2006).

D Vitamini

D vitamini, cildin güneşe maruziyeti sonrası üretilen vitaminden ziyade bir steroid öncü hormondur. D vitamini intestinal kalsiyum absorpsiyonunun regülasyonunda oynadığı rol nedeniyle osteoporoz tedavisinde gündeme gelmiştir. Kalsiferol ve metabolitleri (alfakalsidol, kalsitriol) hücre çekirdeğine bağlanarak protein sentezini, hücre membranına bağlanarak kalsiyum transportunu artırır, kan PTH seviyesini azaltır. Kemik üzerinde anabolik etkiye sahiptirler. Çalışmalarda D vitamini ve kalsiyum kombinasyonunun özellikle yaşlı postmenopozal kadınlarda kemik kaybını azalttığı (Dawson-Hughes ve ark., 1990), kalça total KMY'sinde artış yaptığı belirtilmiştir (Jackson ve ark., 2006). Chapuy ve ark. (1992), 18 aylık 800 IU D vitamini ve 1200 mg kalsiyum tedavisini plaseboyla karşılaştırdıkları çalışmalarında kalça kırıklarında %43, vertebra dışı kırıklarda ise %32 oranında azalma tespit etmişlerdir.

Bifosfonatlar

Doğal pirofosfat bileşiklerinin stabil analogları olan bifosfonatlar osteoklast aktivitesini inhibe ederek ve yaşam sürelerini kısaltarak antirezorptif etki yaparlar (McClung, 2003). Kemikte yarılanma ömürleri 10 yıldan fazladır. Bifosfonatlar apatit kristallerine, özellikle de remodeling yüzeylerine güçlü bir şekilde bağlanırlar ve bunların büyümesini, birikmesini ve çözünmesini inhibe ederler. Kullanıma girdikleri 1969 yılından beri yapılan birçok karşılaştırmalı çalışmada etkin, güvenilir ve iyi tolere edilebildikleri ortaya konmuştur (Black ve ark., 2006). Emilimleri iyi değildir, gıdalarla alınması halinde emilmeleri azalır. Bol su ile alınmalıdır. Alındıktan sonra 1/2 saat kadar yatılmamalı ve ayaklara doğru eğilmemeli, 4 saat kadar kalsiyum alınmamalıdır. Uzun süre kullanımından sakınılmalıdır. Ayrıca tüm bifosfonatlar hipokalsemiye, PTH seviyesinde artmaya ve ciltte kızarıklığa neden olabilirler. Oral formların özefagus ülseri ve üst gastro intestinal sistem (GİS) irritasyonu, intravenöz (IV) formlarının ise ateş, geçici lökopeni, akut faz reaktanlarında artış, kemik ağrısı, görme problemleri, nefrotik sendrom, çenede osteonekroz gibi yan etkileri görülebilir. Klinik çalışmalarda bifosfonatların doza bağımlı olarak postmenopozal kadınlarda omurga ve kalça

KMY'sinde önemli derecede artış yaptığı saptanmıştır (McClung, 2003; Knoke ve Barrett-Connor, 2006).

Selektif Östrojen Reseptör Modölatörleri (SERM)

Steroid olmayan, sentetik yapıda kimyasal bileşiklerdir. Dokuların yapılarına göre östrojen agonistik veya antagonistik etkileri mevcut olup kemik metabolizması üzerinde östrojen benzeri uyarı oluşturmaktadırlar. Osteoporoz korunmada ve osteoporoz tedavisinde onay almış tek SERM olan raloksifenin 60 mg/gün dozda kullanımı önerilmektedir. Kemik yıkımını azaltarak KMY üzerine olumlu etkileri mevcuttur (Brixen ve ark., 2005).

Östrojen

Progesteron ile kombine preparatları da bulunan östrojen, postmenopozal osteoporozdan korunmak amaçlı kullanılmaktadır. Bu preparatların kullanım süresi ve tedaviye başlama zamanı ile ilgili net veriler olmamasına rağmen çok sayıda randomize klinik çalışma (RKÇ) ile sistemik östrojenin postmenopozal dönemde KMY ve kırıklar üzerine etkisi kanıtlanmıştır (Watts ve ark., 2008). Oral ve transdermal kullanımı mevcuttur. Östrojen replasman postmenopozdaki hastada kemik kaybını durdurur. Düşük kemik yoğunluğu olan erken postmenopozal kadınlarda menopozal semptomları tedavi eder ve kemik kaybını engeller, 50 yaşında, T skoru -1,6'dan düşük kadınlarda, menopozun ilk 10 yılı içinde düşük yada makul dozda östrojen önerilmektedir. 57 RKÇ'nin sonuçlarını değerlendiren bir derlemede bu iki preparatın plasebo ile karşılaştırıldığında hem vertebral hem de kalça KMY üzerine olumlu etkileri ve 2 yıllık takiplerde lomber KMY'de %6.8, femur boyun KMY'sinde %4.1,lik artış bildirilmiştir (Wells ve ark., 2002).

Kalsitonin

Tiroid bezinin, parafoliküler C hücrelerinden salınan polipeptid bir hormondur. Antirezorptif etkisi ile postmenopozal osteoporoz tedavisinde kullanılmaktadır. Hücre yüzeyindeki kalsitonin reseptörü yoluyla osteoklastları selektif olarak ve doğrudan etkiler, osteoklastlar küçülür ve kemik rezorpsiyonunu keserler. Osteoporozdan korunma amaçlı kullanımı önerilmemektedir (Silverman, 2003). Nazal

sprey ve subkütan enjeksiyon şeklinde kullanılabilir. Günlük 50-100-200 IU'lık dozlarda KMY'yi doza bağlı olarak arttırdığı saptanmıştır. 1255 postmenopozal osteoporozlu kadının katıldığı çalışmada 5 yıllık intranazal 200 IU/gün salmon kalsitonin kullanımı ile yeni vertebral kırık oluşum riskinin %33 azaldığı, kalça ve vertebra dışı osteoporotik kırıklar üzerinde ise herhangi bir fark olmadığı saptanmıştır. Osteoporotik vertebral kompresyon fraktürleri sonucu oluşan ağrıda kalsitonin ile anlamlı oranda azalma saptandığı da belirtilmiştir (Blau ve Hoehns, 2003).

Paratiroid Hormon (PTH)

PTH 84 aminoasitlik bir polipeptit olup, paratiroid bezlerinden salgılanarak serum Ca²⁺ düzeyi üzerinde değişimlere neden olur (Rosen, 2004). Kalsiyum dengesini sağlayan temel hormondur. Kalsiyum absorpsiyonunda azalmaya bağlı olarak sekonder hiperparatiroidi gelişmesinin kemik rezorpsiyonunu arttırdığı bilinmekle birlikte aralıklı PTH verilmesinin iskelet üzerinde bir anabolik aktivitesi olduğu ve trabeküler kemik kütlelerinde artış yaptığı belirtilmiştir (Bonner ve ark., 2005). 2532 postmenopozal osteoporozlu kadının katıldığı RKKÇ'de 100 mikrogram günlük PTH 19 subkütan enjeksiyonu ile lomber omurga KMY'sinde %6.9 total kalça KMY'sinde %2.1 oranında artış saptanmış. Vertebral dışı kırık riskinde farklılık saptanmazken, vertebral kırık riskinde %58 oranında azalma tespit edilmiştir (Greenspan ve ark., 2007).

2.2 BİFOSFONATLAR

Bifosfonatların ilk sentezi 1800'lü yıllara dayanmasına rağmen (Russell, 2011) sadece son 40 yıldır kalsiyum metabolizmasına yönelik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. İnsanlarda kullanılan ilk bifosfonat olma özelliği taşıyan etidronat 100 yıl önce sentezlenmiştir. Bifosfonatlar ilk olarak antikoroziv ajan olarak ve daha sonra tekstil, gübre ve su yumuşatıcısı olarak yağ endüstrisinin birçok alanında kullanılmıştır. Su yumuşatıcısı olarak kullanılmasının asıl nedeni kalsiyum ayrıştırıcı bir ajan olarak görev yapıp kalsiyum karbonat çökmesini önlemesidir (Russell ve Rogers, 1999; Russell ve ark., 2008).

Bifosfonatlar, kemik rezorpsiyon inhibitörleri olarak kullanılmaya başlanmadan önce, ilk olarak kalsifikasyon inhibitörleri olarak keşfedilmiştir. Bu konuda yapılan ilk çalışmalar bifosfonatların, pirofosfatlar gibi hidroksiapatit

kristallerine bağlandığını ve kristal gelişimini inhibe ettiğini göstermiştir (Russell ve ark., 2007).

Bifosfonatlar, başta osteoporoz olmak üzere, malin hiperkalsemi, kemiğin Paget hastalığı, multiple myeloma ve metastatik kemik hastalıkları gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. (Lieberman ve ark., 1995; Delmas ve Meunier, 1997; Van Beek ve ark., 2002; Bilston ve ark., 2002; Reid, 2003; Perry ve Figgitt, 2004; Kiely ve ark., 2007; Landesberg ve ark., 2009).

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 bifosfonat oluşturulmuştur. Azot içermeyen bifosfonatlar (etidronat, klodronat, tiludronat) intrasellüler olarak metabolize edilerek adenosin trifosfatın (ATP) sitotoksik hidrolize edilemeyen analoglarına dönüşür (Benford ve ark., 1999; Russell ve Rogers, 1999). Azot içeren bifosfonatlar (alendronat, ibandronat, pamidronat, risedronat ve zoledronat) protein modifikasyonunu (prenilasyon) inhibe ederler ve kemik rezorpsiyonunun daha güçlü inhibitörleridir (Luckman ve ark., 1998).

Bifosfonatların kimyasal yapıları inorganik pirofosfatın P-C-P analogu ve P-O-P zincirinden oluşmaktadır. Yapısında bulunan P-C-P analogu bifosfonatları pirofosfataz enzimine karşı dirençli hale getirir. Bifosfonatlar, hidroksiapatit kristallerine yüksek afinite gösterirler ve osteoklastlar tarafından endositozise uğrayıp bu şekilde osteoklast aktivitesini inhibe ederler (Chapurlat ve Delmas, 2006). Bifosfonatlar molekül yapılarında pirofosfatlarda bulunmayan iki grubu içermektedir. R1 ve R2 olarak bilinen bu iki grup, molekülün merkezindeki karbon atomuna bağlanmıştır. R1 ile birlikte bulunan fosfonat gruplarının, bifosfonatların kemiğe tutunmalarından sorumlu olduğu, biyoaktif R2 yapının ise bifosfonatların kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkisinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Papapoulos, 2006).

Bifosfonatların ortak farmakokinetik özellikleri bulunmaktadır. Bunlar; zayıf intestinal abzorpsiyon, kemik minerallerine yüksek afinite, osteoklastik kemik rezorpsiyonunu inhibe edici etki, uzun kemik retansiyonu ve idrar atılımıdır. Bifosfonatların oral yolla alındığında intestinal abzorpsiyon % 0.6-% 3 düzeyindedir ve yemeklerle alındığında (özellikle kalsiyum içeren yiyecekler) bu oran daha da düşmektedir. Bu yüzden oral bifosfonatlar aç karnına ve sadece su ile alınmalıdır.

Özellikle kalsiyum ve magnezyum tuzları oral bifosfonatların intestinal emilimini azaltmaktadır (Chapurlat and Delmas, 2006). Hastanın oral bifosfonatları kullandıktan sonra aldığı ilaca göre 30 dakika (alendronat, risedronate) veya 60 dakika (ibandronat) aç kalması gerekmektedir.

Plazma proteinlerine bağlanma oranları düşük ve plazma yarılanma ömürleri kısadır. Kemiğin yenilenme hızı ve alınan bifosfonat şekline göre yaklaşık olarak % 40- % 60'ı iskelet sistemine geçer. Geri kalan kısmı ise idrar yoluyla vücuttan atılır. Genel olarak bifosfonatlar uzun süreler boyunca kemiğin yapısında kalmalarına rağmen kemik üzerindeki etkin yarılanma ömürleri ilacın şekline göre değişkenlik göstermektedir. Yüksek kemik afinitesine sahip olan bifosfonatlar çok uzun süreler iskelet sisteminin bünyesinde bulunabilirler; örnek olarak alendronatın insandaki terminal yarılanma ömrü yaklaşık 10 yıldır (Russel, 2007).

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

- 1) Osteoklastların kemik yüzeyinde toplanmasını engellemek,
- 2) Kemik yüzeyinde osteoklast aktivitesini inhibe etmek,
- 3) Osteoklastların yaşam sürelerini kısaltmak,
- 4) Kemik mineralinin çözünüm hızını azaltmak. Bu etki, direkt veya indirekt yollarla oluşturulabilir (Rodan ve Fleisch, 1996).

2.2.1 Zolendronat (Zoledronik asit)

Zoledronik asit (ZA), nitrojen içeren, osteoklastik aktiviteyi ve kemik rezorpsiyonunu önleyen bir bifosfonattır. Malin hiperkalsemi, Paget hastalığı, multiple myeloma, metastatik solid tümörler ve osteoporoz tedavisinde kullanılmaktadır (Li ve Davis, 2003). Önerilen doz, her 3-4 haftada bir 4 mg steril enjeksiyonluk su ile hazırlanmış ve daha sonra seyreltilmiş, 15 dakikalık bir IV infüzyon ile uygulanmasıdır. Üçüncü jenerasyon, imidazol halkası, heterosiklik nitrojen içeren bir bifosfonattır. İmidazol halkası, iki adet nitrojen grubu barındırır. Bu yapısı ile diğer bifosfonatlardan ayrılır ve diğerlerinden farklı etkiye sahip olmasını bu yapıya borçludur (Widler ve ark., 2002).

Etki mekanizması

ZA, osteoklast aktivitesine etki ederek kemik rezorpsiyonu inhibe eder. Osteoklastlar üzerindeki etkisini ise; osteoklastların farklılaştığı kök hücrelerin dağılım ve osteoklast gelişimi yönünde farklılaşmalarını baskılayarak, osteoklastların olgunlaşmasını inhibe ederek, ve osteoklastların fonksiyonunu engelleyerek meydana getirir (Nielson ve ark., 1991; Coxon ve ark., 2000; Benford ve ark., 2001). Bifosfonatlar kemik dokusunda hidroksiapatite etkin bir şekilde bağlanır. Osteoklastların kemik rezorpsiyonu için stimüle edilmesi ile beraber bifosfonat serbest kalır ve osteoklastlar tarafından fagosite edilir. Fagositoza maruz kalan bifosfonat, osteoklastların formasyon ve fonksiyonlarına zarar verir (Dunford ve ark., 2001). ZA gibi doza bağımlı kemik tutunma özelliğine sahiptir ve oranı pamidronatla yakınlık gösterir (Green, 2001). Ratlarda yapılan in vivo çalışmalar yüksek dozda verilen ZA'nın ($> 1 \times 10^5$ pmol/g) enjeksiyondan bir saat sonra aksiyel ve apendiküler iskelet sisteminde, mandibulada, kafatası kemiklerinde ve böbreklerde yoğun şekilde izlendiğini belirtmişlerdir (Green, 2001; Witters ve ark., 2002).

Temelde bütün bifosfonatların kemiğe karşı afiniteleri bulunmaktadır ve osteoklastların kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkilerini inhibe ederler fakat R2 zincirlerinde nitrojen grubu içerip içermemelerine göre, kemiğe karşı afiniteleri de farklılık gösterir (Coxon ve ark., 2000; Benford ve ark., 2001). ZA ve nitrojen grubuna sahip diğer bifosfonatların (alendronat, ibandronat, pamidronat, risedronat) kemik rezorpsiyonu üzerindeki inhibe edici etkileri diğer bifosfonat gruplarına göre (örn, klodronat, etidronat) daha güçlüdür (Dunford ve ark., 2001). Nitrojen grubuna sahip olmayan bifosfonatlar, osteoklastlar tarafından metabolize edilerek nonhidrolize adenosin trifosfat analoglarına dönüşür. Sitotoksik olan bu metabolitlerin hücre içinde birikimi sonucunda osteoklast fonksiyonu inhibe edilir ve osteoklast apoptozisi gerçekleşir. Nitrojen içeren bifosfonatlar ise, nitrojen içermeyen bifosfonatların aksine metabolize edilemez. Kolesterol ve izopentenildifosfat, farnesildifosfat (FPP), ve geranilgeranildifosfat (GGPP) gibi izoprenoid lipidlerin sentezinden sorumlu olan, dolayısıyla osteoklast fonksiyonunda önemli olan mevalonat mekanizmasını inhibe ederek etki gösterirler (Benford ve ark., 2001). FPP ve GGPP'nin yokluğu osteoklast fonksiyonundaki düzenleyici proteinler olan Ras, Rho ve Rac gibi proteinlerin (guanosine triphosphate-binding proteins) prenilasyonunu engeller. Bu sinyal

moleküllerin prenilasyonu gerçekleşemediği zaman osteoklast fonksiyonu engellenmekte ve osteoklastların apoptozu meydana gelir (Boissier ve ark., 2000; Benford ve ark., 2001; Green, 2001).

Metabolizasyonu ve atılımı

ZA insanda metabolize edilmez; böbreklerden dışarı atılır. Alınan ZA dozunun yaklaşık olarak % 39'u ilk yirmi dört saat içinde idrarla beraber dışarı atılır (Pietrzik ve ark., 2010). Geri kalan kısım ise kemiğin yapısına tutunur ve sirkülasyonla beraber salınımına uğrar. ZA klirensi, kreatinin klirensi ile yakınlık gösterir. Normal bireylerle karşılaştırıldığında, hafif (50-80 mL/dak) ve orta derecede (35-50 mL/dak) böbrek rahatsızlığı olan hastalarda ZA klirensi ile ilgili olarak herhangi bir patolojik durum rapor edilmemiştir (Pietrzik ve ark., 2010). Bu tip hastalarda doz ayarlamasına gerek duyulmasa da, ileri derecede (<35 mL/dak) böbrek rahatsızlığı bulunan hastalarda ZA kullanımı önerilmemektedir (Skerjanec ve ark., 2003). 38 ile 84 yaş aralığında bulunan hastalarda ZA'nın farmakokinetik özelliklerini, cinsiyet, ırk ve yaş etkilememektedir (Pietrzik ve ark., 2010).

Farmakodinamik etki

ZA, kemik yenilenme sürecini hızlı bir şekilde düşürür ve bunu rezorpsiyonu inhibe ederek yapar. 24 hafta ve 3 yıl süren farklı çalışmalar göstermiştir ki, plasebo ve alendronatla karşılaştırıldığında ZA kullanan postmenopozal osteoporoz veya düşük KMY'ye sahip hastalarda kemik süpresyonu çok daha fazla olmuştur (Black ve ark., 2007; Saag ve ark., 2007). Black ve ark. (2007), postmenopozal osteoporozlu bireyler bireylerde yaptıkları çalışmada ZA'nın kemik rezorpsiyon [(serum β -C-telopeptides (β -CTx) ve formasyon bone specific alkaline phosphatase (BSAP), serum N-terminal propeptide of type 1 collagen (P1NP)] markırları üzerindeki etkilerini incelemişler. Yıllık alınan 5 mg ZA dozunun yaklaşık olarak β -CTx seviyesinde % 55, BSAP seviyesinde % 29 ve P1NP seviyesinde % 52 azalmaya neden olarak menopoz öncesi oranlara gerilediklerini belirtmişlerdir.

2.3 KEMİK

Kemik, embriyolojik olarak mezenşimal hücrelerden encondral ya da membranöz kemikleşme yolu ile farklılaşan bir dokudur. Kemikler iskelet sistemini oluşturup kaslarla birlikte hareketi sağlar, vücudu destekler, hayati bazı organları çevreleyip korur, kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğini içerir ve metabolik önemi olan kalsiyum deposu olarak görev alırlar. Kemik; bir çatı içerisinde bütünleşmiş birçok hücreden oluşan, metabolik ve biyolojik yönden dinamik bir dokudur. Bu özelliği dikkate alındığında, büyüme ve iyileşmesi çok sayıda biyokimyasal, biyomekanik, hücrenel, hormonal ve patolojik olayın zincirleme reaksiyonu gibi düşünülebilir (Bancroft ve Stevens, 1996; Junqueira ve Carneiro, 2003).

2.3.1 Kemik zarları

Periosteum, kaba, vasküler, konnektif bağ doku tabakasıdır ve eklem yüzeyleri hariç tüm kemiği dıştan çevreler. Periosteumun kemiğe destek sağlamada, beslenmesinde, gelişiminde ve tamir olaylarında önemli rolleri vardır. Yapısında temel olarak kollajen ve elastik lifler bulunur. “Sharpey lifleri” adı verilen kollajen uzantılar ile kemiğe bağlanmaktadır. Perikondrium bol damar içeren, iki tabakalı bir zarlıdır. Kalın dış tabaka “fibröz tabaka” olarak da adlandırılır ve düzensiz, yoğun konnektif dokudan oluşur. Daha ince ve zayıf iç tabaka ise “osteojenik tabaka” olarak bilinir ve gevşek bağ dokusunda olup, hücreden zengindir. Tabakaların her birinin ayrı fonksiyonları vardır. Dış kat metabolizmada rol alan damarları ve lenfatikleri içerir. İç tabakanın hücreleri ise kemik hasarında osteoblast haline dönüşerek yeni kemik oluşumunu sağlar. Kemik onarımına katılan bu hücreler normal koşullarda aktif değildir (Bancroft ve Stevens, 1996; Kierszenbaum, 2002; Junqueira ve Carneiro, 2003).

Endosteum tabakası, kemik iliği kavitesini ve kompakt kemiğin kanal sistemlerini çevreleyen ince bir retiküler bağ dokusudur. Periosteumdan daha incedir ve tek tabaka osteojenik hücre içerir. Bu tabakanın kemik doku yanında, hemopoetik hücreleri yapabilme özelliği vardır (Bancroft ve Stevens, 1996; Kierszenbaum, 2002; Junqueira ve Carneiro, 2003).

Kemik hücreleri (şekli kemik hücreleri)

- Osteoprogenitör hücreler,
- Osteoblastlar,
- Osteoklastlar,
- Osteositler,

Osteoprogenitör hücreler, Periosteumun iç tarafında, Haversian kanallarında ve endosteumda bulunurlar. Embriyonik mezenkimden köken alarak kemik büyümesinde aktif rol oynarlar ve mitoz ile bölünerek osteoblastlara farklılaşabilirler. Düşük oksijen konsantrasyonlarında kondrojenik hücrelere dönüşebilirler. (Gartner ve Hiatt, 2001)

Osteoblastlar, matür, metabolik yönden aktif, kemik organik matriksin yapımından sorumlu hücrelerdir. Bu hücreler, kübik ya da alçak prizmatik hücrelerden yapılmıştır. İri nukleusları olup sitoplazmaları koyu bazofiliktir. Osteoid doku ve tip I kollajeni, glikoproteinleri, proteoglikanları ve osteokalsin, osteonektin, osteopontin, osteoprotegerin gibi bazı proteinleri salgılar. Bunların yanında kemik rejenerasyonunda önemli rol aldıkları düşünülen, BMP (bone morphogenic protein), TGF- β , IGF-I, IGF-II, IL-1, PDGF gibi sinyal proteinlerini salgılar. Kemik yapım aktivitesi sonlanmaya başladığında, osteoblastların bir kısmı oluşturdukları matriks içinde hapsolarak osteositlere dönüşürken, diğer kısmı periost ve endosteal örtücü yüzey hücrelerine dönüşürler (Bancroft ve Stevens, 1996; Kierszenbaum, 2002; Junqueira ve Carneiro, 2003).

Osteositler, kemik matriks içerisinde lakün olarak adlandırılan küçük boşluklarda yerleşmiş olgun osteoblastlardır. Her bir osteositten çıkan sitoplazmik uzantılar diğer osteositlere uzanarak bir ağ oluştururlar. Lakünlerde bulunan kanaliküller yardımıyla da kan damarlarına ve diğer lakünlere bağlanırlar. Lokal çevre faktörlerinden etkilenirler ve kemiğe etki eden kuvvetler karşısında siklik adenosin monofosfat (cAMP), osteokalsin ve IGF salgırlar. Bu faktörlerin salgılanmasını takiben, öncül osteoblastların sayısı artarak kemikte remodeling ve kemik apozisyonu görülür. Ayrıca osteositler ekstrasellüler kalsiyum ve fosfor konsantrasyonun düzenlenmesinde de önemli rol alırlar (Bancroft ve Stevens, 1996; Kierszenbaum, 2002; Junqueira ve Carneiro, 2003).

Osteoklastlar, hormonal ve hücrel mekanizmaların kontrolünde, 4 ile 40 arasında çekirdekleri olan ve kemik rezorpsiyonu yapan hücrelerdir. Kemik yüzeylerine tutunmuş “cutting cones” olarak adlandırılan gruplardaki bu hücrelerin fonksiyonu; içerdikleri kollajenaz ile diğer proteolitik enzimleri salgılamak, kemiğin inorganik ve organik matriksi ile kalsifiye kartilajı çözmektir. Bu süreç sonunda “Howship Lakünaları” olarak adlandırılan kemik yüzeyi erozif alanları oluşur. Osteoklastlar, kemik iliğinde yer alan granülositik makrofaj öncülerinden köken alan monositlerin füzyonuyla oluşur. İnterlökin-1, -3, -6 ve -11, TNF- α ve TGF- α 'nın osteoklast oluşumunu etkileyen faktörler olduğu düşünülmektedir. Osteoklastlar hormonlara karşı da çok duyarlıdır. Parathormon, kalsitonin ve osteoblast stimule edici faktör bağlayan reseptörleri vardır. Örneğin paratiroid hormonu hücrede RNA sentezini arttırmada etkili olurken, kalsitonun hormonu bunun tersi etki yapmaktadır. Kemik yıkımı, kemiğin şekillenmesinde önemli rol oynar. Bu olay osteoklast ve osteoblastların uyumlu çalışması neticesinde gerçekleşmektedir (Bancroft ve Stevens, 1996; Kierszenbaum, 2002; Junqueira ve Carneiro, 2003).

2.3.2 Kemik matriksi

Kemik matriksi; organik ve inorganik elemanlardan oluşur. Kemiğin organizmadaki gerekli işlevlerini tam olarak yerine getirebilmesi ancak dokudaki organik ve inorganik matriks elemanlarının uyumlu birlikteliğine bağlıdır. Kemik ağırlığının yaklaşık % 20'si sudur. Hacminin ise çoğunu kollajen oluştururken, kuru kemik ağırlığının % 60-70'ini inorganik kalsiyum fosfat, % 30-35'ini ise organik fibröz protein ve kollajen oluşturur. Kemik iliğine kıyasla, kemikteki hücre sayısı daha azdır (Bancroft ve Stevens, 1996; Kierszenbaum, 2002; Junqueira ve Carneiro, 2003). Kemik organik matriksi osteoid adı verilen, osteoblastlar tarafından salgılanan mineralize olmamış organik yapıdan oluşur. % 90'ını tip I kollajen; % 10'unu ise nonkollajenöz proteinler (glikoproteinler, proteoglikanlar), peptitler, karbohidratlar ve lipidler meydana getirir. Nonkollajenöz proteinlerin büyüme faktörlerinin salınımında, hücrelerin organik matrikse tutunmalarında ve organik matriksin kalsifikasyonunda görevli oldukları düşünülmektedir. Gelişmiş bir kemik dokuda lifler paralel ve porlar bırakacak şekilde dizilmiş olup, aralarında hidroksiapatit kristalleri yerleşiktir (Bancroft ve Stevens, 1996; Kierszenbaum, 2002; Junqueira ve Carneiro, 2003).

Kemik inorganik elemanlarının başında kalsiyum, fosfat, sitrat, magnezyum, sodyum gibi maddeler gelir. Ayrıca vücuttaki kalsiyumun % 99'u, fosforun % 85'i, magnezyum ve sodyumun % 40-60'ı iskelet sistemindedir. Kalsiyum ve fosfat hidroksiapatit kristalleri şeklindedir ve kemik kollajenlerinin yanında amorf madde ile birlikte iç içe organize olmuşlardır. Hidroksiapatit kristallerinin kemikteki önemi, osteoid mineralizasyonu sayesinde, kollajenlerle beraber kemik sertliğini ve dayanıklılığını sağlamasıdır (Bancroft ve Stevens, 1996; Kierszenbaum, 2002; Junqueira ve Carneiro, 2003).

Kemiğin üç temel ögesi olan kollajen, mineraller ve hücreler durağan olmayıp sürekli olarak yenilenirler. Bu yenilenme kemik üzerine etki eden kuvvetlerle bağlantılı olup, basınç altındaki kemikte rezorpsiyon, gerilim kuvvetleri altında ise apozisyon görülür. Ölen hücrelerin yerine yenisi geçerken, kollajen ve mineraller devamlı olarak rezorbe edilip, yeniden oluşturulur. "Remodelling" adı verilen, rezorpsiyon ve depozisyon işlemleri arasındaki denge sayesinde kemiğin şekli ve hacmi neredeyse değişmeden kalır. Rezorpsiyon depozisyon kadar hızlı devam edemediğinde kemiğin kırılabilirliği artar (Paget hastalığı). Yeniden yapılanmadaki (remodelling) dengenin rezorpsiyon lehine bozulmasında ise osteoporoz ortaya çıkar (Cotran ve ark., 1999).

2.3.3 Kemik oluşumu

Kemik iki yolla oluşur. Osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu (intramembranöz kemikleşme) ya da, daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksinin çökmesi (endokondral kemikleşme).

Her iki yolla da, ilk ortaya çıkan kemik dokusu primer ya da olgunlaşmamış kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusu (lamelli kemik) alır. Büyüme sürecinde, primer kemik sahaları yan yana bulunur. Kemik sentezi ve ortadan kaldırılışı (yeniden şekillenme) sadece büyüyen kemiklerde olmayıp, yetişkinlerde de hızını oldukça azaltarak devam eder (Junqueira ve Carneiro, 2003).

Intramembranöz kemikleşme, pek çok yassı kemiğin kaynaklandığı intramembranöz kemikleşmeye, mezenkimal doku yoğunlaşmaları içinde olduğu için bu ad verilmiştir. Frontal ve pariyetal kemiklerin tamamı ile oksipital ve temporal, mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir.

intramembranöz kemikleşmenin kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında da rolü vardır.

Mezenkim yoğunlaşması içinde kemikleşmenin başladığı ilk noktaya **primer kemikleşme merkezi** denir. Olay bir grup mezenkimal hücrenin osteoblasta dönüşmesi ile başlar. Yeni kemik matriksinin oluşmasını, kalsifikasyon takip eder, bunun sonucunda bazı osteoblastların etrafları sarılır ve daha sonra bu hücreler osteosit haline gelirler. Gelişmekte olan bu kemik adacıklarına histolojik kesitlerdeki görüntülerden spikül(iğnecik) adı verilir. Spiküller aralarında kapillerleri, kemik iliği hücrelerini ve farklılaşmamış hücreleri içeren boşluk uzantılarını saran duvarların kesitleridir. Kemikleşme merkezinde hemen hemen aynı zamanlarda böyle birkaç grup ortaya çıkar ve bunlar birleşerek; zamanla süngerimsi yapıyı meydana getirirler. Kemik spikülleri arasındaki bağ dokusuna, kan damarları ve kemik iliği hücrelerini oluşturacak olan fazla sayıda farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin girmesi ile; kemik iliği hücreleri de meydana gelir. Mezenkimal doku yoğunlaşması içindeki hücreler bölünerek, kemikleşme merkezinin devamlı olarak büyümesinden sorumlu olan, daha fazla sayıda osteoblastı meydana getiriler. Birkaç kemikleşme merkezi işinsal olarak büyüüp birleşerek, başlangıçtaki orijinal bağ dokusunun yerini alırlar. Bebeklerdeki bingıldaklar (fontaneller) buna bir örnek olarak gösterilebilirler. Bunlar bağ dokusundan oluşan, kafatasının henüz kemikleşmemiş yumuşak bölgelerine karşılık gelmektedir (Junqueira ve Carneiro, 2003).

Özellikle doğumdan sonra, kafatasının yassı kemiklerinin gerek iç gerekse dış yüzeylerindeki intramembranöz kemik yapımı, kemik yıkımına nazaran belirgin bir üstünlük kazanır. Böylece 2 tabaka kompakt kemik (iç ve dış tabakalar) ortaya çıkar ama merkezi kısım (diploe) süngerimsi yapısını korur.

Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise, intramembranöz kemiğin periosteum ve endosteumunu meydana getirir (Gartner ve James, 2000).

Endokondral kemikleşme, iskelet kemiklerinin büyük çoğunluğu endokondral kemikleşme ile meydana gelir. Hiyalin kıkırdaktan indirekt olarak kemik oluştuğu ve bu kıkırdağın yıkımı gerektiği için de intramembranöz kemikleşmeye göre çok daha karmaşık bir süreçtir (Marieb, 1998). Mezenkimal hücreler, damarlanmadan yoksun olan uzuv merkezlerinde kondrojeniktir. Embriyogenez sırasında kondrojenik yapıdaki hücreler primer olarak tip II kollajen içeren kıkırdak bir yapı üretir.

Dolayısıyla, öncelikle kemiğin mezenkim dokudan hiyalin kıkırdak yapıda küçük bir taslağı oluşur. Kıkırdak modelin ortasında yer alan kondrositler büyüyerek onları çevreleyen kıkırdağı rezorbe eder ve geride trabeküllü bir kıkırdak matriks kalır. Nonmineralize kıkırdağın rezorpsiyonu damarsal invazyon ve makrofajlar yardımıyla gerçekleştirilir. Daha sonra bu kıkırdak matriks kalsifiye olur. Mineralize kıkırdağın rezorpsiyonu ise kondroklastlar denen çok çekirdekli dev hücreler tarafından gerçekleştirilir. Mineralize kıkırdağın rezorpsiyonunu takiben hematopoetik kemik iliği gelişir ve bu kaviteyi daha sonra kemik formasyonu çevreler (Browner ve ark., 2002).

2.3.4 Kemik greftleri

İlk kemik grefti uygulaması 1668'de Hollanda'lı cerrah Jop van Meekeren tarafından yapılmıştır. Bir askerin kafatasındaki travmatik defekti, bir köpeğin kafatasından aldığı kemik greftiyle başarılı bir şekilde kapatılmıştır (De Boer, 1988; Tuncay, 1989). İlk klinik otogreft uygulaması 1820 yılında Almanya'da Ohilips von Walter tarafından yapılmıştır. Walter, Trepanotomiden sonra kafatasındaki defekt alanına otogreft uygulamıştır. İlk allogreft uygulaması, 1880'de İskoçya'lı William Macewen tarafından yapılmıştır. Macewan, 4 yaşındaki bir erkek çocuğun enfekte humerusunu, riketsli bir çocuğun tibiasından alınan greftle başarıyla tedavi etmiştir (De Boer, 1988; Tuncay, 1989).

Tüm dünyada yılda 2,2 milyon kemik greftlemesinin yapıldığı tahmin edilmektedir ve bu işlemler için farklı greft materyalleri kullanılmaktadır. İdeal bir greft materyali osteokondüktif, osteoindüktif, osteogenetik özelliklere sahip olmalı, herhangi bir enfeksiyon riski taşımamalı, kullanıma hazır olmalı, doku uyumlu olmalı ve yabancı cisim ve fibrotik reaksiyona neden olmamalıdır. Ayrıca ucuz olmalı ve kolay elde edilebilmelidir (Van der Stok ve ark., 2011).

Kemik grefti iyileşme mekanizması

Greft, birleşme sırasında başarısız olabilir ve kademeli olarak yok olabilir veya alıcı kemiğin mekanik olarak fonksiyon sağlayan bir parçası haline gelebilir. Başarılı bir greft iyileşmesi için 4 iyileşme fazının başarılı olarak tamamlanması gerekir (Frost, 1989a; 1989b). Büyük boyuttaki greftlerde bu iyileşme süreci küçük boyuttaki greftlere göre daha fazla zaman alır.

Birleşme

Alıcı sahadaki ölü grefti çevreleyen sert ve yumuşak doku canlı ve iyi bir kan desteğine sahip olmalıdır. Greftleme işleminden sonraki birkaç hafta içerisinde alıcı sahada yeni damarlar, interstisyel hücreler ve materyaller ve yeni osteoblastlar oluşarak örgü kemiği meydana getirirler. Böylece, greft-örgü kemik kompleksi oluşur (Frost, 1999). Mekanik destek için greft, örgü kemik ve alıcı kemik arasında sıkı bir bağlantı olmalıdır. Otojen kansellöz kemik bu açıdan bakıldığında halen en iyi greft materyalidir (Frost, 1999). Bu süreç, hücrel proliferasyon, migrasyon, diferensiyasyon, fonksiyon, gen salınımı, adezyon ve apoptozis için gerekli olan birçok mekanik olmayan faktörlere bağlıdır. Bu faktörler, kemik matriksinden, lokal hücrelerden ve kandan sağlanır. Bu birleşme fazı 4 aydan fazla zaman alabilir. Eğer başarısızlık olursa, greft de başarısız olur (Goodman ve ark., 1994).

Yer Değiştirme

Birleşme fazı sona ererken, temel çok hücreli ünitenin yeniden şekillenmesi greft-örgü kemik kompleksinin, lameller kemik ile yer değiştirme sürecini başlatır. Yer değiştirmenin tamamlanması bir yıldan fazla zaman alabilir. Yeniden şekillenme, genellikle mekanik kuvvetlere maruz kalmayan birleşik grefti yavaşça uzaklaştırır. Eğer bu işlemde bir başarısızlık olursa, greft de başarısız olur (Frost, 1999).

Şekillenme

Biraz fazla kuvvet verilmesi ile şekillenme başlayarak greft-örgü kemik kompleksini internal ve eksternal olarak yeniden şekillendirir. Bazı yeni lameller kemik tanecikleri lokal mekanik gereksinimleri karşılamak için sıraya dizilir ve kompleksin trabeküllerini ve korteksini de şekillendirir, güçlendirir (Kenwright ve Goodship, 1989). Bu fazda da yeni oluşan lameller kemik; greft materyali ve alıcı kemik ile sıkıca bağlanmalıdır. Bu fazın tamamlanması bir yıldan fazla zaman alır ve yaşlı hastalarda genç hastalara kıyasla daha uzun sürer. Eğer bu süreç meydana gelmez ise greft başarısız olur (Kenwright ve Goodship, 1989).

Bölgesel Hızlandırıcı Fenomen

Greftleme işlemi sırasında oluşan cerrahi travma, normal olarak alıcı sahadaki tüm bölgesel doku sürecini hızlandırır (Frost, 1999). Bu reaksiyona, bölgesel hızlandırıcı fenomen (BHF) adı verilir. Bu süreç, cerrahi sırasında oluşur ve 2 yıldan daha uzun sürede sonlanır. BHF kemik greft iyileşmesinin tüm fazlarını hızlandırır. BHF'nin başarısızlığı iyileşmeyi ve enfeksiyona direnci azaltır. Bu başarısızlık, kronik ciddi hastalıklar (Tip I diyabet, pulmoner yetmezlik, konjestif kalp yetmezliği, hepatik siroz vb) varlığında ortaya çıkabilir. Bu hastalıklar, kemik iyileşmesinin “biyolojik başarısızlığına” (atrofik nonunion) neden olur (Frost, 1989a; 1989b; 1999). Bazı nonsteroidal anti-inflamatuar ilaçlar BHF'yi baskılayabilir ve greft iyileşmesindeki yer değiştirme ve şekillenme fazlarını yavaşlatabilir (Altman ve ark., 1995; Mei-Ling ve ark., 1995). BHF, zararlı uyarılara karşı oluşan lokal yanıttır. Hangi dokunun, normal bölgesel rejenerasyon işleminden daha hızlı oluşacağını belirler (Shih ve Norrdin, 1985, Frost, 1989a; 1989b). Bu fenomen, çeşitli iyileşme aşamalarını geliştirerek iyileşmenin normal fizyolojik iyileşmeden 2–10 kat daha hızlı olmasını sağlar. BHF hasarın ilk günlerinde başlar, tipik olarak 1–2 ayda maksimum seviyeye ulaşır, genelde kemikte 4 ay içinde sonlanır ve bitmesi 6 veya 24 aydan fazla da sürebilir (Frost, 1989a; 1989b) BHF'nin süresi ve şiddeti uyarının çeşidi ve üretildiği bölge ile direkt olarak orantılıdır. Kemik hasarları için yeniden şekillenme aktivitesinin derecesi kemik hasarının büyüklüğüne, hasar içine dâhil olan yumuşak doku miktarına ve kemik kırığının veya travmanın konfigürasyonuna bağlıdır.

Kırık, mekanik hasarlar ve dental implant uygulaması gibi enfeksiyon içermeyen inflamatuvar hasarlar BHF'yi aktive edebilir. Kemik greftleme cerrahisi ve internal fiksasyon işlemleri de BHF'yi aktive eden diğer etkenlerdir (Misch, 1999). Ancak, hasar patolojik nedeni ise (örn. artrofibrozis, nöropatik yumuşak doku problemleri, romatoid fenomen, sekonder osteoporozis), BHF gecikir veya başlamaz ve iyileşme işleminin tamamlanması meydana gelmeyebilir. BHF'nin yetersiz olduğu durumlarda lameller kemik ile yer değiştiren yavaş kallus formasyonu gözlenir. Bu işlem biyolojik olarak geciken kemik birleşmesi ve/veya birleşmemesine katkı sağlar. Yetersiz BHF ayrıca diabetes mellitus, periferik nöropatiler, bölgesel duyuşal denervasyon, ciddi radyasyon hasarı ve ciddi malnütrisyona gibi birçok medikal durumda da ortaya çıkar. BHF tarafından oluşturulan yeni kemik formasyonundaki artış kemik

hacminde değişikliğe neden olmaz (Bogoche ve ark., 1993). Ayrıca, BHF kortikal kemikte daha çok etkisini gösterir, çünkü kortikal kemikte kemik hücrelerinin normal döngüsü % 2 iken trabeküler kemikte bu oran % 18'dir (Misch, 1999). Kemik onarımı sırasında, her aşamada kemik içerisindeki büyüme faktörleri hücrelerin farklı tiplerinin aktivasyonu üzerinde oldukça önemli rol oynarlar. Bu faktörler BHF sürecinin çok önemli bir parçasıdır. Prostaglandin E₁ ve bifosfonatlar gibi biyokimyasal ajanların da BHF'yi kolaylaştırdığı gözlenmiştir (Shih ve Norrdin, 1987). Buna ek olarak, BHF'ye genellikle sistemik hızlandırıcı fenomen olarak adlandırılan sistemik yanıt ta eşlik eder. Bu sistemik yanıt lokal yanıtta benzer bir metabolik yanıt oluşturur. Hayvanlarda, mandibuler kemikte mukoperiosteal cerrahiden sonra BHF varlığı (Yaffe ve ark., 1995). Sonuç olarak, greft iyileşmesinin bu dört fazında başarı sağlandığında mekanik olarak fonksiyon görebilecek başarılı bir alıcı kemik-greft kompleksi elde edilir.

Kemik greft materyalleri

Kemik greftleri, elde edildikleri dokulara ya da üretildikleri maddelere göre; otojen greftler, allogreftler, ksenogreftler ve alloplastik materyaller olarak 4 grupta incelenebilirler.(Precheur, 2007)

Otojen greftler

Otojen greftler, kişinin kendisinden alınan greft materyalleridir. Alınan greft uzak bir sahaya transplante edilebilir (Heterotopik) veya aynı bölgede kullanılabilir (Ortotopik) (Kökden ve Türker, 1999). Otojen greftler altın standart olarak kabul edilmektedir. Kişinin kendisinden alındıkları için osteoindüktif, osteokondüktif, osteogenetik özelliklere sahiptirler ve enfeksiyon taşıma riskini ortadan kaldırırlar (Precheur, 2007). Otogreftler en sık olarak iliak kemikten, tibiadan, kostalardan ve kalvaryumdan,; ağız içinden ise simfizden, ramustan, tüber bölgesinden, ekzostozlardan, iyileşme durumundaki diş çekim socketinden ve interseptal alveol kemiğinden elde edilir (Kökden ve Türker, 1999).

Otojen greftler kortikal, kansellöz yada kortiko-kansellöz yapıda olabilir. Kansellöz greftler spongiyoz yapılarından dolayı revaskülarize olma özelliğine sahiptirler. Revaskülarizasyon, greftin yerleştirilmesini takiben beşinci günde başlar. (Wilk, 2004). Revaskülarizasyon öncesinde greftin hücre sel canlılığı greftin

beslenmesine ve plazmatik difüzyonla beraber metabolik artıkların eliminasyonuna bağlıdır (Heslop ve ark., 1960.) Kansellöz greftler ilk uygulandıkları dönemde yeterli dayanıklılığa sahip değildir ve fizyolojik stres stimülasyonu, greftin boyutsal stabilizasyonunu koruması ve dayanıklılığın artması için büyük önem taşır (Duncan ve Turner, 1995; Oxlund ve ark., 1998). Kortikal greftlerde osteoblastik kemik formasyonunu osteoklastik aktivite takip eder. Bu döngüye "sarmaşık hareketi" denir. Bu hareket sonucunda belirlenemeyecek düzeyde nekrotik alanlar meydana gelebilir (Enneking ve ark., 1975). Başlangıç rezorpsiyonunu takiben greftin boyutunda azalmalar meydana gelebilir. Kortikal greftler ilk yerleştirildikleri anda sağlam kemikten % 40 ile % 50 oranında daha zayıftır (Wilk, 2004).

Otojen greft her ne kadar altın standart olarak kabul edilse de alınabilecek greft miktarının sınırlı olması, morbidite riskinin bulunması gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Bu durum zaman zaman çalışmacıları farklı greft materyalleri kullanmaya yöneltmektedir (Precheur, 2007).

Allogreft

Allogreftler, alıcı ile aynı türden olan, ancak genetik olarak farklı bireylerden elde edilen kemik dokularıdır. Taze dondurulmuş kemik, dondurulmuş kurutulmuş kemik ve demineralize edilmiş kemik matriksi olarak sınıflanabilirler (Precheur, 2007). Allogreftlerin immünolojik komplikasyonlarını ve hastalık taşıma potansiyellerini ortadan kaldırmak için hazırlanmalarındaki son teknikler, dondurma, dondurup kurutma gibi kriyobiolojik metodlar ya da radyasyona tabi tutmadır (Precheur, 2007). Vericiden alıcıya geçebilecek önemli virüsler vardır ki bunlar; İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü (HIV), Jakob- Creutzfeldt hastalığı (CJD) ve Hepatit oluşturan virüs serileridir (Marx ve Carlson, 1993). Yapılan bir çalışmada allogreftler aracılığıyla HIV bulaşma olasılığının 1.6 milyonda 1 olduğu belirtilmiştir (Boyce ve ark., 1999), ayrıca 1992 yılında bir hastaya hepatit B ve üç hastaya hepatit C transferinin gerçekleştiği belirtilmiştir. (Tomford, 1995). Demineralize edilmiş kemik matriksi, kemikte mevcut olan mineral yapının ortadan kaldırılmasıyla elde edilir. Bu işlem sırasında kemiğin mekanik özellikleri azalır. Ancak, kemik matriksinde mevcut olan BMP gibi proteinler açığa çıkar. Bu tür kemik greftleri yerleştirildikleri bölgelerde osteoindüktif etki gösterirler (Zhang ve ark., 1997). Alıcı kemikte ve çevre dokularda revaskülarizasyonun iyi olması

durumunda allojenik banka kemiği otojen greftten beklenen kadar iyi sonuç verir. Dondurulmuş kurutulmuş kemiklerde osteojenik indüksiyon kapasitesi az olduğundan ve rezorbsiyonu sırasında bir miktar fibröz doku ile yer değiştirdiğinden, greft bölgesinde bir küçülme beklenir. Bu durumda, greft tamamen yer değiştirdikten sonra kemik kaybının en az % 50 olacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Banka kemikleri osteoindüksiyon, osteokondüksiyon ve rezorbsiyon kombinasyonları ile iyileşir (Buck ve Malinin, 1994; Harris ve Cooper, 2004).

Ksenogreftler

Bu tür kemik greftlerinde alıcı ile vericinin türleri birbirlerinden farklıdır. Genellikle memeli hayvanların kemiklerinden ya da mercanların dış iskeletlerinden elde edilirler. Memeli hayvanlardan at, sığır ve domuz sıklıkla greft kaynağı olarak kullanılırlar. Bu kemikler etilen diamin gibi organik çözücülerde bekletilerek organik bileşenlerinden arındırılırlar. Daha sonra geride kalan inorganik matriks sterilize edilerek kullanıma hazırlanır. Bu şekilde greft materyalinin immün yanıt meydana getirmesi engellenir. İnorganik ve proteinsiz olan bu yapı doymamış kalsiyum apatit kristallerinden oluşur (Kalfas, 2001). Anorganik dana kemiği ile yapılan çalışmalarda greftin osteotomi alanlarında başarılı sonuçlar verdiği ancak, posttravmatik deformite ve hipoplastik alan düzeltmelerinde yetersiz kaldığı görülmüştür (Hislop ve ark., 1993). Sığır kemiklerinden elde edilen ksenogreftlerin biyolojik özelliklerini arttırmak için bu greft materyallerinin ince bir nano-kristal film kalınlığında kalsiyum fosfat tabakası ile kaplanması yöntemi kullanılmaktadır. Kaplamayı oluşturan kalsiyum ve fosfat iyonları çözünerek konak kemiğin osteojenik hücrelerinin daha hızlı farklılaşmasını sağlamak ve matriks işlevi görmektedir. Ayrıca, kalsiyum fosfat kaplamanın kandan PGDF ve TGF- β gibi büyüme faktörlerini bölgeye çektiği ve osteoblastların farklılaşmasını sağladığı öne sürülmektedir (Daculsi, 1998; Kalfas, 2001). Mercan, kemiğe yapısal olarak yakınlığı ve biyolojik olarak inert bir madde olması nedeni ile ideal bir greft materyalidir. Doğal mercan, osteoklastlar tarafından yavaş yavaş rezorbe edilirken, serbest kalsiyum iyonları osteoblastlar tarafından kullanılarak yeni kemik oluşturulur (Kökden ve Türker, 1999). Blok formları, plastik ve rekonstrüktif cerrahi ile maksillofasiyal cerrahide onlay greft olarak kullanılırken, granül formları periodontal kemik defektlerinde, çekim kavitelerinde ve küçük kist operasyonlarından sonra kullanılmaktadır (Kökden ve Türker, 1999).

Alloplastik materyaller

Alloplastik kemik greftleri, canlı dokulardan elde edilmeyen, sentetik olarak üretilen maddelerdir (Kalfas, 2001; Precheur, 2007). Kranial, mandibuler, maksiller, nasal, zigomatik, TME rekonstrüksiyonlarında veya travmayı takip eden ogmentasyonlarda kullanılan alloplastlar; katı (solid) veya kafes metaller, katı veya gözenekli polimerler, hidroksiapatit ve buna bağlı kalsiyum trifosfat seramikler veya bu materyallerin gözenekli formlarının kombinasyonlarıdır (Precheur, 2007). Rekonstrüksiyon veya kontur düzeltilmesi için kullanılan cerrahi metaller veya metalik bileşikler; titanyum ve titanyum bileşikleri, 316 L paslanmaz çelik ve kromkobalt-molibden alaşımlarıdır (Kökden ve Türker, 1999).

Alloplastlarda bulunması gereken özellikler;

1. İmmünojenik olmamalı, doku dostu olmalı,
2. Fonksiyonun gerekli olduğu yerlerde sert doku sağlamlığı ve esnekliğine sahip olmalı,
3. Operasyon sırasında adaptasyon için rahat şekillendirilebilir olmalı,
4. Bozulmaz ve reaktif olmayan bir yüzeye sahip olmalı,
5. Elastikiyeti greft-doku yüzeyi arasındaki konnektif dokuya benzer olmalı
6. Uygulandığı bölgede yeni kemik oluşana dek bütünlüğünü korumalı,
7. Doğal kemik oluşumuna izin verecek biçimde düzenli olarak rezorbe olabilmeli,
8. Kolay steril edilebilmeli,
9. Doku geçişine izin verecek biçimde delikli yapıda olmalı,
10. Osteoindüktif greft materyalleri ile birlikte kullanılabilirdir (Kökden ve Türker, 1999; Kalfas, 2001).

Günümüzde mevcut seramikler bu özelliklerin bir çoğunu karşılayabilmektedir. Sentetik kaynaklı greft materyalleri otojen veya allojen greftlemelerde tamamlayıcı olarak kullanılabilirdiği gibi, büyüme faktörü, antibiyotik gibi greftleme operasyonlarında gündeme gelen destekleyici ürünler için taşıyıcı görev alabilirler. Kemik bölgesinde kullanılan seramik türleri ve özellikleri Tablo 4'de gösterilmiştir (Bowers ve ark., 1985, Precheur, 2007).

Tablo 4. Kemik bölgesinde kullanılan seramik türleri ve özellikleri

Materyal Adı	Özelliği
Kalsiyum Fosfat Seramikler	Kemiğin inorganik matriksini oluşturur
Rezorbe Olabilen HA	Hızlı biyo-erime
Trikalsiyum Fosfat	Biyo-eriyebilir, sertleşme özelliği var
Yoğun HA	Yüksek biyo-uyumluluk, biyo-eriyebilirlik yok
Poröz HA	Kemik integrasyonu çok iyi, düzensiz biyo-erime
Biyo-cam	Yüksek biyo-uyumluluk, yavaş biyo-erime
Kalsiyum Karbonat Türevleri	Biyo-eriyebilirliği düzensizdir
Paris Alçısı	Hızlı biyo-erime

Şu ana kadar anlatılan bilgiler ışığında, çalışmamızda rat kalvaryalarında oluşturulan kemik defektlerinin greftlenmesi ile birlikte ZA'nın bu defektlerdeki yeni kemik oluşumu üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamızın deneysel kısmı OMÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezinde, histolojik ve stereolojik incelemesi ise OMU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

OMÜ Deney Hayvanları Etik Kurulunun 2011/13 numaralı onayı alındı. Çalışmamız, OMÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından PYO.DIS.1904.11.07 no'lu proje adı altında desteklendi. Çalışmamızda 48 adet dişi erişkin, ortalama ağırlığı 250-300 g spraque dawley cinsi rat kullanıldı. Denekler, bağıl nem oranı %40-60, 22 ± 1 ° C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamı sağlayacak şekilde otomatize edilmiş odada, standart kafeslerde saklandı.

Bütün ratlara overektomi işlemi uygulandıktan 6 hafta sonra hayvanların kalvariyasında kritik boyutta kemik defektleri açıldı her bir grupta 8 adet rat olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Bu gruplar;

Grup 1- Kontrol grubu

Grup 2- Yalnızca ZA uygulanan grup

Grup 3- Otojen kemik grefti uygulanan grup

Grup 4- Otojen kemik grefti ve ZA uygulanan grup

Grup 5- Allogreft (Mineross) uygulanan grup

Grup 6- Allogreft (Mineross) ve ZA uygulanan grup

3.1. MinerOss Kemik Grefti

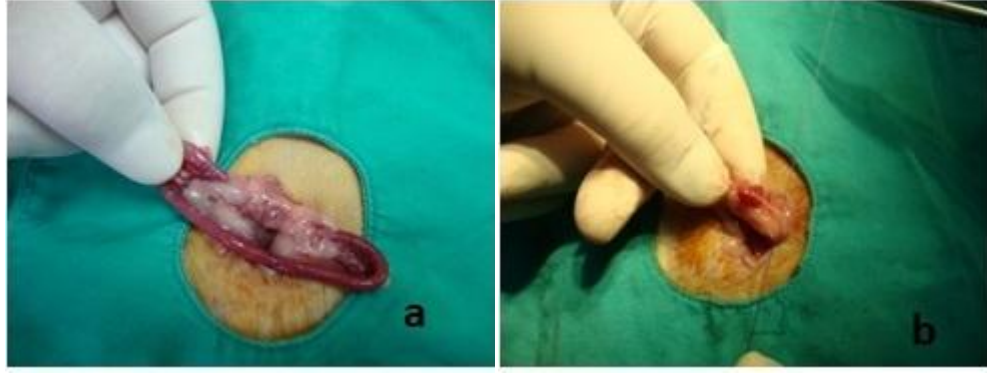
MinerOss® (Osteotech, Inc. Eatontown, New Jersey), mineralize kortikal ve kansellöz kemik tozu karışımından meydana gelen insan kaynaklı greft materyalidir. Greft partikül boyutu 750-1400 mikron arasındadır (Şekil 1).



Şekil 1. MinerOss® (Osteotech, Inc. Eatontown, New Jersey)

3.2. Overektomi Tekniği

Deneklere 50 mg/kg İ.M. ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar®, Parke Davis) ve 10 mg/kg Xylazine intraperitoneal enjeksiyonu ile genel anestezi uygulandı. Standart postüre getirilip sabitlenen deneklerin arcus costalar ve inguinal bölgelerle sınırlı alandaki tüyler tıraşlanıp, bölge povidon iyot çözeltisi ile temizlendikten sonra 2 cm'lik insizyon yapıldı. Abdominal kaviteyi çevreleyen kaslar (m.obliques externus abdominis, m.obliques internus abdominis) ve abdominal kaviteyi çevreleyen membran (periton) açıldıktan sonra, omentum ekarte edilerek ovaryuma ulaşıldı (Şekil 2a). Proksimalde mesoovaryumdan, distalde ise cornu uterustan 4/0 poly (glicolide-co-lactide) emilebilen dikiş (Medsorb PGLA) ile bağlandı (Şekil 2b). Overler her iki tarafta da bu işlemler uygulanarak çıkarıldı. Kanama kontrolü yapılarak m.obliques externus abdominis ile m.obliques internus abdominis ve cilt altı dokular 4/0 poly (glicolide-co-lactide) emilebilen dikiş (Medsorb PGLA) ile suture edildi. Cilt ise 3/0 ipek dikiş materyali (Medeks ipek) ile eşit aralıklarla kapatıldı. Denekler kontrol edilip yara bakımları yapılarak kafeslerine yerleştirildi. Overektomiyi takip eden 6 haftalık zaman zarfında deneklere hiçbir uygulama yapılmadı.



Şekil 2. a. Ovaryumlara ulaşılması b. Overlerin bağlanması

3.3. Cerrahi Teknik

Overektomiyi takiben 6 hafta sonunda deneklere 50 mg/kg İ.M. ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar®, Parke Davis) ve 10 mg/kg Xylazine intraperitoneal enjeksiyonu ile genel anestezi uygulandı. Aseptik hazırlıktan sonra deneklerin kalvaryumunda semilüner insizyon atılarak tam kalınlık flep kaldırıldı. Ratların kalvaryumunda sagittal suturun bir kısmını da içine alacak şekilde kritik boyutta (kendi kendine iyileşemeyecek), standart kemik defektleri (5 mm çapında) oluşturuldu (Şekil 3). Kritik boyutta defektler oluşturulduktan sonra;

1. grupta, herhangi bir ek işlem uygulanmadı ve flep primer kapatıldı.

2. grupta, herhangi bir ek işlem uygulanmadı ve flep primer kapatıldı.

Operasyondan bir hafta sonra 0,1 mg/kg intraperitoneal ZA enjeksiyonu yapıldı.

3. grupta, kemik defekti oluşturulmadan otojen greft elde etmek amacıyla, deneklerin sol bacağına medial yüzeyi tıraşlanıp povidon iyod solüsyonu ile dezenfekte edildikten sonra bacak fleksiyon pozisyonuna getirilerek tibiaların medial yüzeyine ulaşmak amacıyla 20-25 mm uzunluğunda longitudinal yönde cilt, cilt altı ve periost kesisi yapıldı. Künt diseksiyonla tibiaların medial yüzeyleri açığa çıkarılıp yumuşak dokular ekarte edildi. Tur motoruna bağlı piyasemene takılan 3 mm çapındaki yuvarlak uçlu paslanmaz çelik frezle, steril serum fizyolojik çözeltisi irrigasyonu altında kemiğin korteks ve medulla tabakalarını içine alan otojen kemik grefti elde edildi (Şekil 4). Cilt 3/0 ipek dikiş materyali (Medeks ipek) ile eşit aralıklarla kapatıldı. Elde edilen otojen greft, kemik öğütücüsü yardımıyla partiküllere ayrıldı ve defekt alanına uygulandı. Flep primer kapatıldı.

4. grupta, 3. grup için uygulanan teknikle otojen greft elde edilip defekt alanına yerleştirildi. Flep primer kapatıldı. Operasyondan bir hafta sonra 0,1 mg/kg intraperitoneal ZA enjeksiyonu yapıldı.

5. grupta, açılan defekt alanına Mineross greft materyali uygulandı (Şekil 5). Flep primer kapatıldı.

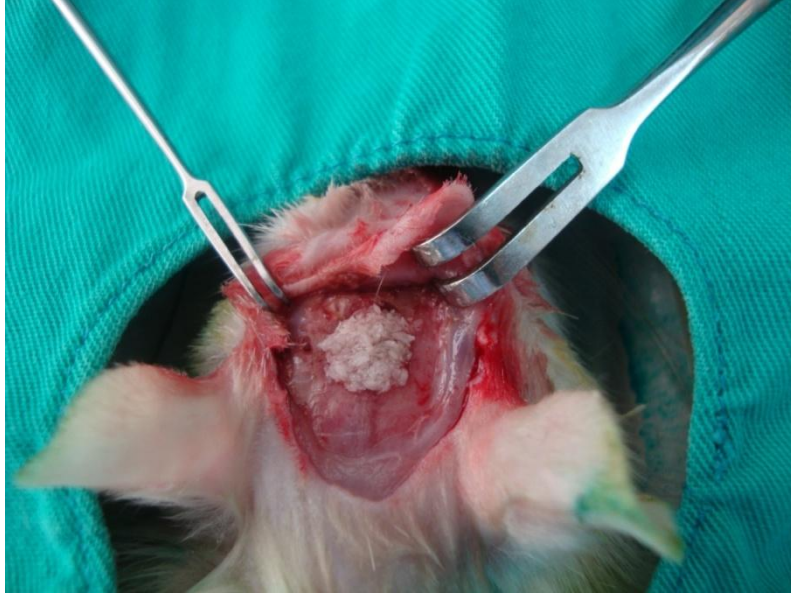
6. grupta, defekt alanına Mineross greft materyali uygulandı. Flep primer kapatıldı. Operasyondan bir hafta sonra 0,1 mg/kg intraperitoneal ZA enjeksiyonu yapıldı.



Şekil 3. Deneklerin kalvryalarında kritik boyutta kemik defektinin (5 mm) açılması



Şekil 4. Tibialardan otojen greft elde edilmesi



Şekil 5. Defekt bölgesine Mineross kemik greft materyali uygulanması

Operasyonları takiben hayvanlara 5 gün süreyle i.m yol ile antibiyotik olarak cefazolin sodium (Sefazol, Eczacıbaşı, Türkiye) (50mg/kg) ve analjezik olarak metamizol sodyum (Novalgin, Aventis, Türkiye) verildi. İşlem sonrası hayvanlarda enfeksiyon veya başka bir nedenle ölüm gerçekleşmezken tüm hayvanlar sorunsuz olarak iyileşti.

Çalışma sonrası yeni kemik oluşumunun değerlendirilebilmesi için 8. haftanın sonunda denekler sakrifiye edildi. Kalvaryumlar çıkarılarak radyograflar alındı. Daha sonra histolojik ve stereolojik olarak incelenmesi için formaldehit solüsyonunda muhafaza edildi.

3.4. Radyografik İnceleme

Sakrifikasyon sonrası denek hayvanlarının kalvaryaları çıkarılarak radyografik incelemeleri yapıldı. Elde edilen radyografları standartize etmek için kullanılan periapikal röntgen cihaz ayarları (8 mA, 60 kVP ve 0.2 sn) sabitlendi. Kullanılan filmler kendinden banyo solusyonuna sahipti. Bütün deneklerin kalvaryalarından radyografik görüntü elde edildikten sonra filmler radyoopasite yönünden incelenip yeni kemik ve rezorbe olmayan greft materyalleri değerlendirildi.

3.5. Histolojik Değerlendirme

Elde edilen örnekler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji bölümünde histolojik ve stereolojik olarak değerlendirildi. Gruplardan elde edilen kalvaryaya örnekleri %10'luk formolde (10 ML % 40'luk formaldehit, 90ML distile su) 1 hafta süresince fikse edildi. Sonrasında dokular % 5'lik formik asit solüsyonu içerisinde üç günde bir değişti oda sıcaklığında 21 gün süreyle kontrol edilerek dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon sonrası distile su ile yıkanan dokular alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi. Ardından ksilen serileri ile şeffaflaştırma işlemi yapılarak parafine gömülme suretiyle bloklandı (Tablo 5).

Tablo 5. Parafin takip protokolü

İşlem	Kullanılan Madde	Süre
TESPİT	% 10 FORMALİN	7 gün
DEKALSİFİKASYON	% 5 FORMİK ASİT	21 gün
DEHİDRATASYON	% 70 ALKOL	1 saat
	% 80 ALKOL	1 gece
	% 96 ALKOL	1 saat
	% 96 ALKOL	1 saat
	% 100 ALKOL	1 saat
	% 100 ALKOL	1 saat
ŞEFFAFLAŞTIRMA	KSİLEN	½ saat
	KSİLEN	½ saat
İNFİLTRASYON	KSİLEN-PARAFİN	1 saat
	PARAFİN	1 saat
	PARAFİN	1 saat
GÖMME	PARAFİN	

Bloklardan kontrol grubuna ait bir blok 1/25 örnekleme ile 7 µm kalınlığında, diğer bloklar 1/20 örnekleme ile 7 µm kalınlığında transvers seri kesitler alınarak histolojik yapıyı değerlendirmek için cam lamalar üzerine alındı. Elde edilen kesitler bir gece 60°C etüvde ve ksilende deparafinize edildikten sonra dehidratasyon işlemi uygulanarak hematoksilin-eozin (Harris'in Hematoksileni) yöntemi ile boyandı (Tablo 6). Boyanan tüm kesitler kanada balsamı ile kapatıldı.

Tablo 6. Parafin takip protokolü

İşlem	Kullanılan Madde	Süre
DEPARAFİNİZASYON	60 °C ETÜV	1 gece
DEPARAFİNİZASYON	KSİLEN	5 dakika
	KSİLEN	5 dakika
	KSİLEN	5 dakika
REHİDRATASYON	% 100 ALKOL	5 dakika
	% 96 ALKOL	5 dakika
	% 80 ALKOL	5 dakika
	% 70 ALKOL	5 dakika
YIKAMA	AKARSU	5 dakika
BOYAMA	HEMATOKSİLEN	10 dakika
YIKAMA	AKARSU	5 dakika
DİFERANSİYASYON	ASİT-ALKOL	1 saniye
YIKAMA	AKARSU	5 dakika
BOYAMA	EOZİN	2 dakika
YIKAMA	AKARSU	5 dakika
	% 80 ALKOL	1 saniye
	% 96 ALKOL	1 saniye
	% 96 ALKOL	1 saniye
	KSİLEN	1 saat
KAPAMA	ENTELLAN	

Preparatlar ışık mikroskobunda (Olympus BX50, Tokyo, Japonya) 4'lük (x4) büyütmelelerde incelendi. Sistemden dijital kamera ile alınan görüntülerin stereolojik analizleri bilgisayarda Adobe Photoshop 7.0 programı ile yapıldı.

3.6. Stereolojik Yöntem

Sistemik rastgele örnekleme kuralına göre ilgilenilen doku hacmini ve alanını hesaplamak için koronal olarak alınan, eşit uzaklıkta (1/20) paralel ve seri kesitler kullanılmıştır (Gundersen, 1986). Bu aralık, stereolojinin temel prensiplerinden olan etkinlik prensibine göre, bir örnekten elde edilen sonuçların "hata katsayısı" göz önünde bulundurularak belirlenmiştir (Şahin ve ark., 2001). Yine kurallar dahilinde sistematik rastgelelik göz önüne alınarak ilgili organdan geçen tüm seri kesit görüntüleri ışık mikroskobu altında x4 büyütmelelerde elde edilmiştir. Elde edilen resimler üzerinde greftlenen alanda oluşan bağ dokusu hacmi, yeni kemik hacmi, rezorbe olmayan otojen kemik grefti ve allogreft hacmi hesaplanmıştır. Tüm hacim değerlendirmeleri; eşit aralıklı ve paralel dilimlere ayrılmış bir yapının hacmini hesaplama yöntemi olan Cavalieri prensibine göre yapılmıştır.

Cavalieri prensibinin uygulanması esnasında kullanılan noktalı alan ölçüm cetvelinin nokta aralığı kesit görüntüleri için 4 mm (4000 mikrometre) olarak düzenlenmiştir. Kesit görüntüsü üzerine rastgele biçimde yerleştirilen ilgili noktalı alan ölçüm cetvelindeki noktalardan, ilgilenilen alanla kesişenler sayılmıştır. Tüm hesaplamaların ardından, yeni kemik hacmi, bağ doku hacmi, rezorbe olmayan otojen ve allogreft hacmi değerlendirilmiştir. İlgili yapıların hacmi (V); düşen toplam nokta sayısı (Σp), bir noktanın temsil ettiği alanın [a(p)] ve kesit kalınlığının (t) çarpımı ile aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$V = \Sigma p \times [a(p)] \times t$$

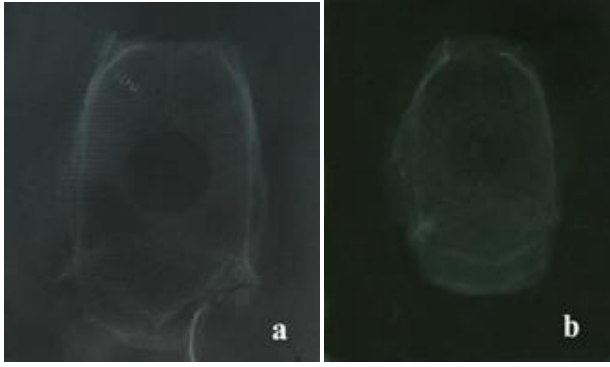
3.7. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel değerlendirmeler SPSS yazılımında (SPSS 17.0 for Windows) yapıldı. Her bir grup için oluşan yeni kemik hacmi, toplam bağ dokusu hacmi ve rezorbe olmayan greft materyali hacimleri değerlendirildi. İki yönlü varyans analizi ile değişken, grup, grup*değişken (etkileşim) incelendi. Daha sonra etkileşimler arası farklılık tek yönlü varyans analizi ile gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

4.1. Radyolojik Bulgular

Elde edilen radyografik görüntüler radyoopasite açısından incelendi. Defekt alanı, yeni kemik oluşumu ve rezorbe olmayan greft materyalleri değerlendirildi. Grup 1 ve 2'nin incelemesi sonucu defekt alanı sınırlarının etrafındaki kemikle çok net olarak ayrılabilirdiği ve defektin neredeyse tamamen radyolüsent olduğu gözlenmiştir (şekil 6a). Diğer gruplar incelendiğinde ise birbirine benzer görüntüler izlenmiştir. Defekt alanı sınırları tam olarak belirlenememekle beraber, defekt alanında radyoopak adacıklar gözlenmiştir (şekil 6b). Bu adacıkların yeni oluşan kemik ve rezorbe olmayan greft materyallerinden kaynaklandığı belirlenmiştir.



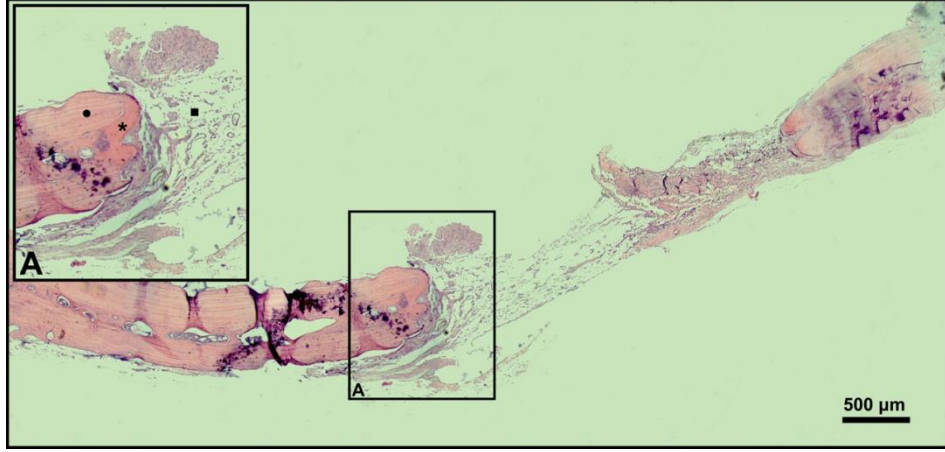
Şekil 6.a. Grup 1(kontrol grubu) radyolojik görüntüsü b.Grup 5 (mineross greft grubu)

4.2. Histolojik Bulgular

Bütün gruplarda 8 hafta sonunda defekt alanındaki bağ dokusu, yeni kemik oluşumu ve rezorbe olmayan greft materyalleri 4 kez büyütme ile elde edilen histolojik görüntülerde değerlendirilmiştir.

4.2.1. Grup 1 (Kontrol grubu)

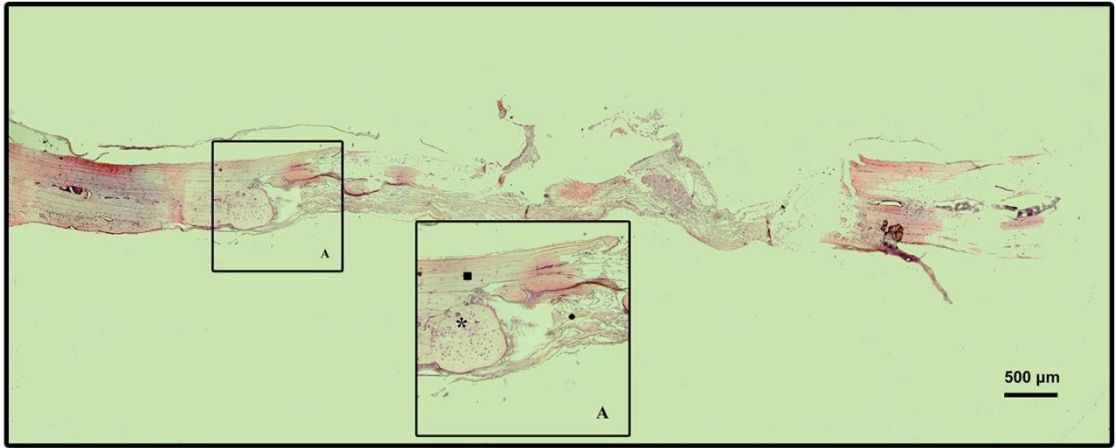
Alınan histolojik kesitlerde, hemen hemen tüm defekt alanını dolduran ve defekt alanına paralel seyreden kollajen dokularla beraber gözlenen bağ dokusu alanı izlenmiştir. Defekt alanının orijinal sınırlarına yakın bölgelerde de yer yer yeni kemikleşme alanları mevcuttur (Şekil 7).



Şekil 7. Kontrol grubu histolojik görüntüsü. Defekt sınırı (eski kemik) (●), Bağ dokusu (■),Yeni kemik (*) işaretleri ile gösterilmiştir

4.2.2. Grup 2 (Yalnızca ZA uygulanan grup)

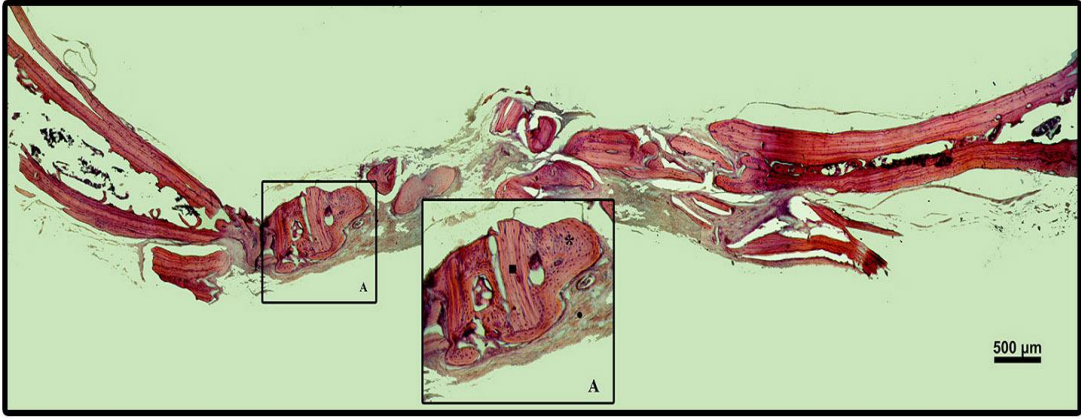
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yeni kemik alanlarında artış gözlenmekle beraber defekt alanında sınırlar arası uzanan yoğun bağ dokusu izlendi. Oluşan yeni kemik alanları defektin orijinal sınırına yakın bölgelerde izlendi (Şekil 8).



Şekil 8. Yalnızca ZA uygulanan grup histolojik görüntüsü. Defekt sınırı (eski kemik) (■), Bağ dokusu (●),Yeni kemik (*) işaretleri ile gösterilmiştir

4.2.3. Grup 3 (Otojen greft grubu)

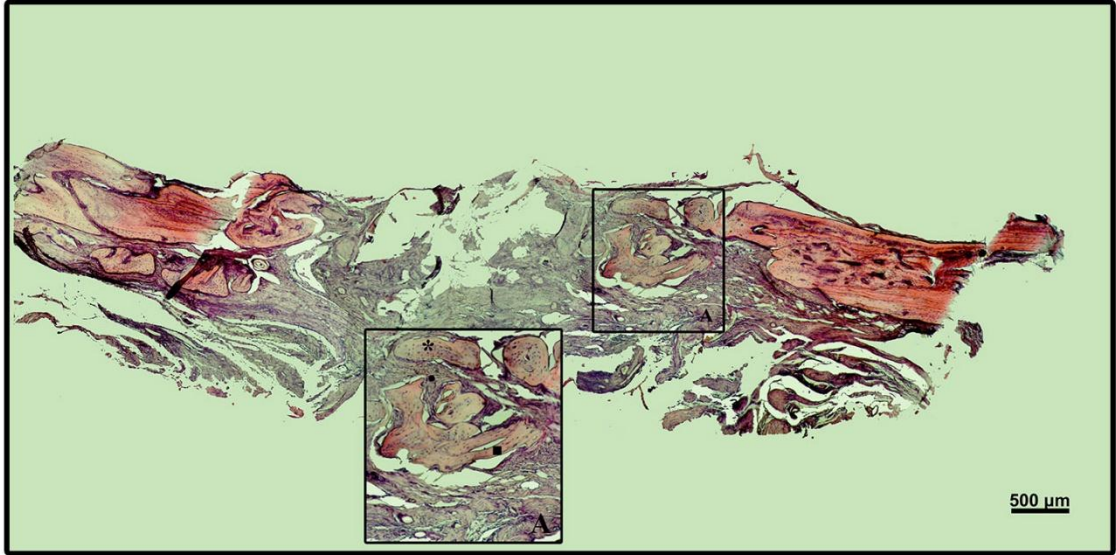
Defekt alanında, bağ dokusu ve rezorbe olmamış greft materyali gözlemlendi. Çoğunlukla defekt sınırlarına yakın bölgede olmakla beraber greft partikülleri etrafında da yer yer yeni kemik alanları izlendi (Şekil 9).



Şekil 9. Yalnızca otojen greft uygulanan grup histolojik görüntüsü. Otojen greft (■), Bağ dokusu (●),Yeni kemik (*) işaretleri ile gösterilmiştir

4.2.4. Grup 4 (Otojen greft ve ZA uygulanan grup)

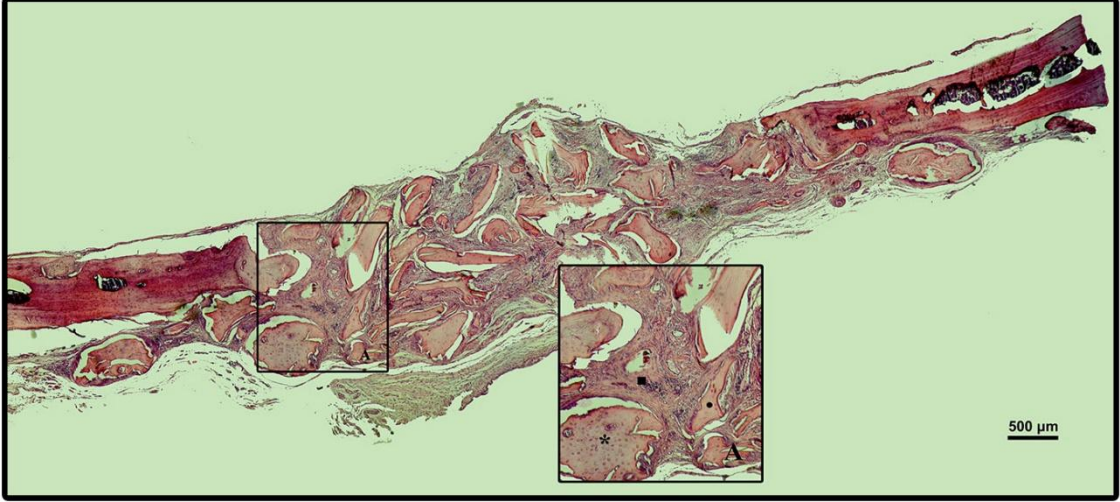
Yeni kemik alanlarında artış gözlenmekle beraber otojen greft kalıntıları da izlenmiştir. Yerleştirilen otojen greft partikülleri etrafında aktif yeni kemik oluşumu ve osteoblastlar gözlemlendi. Defekt sınırları arasında ince bağ dokusu alanı göze çarpmaktadır (Şekil 10).



Şekil 10. Grup 4'ün 8. hafta sonundaki histolojik görüntüsü. Otojen greft (■), Bağ dokusu (●),Yeni kemik (*) işaretleri ile gösterilmiştir

4.2.5. Grup 5 (Mineross greft grubu)

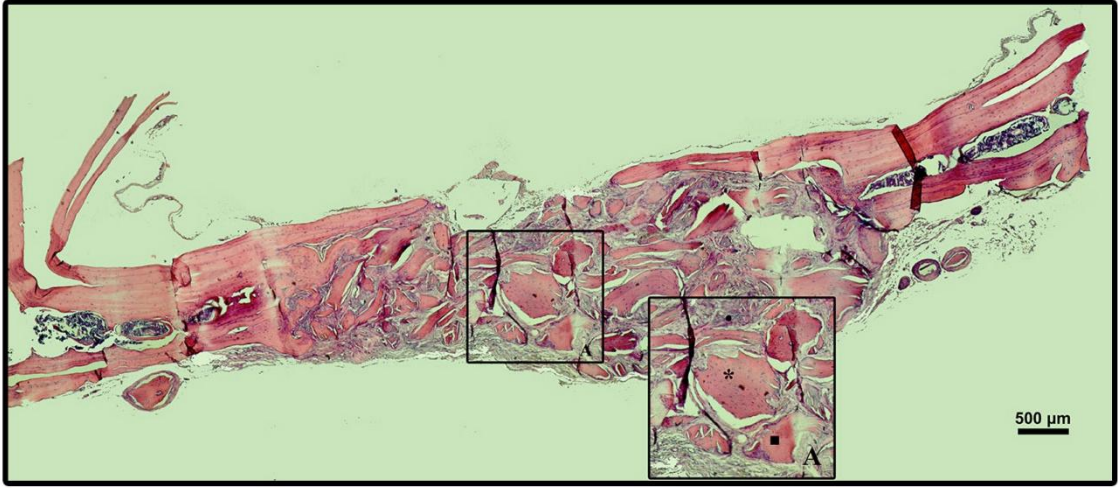
Elde edilen kesitlerde yerleştirilen greft materyalleri ve greft partikülleri etrafında azda olsa yeni kemik oluşumunun başladığı gözlemlendi. Yeni kemik alanları defekt sınırlarına yakın bölgelerde daha yoğun olarak izlendi. Graft partikülleri arasını dolduran bağ dokusu alanı mevcuttu (Şekil 11).



Şekil 11. Yalnızca mineross grefti uygulanan grubun histolojik görüntüsü. Mineross greft (■), Bağ dokusu (●), Yeni kemik (*) işaretleri ile gösterilmiştir

4.2.6. Grup 6 (Mineross greft ve ZA uygulanan grup)

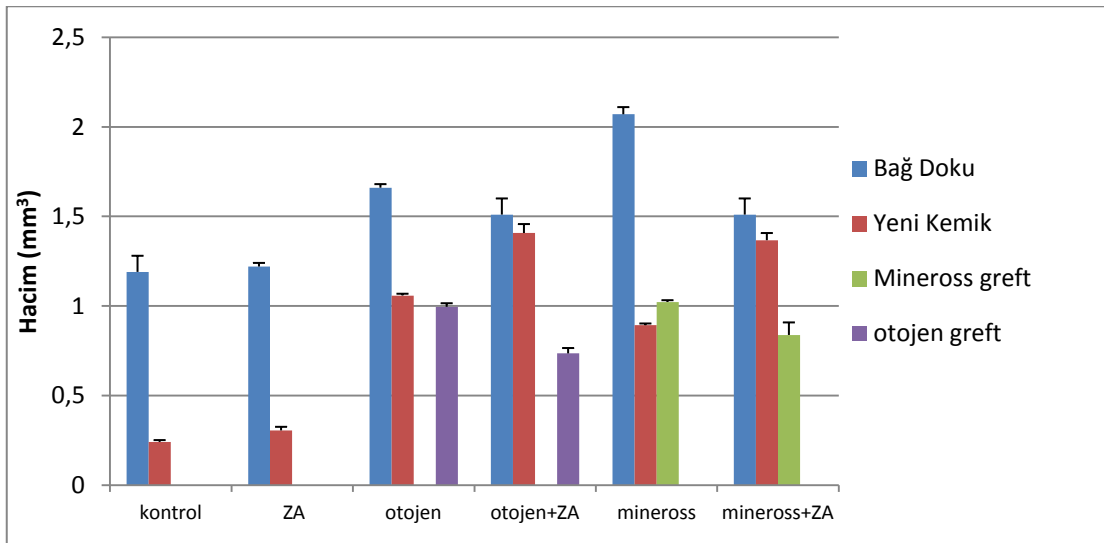
Yalnızca mineross greft uygulanan gruba göre yeni kemik alanlarında artış gözlenmiştir. Graft partikül kalıntıları az olmakla beraber defekt alanında izlendi. Yeni kemik ve greft materyali arasında defekt alanı boyunca uzanan bağ dokusu bulunmaktaydı (Şekil 12).



Şekil 12. Grup 6'nın histolojik görüntüsü. Mineross greft (■), Bağ dokusu (●), Yeni kemik (*) işaretleri ile gösterilmiştir

4.3. Stereolojik Bulgular

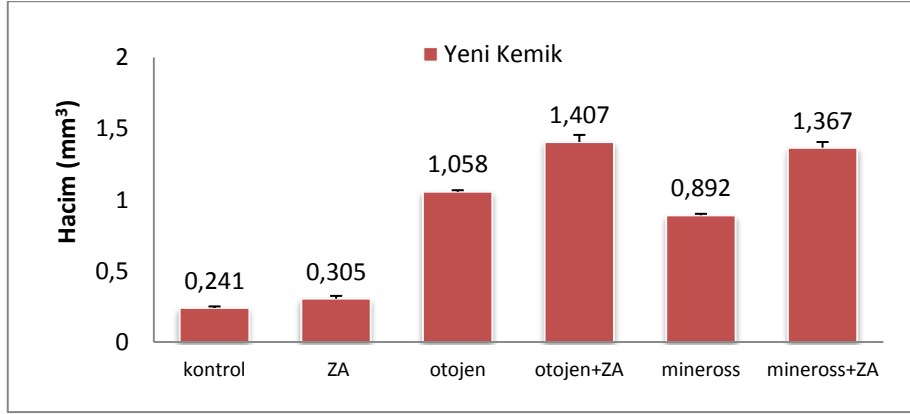
Defekt tamiri operasyonundan 8 hafta sonra, oluşan yeni kemik hacmi, defekt bölgesindeki bağ dokusu hacmi ve rezorbe olmayan greft materyal hacmi stereolojik olarak değerlendirildi (Şekil 13).



Şekil 13. Bütün grupların 8. hafta sonunda stereolojik değerlendirme sonuçları

4.3.1. Yeni oluşan kemik hacmi

8. hafta sonunda yeni kemik hacimleri değerlendirildiğinde en yüksek hacim değeri 4. grupta ($1,407 \text{ mm}^3$) gözlenmiştir, bu grubu sırasıyla 6. grup ($1,367 \text{ mm}^3$), 3. grup ($1,058 \text{ mm}^3$), 5. grup ($0,892 \text{ mm}^3$), 2. grup ($0,305 \text{ mm}^3$) ve 1. grup ($0,241 \text{ mm}^3$) izlemektedir (Şekil 14).



Şekil 14. Gruplara göre yeni oluşan kemik hacmi değerleri

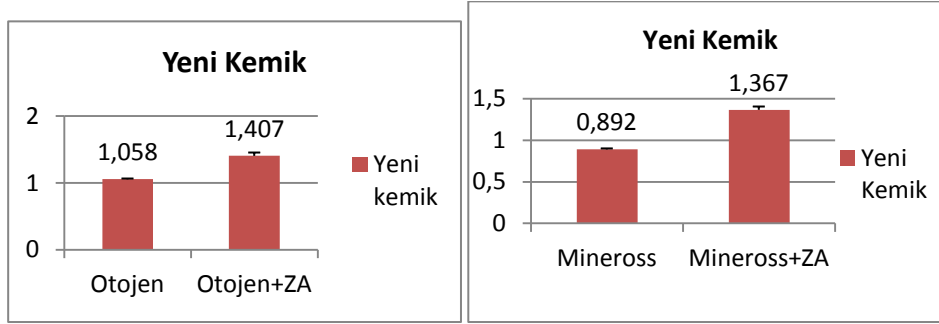
Gruplar yeni kemik hacimleri yönünden kendi aralarında karşılaştırıldıklarında grup 4 ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 7).

Tablo 7. Bütün gruplarda 8. hafta sonunda oluşan yeni kemik hacim değerleri

Gruplar	Ortalama yeni kemik hacmi	Minimum	Maksimum	Standart sapma
Kontrol	0,241	0,204	0,306	0,039
ZA	0,305	0,234	0,340	0,042
Otojen	1,058	0,999	1,107	0,047
Otojen+ZA	1,407	1,158	1,528	0,148
Mineross	0,892	0,832	0,927	0,037
Mineross+ZA	1,367	1,219	1,528	0,116

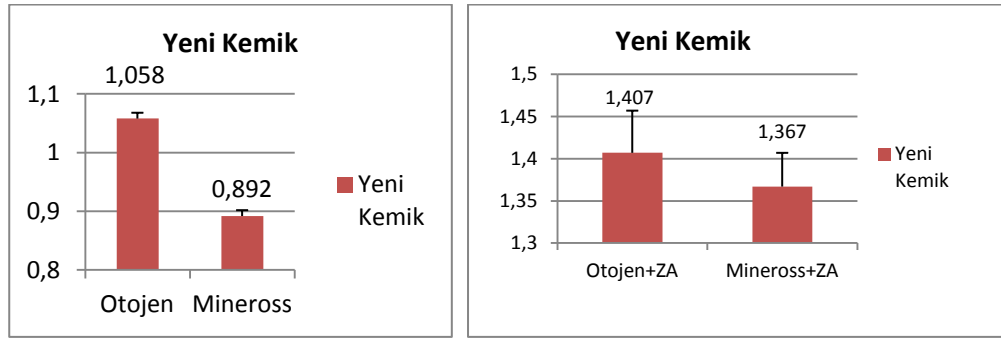
Otojen greft kullanılan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında otojen greftin ZA ile beraber uygulandığı grupta yeni kemik hacmi anlamlı derecede yüksek bulundu. Aynı şekilde allogreft uygulanan grupların kendi aralarında karşılaştırılması

sonucunda da ZA uygulanan grupta oluşan yeni kemik hacminin anlamlı derecede daha fazla olduğu belirlendi ($p<0,05$) (Şekil 15).



Şekil 15. Grupların yeni kemik hacim yönünden karşılaştırılması

Farklı greft materyallerinin yeni kemik oluşumu üzerindeki etkilerini değerlendirmek için gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ise otojen greft kullanılan gruplarda yeni kemik hacmi matematiksel olarak fazla olsa da istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı bir fark bulunamadı (Şekil 16).



Şekil 16. Farklı greft materyalleri kullanılan grupların yeni kemik oluşumu açısından değerlendirilmesi

4.3.2 Bağ Dokusu Hacmi

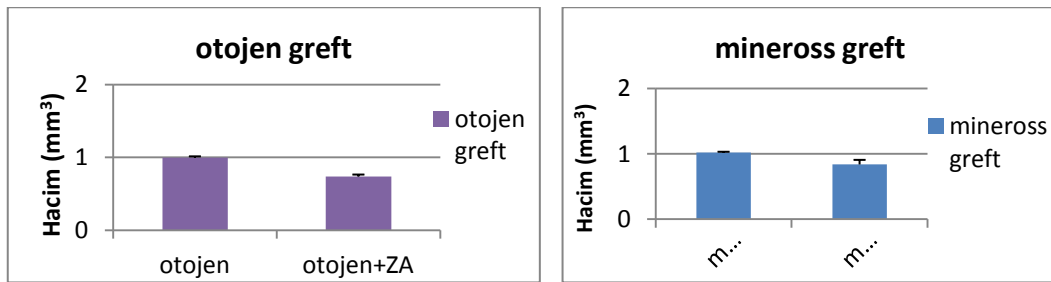
Gruplardaki defekt bölgeleri incelenip bağ doku hacimleri karşılaştırıldığında en yüksek değer Grup 5'te ($2,07 \text{ mm}^3$) gözlenmiştir. Bu grubu sırasıyla grup 3 (1,66), grup 4 ve grup 6 (1,51), grup 2 (1,22) ve grup 1 (1,19) izlemektedir. Gruplar bağ doku hacimleri yönünden kendi aralarında karşılaştırıldıklarında grup 5 ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$) (Tablo 8).

Tablo 8. Bütün gruplarda 8. hafta sonunda oluşan bağ doku hacim değerleri

Gruplar	Ortalama bağ doku hacmi	Minimum	Maksimum	Standart sapma
Kontrol	1,19	0,95	1,60	0,24
ZA	1,22	1,15	1,33	0,06
Otojen	1,66	1,61	1,75	0,05
Otojen+ZA	1,51	1,12	1,69	0,23
Mineross	2,07	1,95	2,20	0,11
Mineross+ZA	1,51	1,12	1,75	0,23

4.3.3. Rezorbe Olmayan Greft Materyali Hacmi

Grup 1 ve 2 de herhangi bir greft materyali kullanılmadığı için sadece 3,4,5 ve 6 nolu grupların kesitleri ele alındı. Farklı greft materyalleri kullanıldığından dolayı ZA'nın bu greft materyalleri üzerindeki etkisini incelemek için değerlendirmeler aynı greft materyali uygulanan gruplar arasında yapıldı. Buna göre grup 3 ve 4, grup 5 ve 6 kendi aralarında karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Her iki inceleme sonunda da gruplar arasında hacimsel olarak farklılık olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$) (Şekil 17).



Şekil 17. Gruplara göre rezorbe olmayan greft materyali hacim değerleri

5. TARTIŞMA

Kraniofasial ve maksillofasial deformite ve defektlerin tedavisinde çeşitli greft materyalleri kullanılmaktadır. İdeal kemik grefti osteogenetik, osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklere sahip olmalı, kan damarlarının oluşması ve osteojenik hücrelerin yerleşmesi için iskelet görevi görmeli ve immün reaksiyona neden olmamalıdır. Bu özelliklere sahip olduğu için otojen kemik greftleri altın standart olarak kabul edilmektedir fakat donör saha morbiditesi, sınırlı miktarda greft elde edilmesi ve postoperatif komplikasyon riskinin olması gibi dezavantajları, çalışmacıları farklı greft materyalleri kullanmaya yöneltmiştir (Pripatnanont ve ark., 2009).

Allogreft kemik materyalleri, iskeletsel defektlerin rekonstrüksiyonu için en sık kullanılan materyallerden biridir (Mankin ve ark., 1982; Jofe ve ark., 1988; Clohisy ve Mankin, 1994; Vastel ve ark., 2007). Allogreft yerleştirildikten sonra kemikleşme, alıcıya ait hematopoetik hücrelerle beraber osteoblastların greft etrafını sarması ile başlar (Burchardt, 1983; Kandel ve ark., 1984; Enneking ve Mindell, 1991). Allogreftin etrafı sarıldıktan sonra greft yavaş yavaş rezorbe olmaya başlar ve rezorbe olan bölgelerde yeni kemik apozisyonu izlenir (Enneking ve Mindell, 1991).

Kemik iyileşmesi birçok kompleks basamağa sahip olan fizyolojik bir süreçtir. Bu fizyolojik süreç yeni kemik oluşumunu kontrol ederken bir yandan da hastalık veya yaralanma esnasında kemik yıkımına neden olur. Osteoblast ve osteoklastlar bu mekanizmadan sorumlu iki ana hücre olarak işlev görürler. Kemik greftleme işleminin başarılı olabilmesi için bu hücreler arasındaki ilişkinin dengede olması gereklidir. Eğer bu denge bozulursa iyileşme sürecinde gecikme veya tamamlanamama durumu ortaya çıkar (Little ve ark., 2007).

Osteoporozlu hastalarda, iskelet sistemindeki bu denge bozulur, kemik yapısı zayıflar ve kemik kırılabilirliğinde artış gözlenir (Raisz, 2005; Seeman ve Delmas, 2006). Ortalama yaşam süresinin uzaması ve sedanter karakterli modern yaşam tarzı osteoporozun insidansını arttırmakta ve önemli bir klinik antite olarak karşımıza çıkarmaktadır (Räkel ve ark., 2011). Klinik çalışmalar göstermiştir ki osteoporoz maksilla ve mandibulada kemik kütlesi ve yoğunluğunda kayba neden olmakta, dişlerin çevresinde kemik yıkımını arttırmaktadır (Kribbs, 1990; Von Wowern ve Kollerup, 1992; Jeffcoat ve Chestnuti, 1993; Taguchi ve ark., 1995;1996; Horner ve ark., 1996).

Klinik ve radyolojik olarak yapılan başka bir çalışmada da mandibular kemik yoğunluğunun osteoporotik bireylerde, diğer iskelet bölgeleriyle ilişkili biçimde azaldığı ve alveoler kemikte interdental kemik kalınlığında azalma tespit edilmiştir (Jonasson ve ark., 2001).

Ayrıca normal fizyolojik kemik iyileşmesi sürecinde rol oynayan önemli inflamatuvar medyatörler, sitokinler ve kök hücrelerin işlevlerinin bozulması (McKane ve ark., 1994; Jilka, 1998) hücrelerin anabolik sitokinlere olan duyarlılığının azalması (Marie ve ark., 1989) ve mezenşimal kök hücre sayısının azalması gibi birçok faktör (Marco ve ark., 2005) osteoporotik kemiğe yerleştirilen her türlü biyomateryale karşı olan doku cevabını olumsuz etkilemekte ve başarısızlık riskini arttırmaktadır.

Postmenapozal osteoporoz, primer osteoporoz sınıflamasına dahil edilen, kadınlarda menopoz sonrasında over fonksiyonlarının azalması ve dolayısıyla östrojen yetersizliği sonucu kemik yapım-yıkım dengesizliği ile ortaya çıkan, kemik mineral yoğunluğu ve dayanıklılığında azalmaya neden olan sistemik bir hastalıktır (Kanis, 1997). Cerrahi overektomi yoluyla östrojen eksikliği oluşturulan hayvanlar sıklıkla osteoporoz araştırmalarında kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda da osteoporotik hayvan modelleri oluşturmak amacıyla deneklerimize overektomi işlemi uygulanmıştır. Denek modeli olarak rat tercih edilmiştir çünkü overektomi yapılan ratlar, östrojen azlığında insan iskeletinin önemli klinik belirtilerini taklit edebilmektedir. Bu belirtiler, osteopeni ile birlikte insanlarda olduğu gibi östrojen yokluğunun erken evrelerinde hızlı bir kemik kaybı oluşumu gözlenmesi ve östrojen tedavisinin kemik yenilenmesini baskılaması sonucu osteopeninin önlenmesi olarak sıralanabilir (Kimmel, 1996). Çalışmamızda overektomize rat modeli kullanmamızın bir diğer nedeni ise ratlarda overektomi yoluyla osteoporotik kemik değişikliklerinin kısa sürede oluşturulabilmesidir (Fini ve ark., 2004).

Pereira ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada osteoporotik hayvan modeli için rat tercih etmişler ve bilateral overektomi işlemi uyguladıkları hayvanlarda operasyonu takiben 3 hafta sonra mandibular molar diş çekimi uygulamışlardır. 3, 5, 7, 14, 21 ve 28. günlerdeki sakrifikasyonlarda elde ettikleri mandibulaları histometrik analiz ile incelemişlerdir. Diş çekimini takip eden 3. ve 5. günde çekim soketindeki fibroblastik yapının önemli derecede artıp ilerleyen zamanlarda azaldığını ve buna bağlı olarak yeni

kemik formasyonunun osteoporotik modellerde anlamlı derecede düştüğünü belirtmişlerdir.

Luize ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada 12 haftalık 50 adet rat kullanmışlardır. Ratların yarısına overektomi işlemi, diğer yarısına hiçbir işlem uygulanmamıştır. Overektomiden 30 gün sonra hayvanların kalvaryalarından alınan otojen greftler mandibula angulus bölgesine yerleştirilmiş ve operasyondan sonra 7, 14 ve 28. günlerde sakrifikasyonları gerçekleştirilmiştir. 7. günde sakrifiye edilen hayvanlarda kontrol grubunda olanların histolojik incelemesinde greft ile mandibula arasında granülasyon dokusu ve damarsal aktivite izlenirken overektomi yapılan grupta pıhtı ve yer yer organize olan granülasyon dokuları gözlenmiş, 14. günde sakrifiye edilen hayvanlarda, kontrol grubunda greft ve mandibula arasında yeni kemik formasyonu gözlenirken, overektomi yapılan grupta granülasyon dokusu izlenmiş, 28. günde sakrifiye edilen hayvanlarda ise, kontrol grubunda greftin mandibulaya integre olduğu gözlenirken, overektomi grubunda greft ile mandibula arasında yer yer yeni kemik alanları gözlenmiştir. Çalışmacılar osteoporotik hale getirilen ratlarda yeni kemik formasyonunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede az olduğunu belirtmişlerdir.

Boyd ve ark. (2006) 8 haftalık 20 adet rat kullanarak yaptıkları çalışmada ratların yarısına overektomi işlemi uygulamış ve tibialarının proksimal metafizinde mikro CT analizi ile kemik kaybının normal zamanlamasını araştırmışlardır. Overektomiden sonra kemik hacminin 1. ayda % 33, 3. ayda % 72 oranında azaldığını gözlemlemişlerdir.

Bahsedilen literatür bilgilerinin ışığında çalışmamızda kullanılan 48 adet Sprague-Dawley cinsi rat osteoporotik hayvan modeli oluşturmak amacıyla overektomize edilmiş ve 6 hafta sonra deneklerin kalvaryalarında kritik boyutta kemik defektleri açılarak farklı kemik greft materyalleri uygulanmıştır. Deneklerin ikincil operasyondan 8 hafta sonra sakrifiye edildikleri göz önünde bulundurulduğunda 14 haftalık sürenin osteoporozun etkilerini rat iskeletinde ortaya çıkaracağı düşünülmüştür.

Kritik boyutta kemik defektleri hayat boyu kendiliğinden iyileşmeyecek en küçük kemik içi yara olarak tarif edilebilir ve defekt alanı bağ dokusu ile kaplanır. Literatürde, ratların kalvaryalarında açılan kritik boyutta kemik defektlerinde yeni kemik oluşumunu değerlendiren çalışmalar mevcuttur (Marden ve ark., 1993; Winn ve

ark., 1999; Mardas ve ark., 2002). Kafatasında oluşturulan bu defektin boyutu ile ilgili ise farklı görüşler ve çalışmalar bulunmaktadır.

Akita ve ark. (2004) 120 adet rat kullanarak yaptıkları çalışmada ratların kafatasında bilateral kemik defektleri oluşturmuşlar ve defekt alanlarına insan mezenşimal kök hücre emdirilmiş fosfat salin solusyonu, kemik morfojenik protein ve fibroblast büyüme faktörü uygulamışlardır. Operasyondan 2, 4 ve 8 hafta sonra denekler sakrifiye edilip yeni kemik oluşumu değerlendirilmiştir. Çalışmacılar ratların kafatasında açtıkları kritik boyuttaki kemik defektlerinin çaplarını 4 mm olarak belirtmişlerdir.

30 adet rat kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada deneklerin kafataslarında 6 mm çapında, bilateral kritik boyutta kalvaryal kemik defektleri açılmış ve defektlere trombosit zengin plazma uygulanmıştır. Ameliyattan sonra 4. ve 8. haftalarda denekler sakrifiye edilerek yeni kemik oluşumu yönünden değerlendirilmiştir (Pryor ve ark., 2006).

Nagata ve ark. (2009) ratların kafataslarında 5 mm çapında kritik boyutta defektler oluşturmuş ve defektleri otojen greft ve trombosit zengin plazmanın farklı konsantrasyonları ile doldürmüşlerdir. Bütün hayvanlar 30 gün sonra sakrifiye edilmiş ve defekt alanlarında oluşan yeni kemik alanları değerlendirilmiştir.

Messori ve ark. (2008) 48 adet rat kullanarak yaptıkları çalışmada deneklerin kafataslarında 8 mm çapında kritik boyutta defektler oluşturmuşlardır. Oluşturulan defektlere kalsiyum klorid ve tromboplastin solusyonu ile aktive edilen trombosit zengin plazma yerleştirmişlerdir. Hayvanlar operasyondan sonra 4. ve 12. haftalarda sakrifiye edilerek defekt bölgesindeki yeni kemik oluşumu değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda osteoporotik hale getirilen rat kalvaryalarında sagittal suturuda içine alacak şekilde 5 mm çapında kritik boyutta kemik defekti oluşturulmuştur. Defektler oluşturulduktan sonra denekler altı gruba ayrılmıştır. Grup 1 ve 2'de defektler boş bırakılmış, grup 3 ve 4'de defektlere otojen greft kemik materyali yerleştirilmiş son olarak grup 5 ve 6 'da defekt bölgesine allogreft kemik materyali uygulanmıştır. Çalışma sonunda kontrol grubunda defekt bölgesinde iyileşme gözlenmemesi, açılan 5 mm çapındaki defektlerin, kritik boyutta kemik defekti için yeterli büyüklükte olduğunu ortaya koymuştur.

Literatürde rat kalvaryalarında açılan kritik defektlerde biyomateryal uygulamasına ilişkin çalışmalar mevcuttur ve bu çalışmalarda materyal uygulamasından sonra beklenen süreler farklılık göstermektedir. Kochi ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada ratların kalvaryalarında bilateral 5 mm çapında kemik defektleri oluşturmuşlar ve defektlerden birine hidroksiapatitli diğerine boş rezin kapak yerleştirmişlerdir. Operasyondan hemen sonra, 4., 8. ve 12. haftalarda mikrofokuslu bilgisayarlı tomografi görüntüleri elde etmişlerdir. Tomografi görüntülerine göre 4. haftada sadece kemik defekt sınırlarına yakın bölgelerde yeni kemik oluşumu gözlenirken, yerleştirilen biyomateryal rahatlıkla izlenmekteymiş. 8. hafta görüntülerinde defekt sınırları arasında devamlılığını tamamlamış yeni kemik alanları gözlemlenmiştir. 12. haftada ise kemik dokularının daha fazla mineralize olduğu belirtilmiştir.

Diğer bir çalışmada 20 adet diyabetik rat kullanılmış ve ratların kalvaryalarında 5 mm çapında kritik boyutta defektler oluşturulmuştur. Defektler oluşturulduktan sonra, ratların yarısında defektler boş bırakılırken diğer yarısına trombositten zengin plazma uygulaması gerçekleştirilmiştir. Operasyondan 30 gün sonra hayvanlar sakrifiye edilmiş, histolojik ve histometrik olarak yeni kemik oluşumu değerlendirilmiştir. İncelemeler sonucunda kontrol grubunda sadece defekt sınırına yakın bölgelerde ve az miktarda yeni kemik oluşumu gözlenirken, deney grubunda yeni kemik oluşumunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha iyi olduğu belirtilmiştir (Mariano ve ark., 2010).

Mokbel ve ark. (2008) 36 adet rat kullanarak yaptıkları çalışmada hayvanların kalvaryalarında 8 mm çapında kemik defektleri oluşturmuşlar ve defektlere farklı greft materyalleri yerleştirip bu greft materyallerini yeni kemik oluşumu açısından otojen greft ve kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Denekler operasyondan 2 ay sonra sakrifiye edilmiş, yeni kemik oluşumu histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. İncelemeler sonunda otojen greft kullanılan grupta kemik iyileşmesi en iyi düzeyde bulunmuştur. Otojen greft grubunu ise allogreft kemik materyali uygulanan grubun izlediği belirtilmiştir.

Yukarıda belirtilen araştırmalar da göz önünde bulundurularak çalışmamızda, deneklerin kalvaryalarına açılan defektlere biyomateryal uygulaması gerçekleştirildikten sonra 8 hafta bekleminin yeterli olacağı düşünülmüştür. 8. haftanın sonunda hayvanlar

sakrifiye edilip, yeni kemik oluşumu radyolojik, histolojik ve stereolojik olarak değerlendirilmiştir.

Postmenapozal osteoporozda kemik yapım-yıkım dengesi bozulur ve kemik yıkım aktivitesinde artış gözlenir. Bifosfonat terapisi bu aktiviteyi azaltarak kemik yapısındaki bozulmayı yavaşlatır ve günümüzde osteoporozun medikal tedavisinde en sık kullanılan terapatik ajandır. Pirofosfat sentetik analogları olan bifosfonatlar, kemikte hidroksiapatite bağlanıp, pirofosfatazların etkisine direnç oluşturarak kemik yıkımını azaltırlar (Ste-Marie ve ark., 2011). Bifosfonatlar oral ve sistemik yolla kullanılabilirler. Oral yolla kullanılan bifosfonatların (alendronat, risedronat, ibandronat) postmenapozal osteoporozun önlenmesi ve tedavisinde kullanılması Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Yapılan çalışmalar oral yolla alınan bifosfonatların postmenapozal osteoporozu olan hastalarda kemik mineral yoğunluğunu arttırdığını ve vertebral kırık riskini azalttığını göstermiştir (Black ve ark., 1996; Harris ve ark., 1999; Chesnut ve ark., 2004).

Oral yolla alınan bifosfonatların intestinal absorpsiyon düzeyi %1 düzeyindedir. Bu bifosfonat türleri aç karnına alınmalıdır ve alındıktan sonra absorpsiyonlarını arttırmak için kişinin en azından 30 dakika boyunca hareketli olması gerekir. Ayrıca kullanan kişilerin özefagus irritasyonunu engellemek için ilaç alımından sonra uzanmamaya özen göstermeleri gerekir (Gertz ve ark., 1995). Literatürde oral yolla alınan bifosfonatların kemik iyileşmesi üzerine etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur. Tekin ve ark. (2008) 15 adet Yeni Zelanda tavşanı üzerinde yaptıkları çalışmada tavşanların sol mandibulasına distraksiyon işlemi uygulamışlar ve her grupta 5 hayvan olacak şekilde 3 grup oluşturmuşlardır. Grup 1 deki hayvanların mandibulaları 1 mm/gün oranında, grup 2 deki hayvanlarda 2 mm/gün ve grup 3 deki hayvanlarda 1 mm/gün oranında distrakte edilmiştir. Grup 1 ve 2 de bulunan deneklere postoperatif ilk 3 gün boyunca alendronat enjeksiyonu yapılmış ve tüm denekler operasyondan sonra 45. günde sakrifiye edilmiştir. Yapılan histolojik incelemeler sonucu grup 1 ve 2 deki kemik iyileşme hızı grup 3 e göre anlamlı derecede farklı bulunmuştur. Grup 2 de kemik iyileşmesi grup 1 e göre daha iyi olmasına karşın aralarındaki fark anlamlı bulunmamıştır. Radyolojik incelemeler sonucunda gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmazken grup 2'nin daha dens yapıda olduğu gözlenmiş ve kemik mineral

yoğunluğu incelendiğinde ise deneysel gruplarla kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur.

Toker ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada 40 adet rat denek kullanmışlar ve deneklerin kalvaryalarında 5 mm çapında kritik boyutta defekt oluşturmuşlardır. Defektler oluşturulduktan sonra hayvanlar dört gruba ayrılmıştır. Gruplar, kontrol grubu, sadece otojen greft yerleştirilen grup, otojen greft ve lokal alendronat uygulanan grup ve otojen greft ile sistemik alendronat uygulanan grup olarak sınıflandırılmıştır. Operasyondan 8 hafta sonra denekler sakrifiye edilmiş ve yeni kemik oluşumu açısından değerlendirilmiştir. İnceleme sonucunda lokal ve sistemik uygulanan alendronatın yeni kemik oluşumu üzerine pozitif etkisi olduğu belirtilmiştir.

Werkman ve ark. (2006) erkek ratları kısırlaştırarak osteoporotik model elde ettikleri çalışmada risedronat ile kalsiyum fosfat seyreltisinin yeni kemik oluşumu üzerine etkisini karşılaştırmışlardır. 84 adet rat kullanılarak yapılan çalışmada 63 hayvan osteoporotik hale getirilmiştir. Hayvanların tibialarında 3 mm çapında kortikal defektler oluşturulmuş ve operasyondan bir gün sonra başlayarak gruplara oral yolla sırasıyla, kısırlaştırılmayan kontrol grubuna üç damla distile su, kısırlaştırılan kontrol grubuna üç damla distile su, kısırlaştırılan kalsiyum fosfat grubuna üç damla kalsiyum fosfat seyreltisi ve kısırlaştırılan risedronat grubuna da üç damla sodyum risedronat verilmiştir. Hayvanlar operasyondan sonra 7., 14. ve 28. günlerde sakrifiye edilmiş ve tibiaları çıkarılarak incelenmiştir. Değerlendirmeler sonucunda risedronatın kemik yapımı üzerine etkisinin kalsiyum fosfat seyreltisine göre daha iyi olduğunu belirtmişlerdir.

Jee ve ark. (2010) osteoporotik rat modeli kullandıkları çalışmalarında subkütan olarak enjekte edilen alendronatın çekim soketi iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Hayvanların sol maksiller birinci molarları çekildikten sonra 2., 4. ve 6. haftalarda mikro bilgisayarlı tomografi görüntüleri elde edilmiş ve değerlendirilmiştir. İncelemeler sonunda 2. haftanın sonunda soket dansitesi bütün gruplarda yakınlık gösterirken, 4. haftada, overektomi işlemi uygulanmayan ve uygulanıp alendronat enjekte edilen grupta soket dansitesinin belirgin derecede arttığı izlenmiş. 2. ve 6. haftalar arasında alınan görüntülerde her grupta soket içerisinde yeni kemik oluşumu gözlenirken alendronat enjekte edilen grup hariç diğer gruplarda alveoler kemik yüksekliğinde ciddi şekilde azalma gözlenmiş. Çalışmacılar alendronatın, osteoporotik

modellerde çekim soketinin yeni kemik ile dolmasına katkı sağladığına ve aynı zamanda alveoler kemik yüksekliğinin rezorbe olmasını da engellediğini belirtmişlerdir.

Küçük ve ark. (2011) 30 adet yeni zelandalı tavşanı kullanarak yaptıkları çalışmada lokal ve sistemik olarak kullanılan alendronatın distraksiyon osteogenezisi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda sakrifiye edilen deneklerin mandibulaları radyolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Radyografik değerlendirme için düz radyografi, bilgisayarlı tomografi ve DEXA görüntüleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda bifosfonat kullanılan gruplar arasında yeni kemik mineralizasyonu ve yoğunluğu açısından fark bulunmazken her iki grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha iyi olduğunu belirtmişlerdir.

Osteoporoz tedavisinde kullanılan bir diğer bifosfonat türü zoledronik asittir. ZA nitrojen içeren bifosfonat sınıfındadır ve osteoklast aktivitesini inhibe ederek kemik rezorpsiyonunu engeller (Li ve Davis, 2003). Diğer bifosfonatlar gibi mineralize kemiğe karşı yüksek afinite gösterir ve kemik döngüsünün fazla olduğu yerlerde kalsiyum hidroksiapatit kristallerine bağlanır. In vitro bir çalışmada, ZA, alendronat, ibandronat, risedronat, etidronat ve clodronate ile karşılaştırılmış ve hidroksiapatit kristaline karşı en yüksek afiniteye sahip olan bifosfonatın ZA olduğu belirtilmiştir (Nancollas ve ark., 2006). ZA, sistemik yolla verilen bir bifosfonat türüdür ve oral yolla alınan bifosfonatların özefagus üzerindeki yan etkilerini göstermez ayrıca ZA'nın yılda bir kere sistemik yolla alınmasının da osteoporozlu hastalarda kemik mineral yoğunluğunu arttırdığı belirtilmiştir (Doggrell, 2002). ZA, osteoporozlu hastalarda sağladığı bu avantajlarla beraber bazı olası komplikasyonları da beraberinde getirmektedir. Son 10 yılda bifosfonat kullanımına ait majör komplikasyonlardan sayılan bifosfonatla ilişkili çene kemiği nekrozu (BRONJ) üzerinde bilimsel tartışmalar devam etmekte ve bu durum epidemik bir problem olarak görülmektedir (Marx, 2003; Almäşan ve ark., 2011). Osteonekroz vakalarının büyük oranda sistemik yolla uygulanan potent bifosfonatların kullanımı sonrasında geliştiği ve vakaların çoğunluğunun onkolojik endikasyonla ilacı kullandığı belirlenmiştir. Bununla birlikte oral bifosfonatların kullanımı sonrasında da ender olarak BRONJ vakaları rapor edilmiştir (Marx, 2003; Pazianas ve ark., 2007). BRONJ riskinin bifosfonat ilacının kullanım süresi ile beraber doğru orantılı olarak arttığını belirten çalışmalar mevcuttur (Bamias ve ark., 2005; Bonacina ve ark., 2011). Bu durum göz önünde bulundurulduğunda onkolojik

endikasyonla kullanılan IV bifosfonatların postmenapozal ya da senil osteoporoz tedavisinde kullanılan oral bifosfonatlara oranla daha büyük bir risk taşıdığı görülmektedir. Yapılan bir çalışmada onkolojik endikasyonla bifosfonat tedavisi gören hastalarda BRONJ oluşma riskinin uygulanan tedavinin süresine göre 1/10 veya 1/100 oranında değiştiği belirtilmiştir (Khosla ve ark., 2007). Bununla birlikte son zamanlarda klinik çalışmaları devam eden ve osteoporoz tedavisinde yıllık tek doz gibi daha uzun aralıklarla IV bifosfonatların kullanımı BRONJ riski açısından soru işaretleri oluşturmaktadır. Endikasyona göre uygulanan ilaç dozları düşünüldüğünde onkolojik amaçlı ZA dozunun osteoporozda uygulanan dozun yaklaşık 12 katı olduğu görülmektedir (Bock ve Felsenberg, 2008). Postmenapozal osteoporozda ZA kullanımı ile ilişkili çalışmalarda ZA'nın yıllık tek doz kullanımının kemik mineral yoğunluğunda artışa, kemik döngüsü belirteçlerinde azalmaya neden olduğu ve osteoporotik kırık riskini düşürdüğü rapor edilmektedir (Reid ve ark., 2002; Black ve ark., 2007; Devogelaer ve ark., 2007). Uygulamanın BRONJ ve diğer komplikasyonlar açısından güvenilirliğinin araştırıldığı bir çalışmada tek doz ZA uygulaması yapılan 7714 hasta üzerinde yan etki insidansı değerlendirilmiştir. Bu çalışmada hiçbir hastada kendiliğinden BRONJ görülmemesi, osteoporoz tedavisinde kullanılan onkolojik tedavi dozuna oranla nispeten düşük doz IV bifosfonatların da oral bifosfonatlardan farksız olarak düşük bir BRONJ insidansına sahip olduğunu göstermektedir (Grbic ve ark., 2008). Bizim çalışmamızda da denek hayvanlarına sistemik olarak verilen tek doz ZA sonucu 8 hafta sonunda herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmamıştır.

Binkley ve ark. (1998) overektomize maymunlarda yaptıkları çalışmalarında hayvanlara farklı dozlarda (0.5, 2.5, 12.5mg/kg) subkütan yöntemle ZA enjeksiyonu yapmışlardır. ZA enjeksiyonuna 69 hafta devam etmişlerdir ve bu süre zarfı içinde 13., 26., 39., 52., ve 69. haftalarda deneklerin kemik mineral yoğunluklarını değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda ZA enjeksiyonunun kemik mineral yoğunluğunu arttırdığını ve osteoporozun etkilerini baskıladığını belirtmişlerdir. Ayrıca uzun soluklu bu çalışmada hiçbir hayvanda BRONJ görülmemiş ve herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmamıştır.

ZA'nın, hayvan çalışmalarında pamidronattan 850 kat daha güçlü olduğu (Green, 2001) ayrıca osteoblastların kemik formasyon aktivitelerini ve differansiyasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Reinholz ve ark., 2000). Zoledronik asidin

etkinliği; farklı karakterdeki kemik iyileşme modellerinde, deneysel ve klinik çalışmalarda incelenmiştir. ZA'nın kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Glatt ve ark. (2004) subkütan enjekte ettikleri ZA'nın overektomize rat vertebraları üzerindeki uzun dönem etkisini araştırmışlardır. Denek hayvanlarına farklı dozda ZA enjekte etmişler (0.3, 1.5, 7.5 µg/kg/hafta) ve 52 hafta sonunda ratların vertebralarında uygulanan ZA dozuyla paralel olarak BMD artışı gözlemlendiğini belirtmişlerdir (Glatt ve ark., 2004).

Qi ve ark. (2012) ZA'nın implant osseointegrasyonu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında 56 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanmışlar ve bu tavşanların 40 tanesine bilateral overektomi işlemi uygulamışlardır. Overektomi işleminden üç ay sonra overektomi işlemi uygulanan ve uygulanmayan deneklerin 8 tanesi sakrifiye edilmiş ve overektomize edilen tavşanlarda osteoporoz etkilerini incelemişlerdir. Daha sonra kalan 40 adet tavşana, iliaklarından çift taraflı otojen greft alınarak tibialarına dental implantlar yerleştirmiş ve sırasıyla kontrol grubu, overektomize edilen kontrol grubu, lokal ZA grubu, sistemik ZA grubu ve sistemik+lokal ZA grubu olmak üzere beş gruba ayırmışlardır. İmplant yerleştirilmesinden üç ay sonra denekler sakrifiye edilmiş ve örnekler histolojik yöntemler, bilgisayarlı tomografi görüntüleri ve biyomekanik testler ile değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler sonucunda kemik mineral yoğunluğu overektomize edilen kontrol grubunda ve lokal ZA grubunda en düşük seviyede iken diğer üç grupta benzer değerler gözlemlenmiştir. Biyomekanik testlerde ise implantların osseointegrasyonu açısından en iyi değer sistemik+lokal ZA grubunda gözlemlendiği belirtilmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada Pampu ve ark. (2006) 18 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanmışlardır. Tavşan mandibulaların sol korpusunda distraksiyon osteogenezis işlemi gerçekleştirmişler ve deney grubuna bir defaya mahsus i.v. yolla 0,1 mg/kg ZA enjekte edilmiştir. Hayvanlar 28. günde sakrifiye edilmiş ve mandibulalar kemik iyileşmesi açısından değerlendirilmiş ve ZA kullanımının kemik oluşumu üzerine olumlu etkisinin olduğunu belirtmişlerdir.

Yıldız ve ark.(2010) 36 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanarak yaptıkları çalışmalarında 24 adet tavşana overektomi işlemi uygulamışlar ve overektomi işleminden 8 hafta sonra her grupta 12 adet denek olacak şekilde üç grup oluşturmuşlar. Tavşanların her bir tibiasına birer adet dental implant yerleştirildikten sonra gruplar

sirasıyla overektomi uygulanmayan kontrol grubu, overektomi uygulanan kontrol grubu ve overektomize edilerek sistemik ZA enjeksiyonu yapılan grup olarak adlandırılmıştır. İmplant operasyonundan 8 hafta sonra denekler sakrifiye edilmiş ve implant-kemik kontak analizi, biyomekanik testler ve DEXA sonuçları değerlendirilmiştir. Yapılan incelemeler sonunda sistemik ZA uygulanmasının osteoporotik hayvan modelinde osseointegrasyonu arttırdığını belirtmişlerdir.

Schindeler ve ark. (2011) tibialarında kırık oluşturdukları ratlara rekombinant insan kemik morfojenik proteini ve intraperitoneal yolla 0,1 mg/kg ZA enjekte etmişlerdir. Çalışma sonunda yapılan değerlendirmelerde ZA enjekte edilen grupta kemik rezorpsiyonunun daha az olduğu ve yeni kemik oluşumunun diğer gruplara göre daha iyi olduğunu belirtmişlerdir.

Yukarıdaki literatür bilgilerinden de anlaşılacağı gibi çalışmalarda sistemik ZA enjeksiyonu için farklı uygulama metodları kullanılabilir. Bizim çalışmamızda da ZA'nın defekt tamiri üzerindeki etkisini değerlendirmek için osteoporotik hale getirilen rat modellerine intraperitoneal yolla 0,1 mg/kg ZA enjeksiyonu uygulandı. Defekt alanlarındaki yeni kemik oluşumu incelendiğinde de araştırmamızın sonuçlarının literatür bilgileriyle uyumlu olarak ZA enjekte edilen gruplar diğer gruplarla karşılaştırıldığında, yeni kemik hacimlerinde artış gözlemlendi.

Kemik greftlemelerinde kritik sorunlardan biri de greft materyalinin istenilenden erken rezorbe olmasıdır. Bunu önlemek için bifosfonatlardan yararlanılması da gündeme gelmiştir. Astrand ve ark. (2006) ratlarda yaptıkları çalışmada, ZA uygulamasının, kemik grefti yeniden şekillenme sürecinde, hem eski greft materyalinin hem de oluşan yeni kemiğin rezorpsiyonunu azalttığını göstermiştir.

ZA'nın, greft materyallerinin rezorpsiyonunu önleyerek ve yeniden şekillenmeyi geciktirerek kemik grefti uygulamalarına olumlu etkilerini gösteren benzer çalışmalar da bulunmaktadır. Tagil ve ark. (2006) çalışmalarında donör olarak kullanacakları ratların yarısına subkütan yolla ZA enjeksiyonu diğer yarısına aynı yolla salin enjeksiyonu uygulamışlardır. İlaç enjeksiyonundan bir gün sonra ratlar sakrifiye edilmiş ve tibialarından greft alınmıştır. Alınan allogreftler deney gruplarının tibialarında oluşturulan defektlere yerleştirilmiştir. Operasyondan 6 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edilmiş ve tibiaları değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda salin enjeksiyonu yapılan hayvanlardan elde edilen allogreftlerin 6 hafta

sonunda tamamen rezorbe olduğu fakat ZA enjeksiyonu yapılan hayvanlardan alınan greftlerin ise defekt bölgesinde izlendiğini belirtmişlerdir.

Valimaki ve ark. (2006), rat tibiasına yerleştirdikleri biyoaktif cam sentetik greft materyalinin iyileşmesi üzerine ZA'nın etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada sistemik ZA uygulanan grupta greft partikülleri arasında daha güçlü kemik bağlantıları oluştuğunu gözlemlemişlerdir.

Seo ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada ratların femurlarından aldıkları greftleri denek hayvanlarına nakletmeden önce 5 dakika boyunca 10 mL ZA solusyonunda bekletmişler. Greft operasyonundan sonra 6. ve 12. haftalarda hayvanlar sakrifiye edilmiş ve yerleştirilen kemik greftleri değerlendirilmiş. 6. ve 12. hafta incelemeleri sonucunda ZA içinde bekletilen greftlerin normal allogreftlere göre daha az rezorbe olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda da 8. hafta sonunda greft yerleştirilen gruplardaki rezorbe olmayan materyal hacmi değerlendirildi. Yapılan değerlendirmeler sonucunda literatürden farklı olarak ZA enjeksiyonu yapılmayan deneklerde rezorbe olmayan greft materyal hacminin matematiksel olarak daha fazla olduğu gözlendi. Bu duruma, yapılan çalışmalarda oluşturulan defekt bölgesinin ve ZA'nın farklı uygulama şeklinin neden olabileceğini düşünmekteyiz.

Stereolojik yöntemler, üç boyutlu örneklerin iki boyutlu kesitlerden elde edilen verilere dayanarak, onların gerçekteki üç boyutlu özellikleri ile ilgili yorum yapılmasını sağlarlar ve ilk olarak 1984 yılında Sterio tarafından gündeme getirilmişlerdir (Sterio, 1984; Gundersen ve ark., 1988). Stereolojinin klasik histolojik değerlendirmeye karşı yadsınamaz olan bir üstünlüğü vardır ki o da ilgilenilen nesnenin derinlik boyutunu da incelemeye dahil edebilmesidir. Bu durum kuşkusuz gerçeğe daha yakın sonuçlar alınmasının önünü açmaktadır (Gundersen ve ark., 1988). Literatürde ZA'nın defekt tamiri üzerine etkisini stereolojik olarak inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

İlgilenilen yapının hacmini hesaplamak için en sık kullanılan stereolojik yöntem ise Cavalieri prensibidir ve ilk olarak italyan matematikçi Bonaventura Cavalieri tarafından ortaya konmuştur (Gundersen ve Jensen, 1987). Çalışmamızda örneklerimizin hacimsel değerlendirmeleri yapılırken Cavalieri prensibinden yararlanıldı.

Kemik greft materyallerinin kullanılarak stereolojik yöntemlerle incelendiği çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Jensen ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada domuzlarda sinüs elevasyonu yapmışlar ve greft materyali olarak otojen kemik, Bio-Oss ve bu iki greft materyalinin farklı oranda karışımlarını kullanmışlar. Operasyon öncesi ve 12 hafta sonunda sakrifiye edildikten hemen sonra deneklerden bilgisayarlı tomografi görüntüleri elde etmişler. Yerleştirilen greft materyallerindeki hacimsel değişiklikler elde edilen tomografi görüntüleri üzerinden stereolojik olarak incelemişler.

Osteoporotik rat modelinde ZA'nın defekt tamiri üzerindeki etkisinin incelendiği araştırmamızda overektomize edilen ratların kalvaryalarında açılan kritik boyuttaki kemik defektlerine otojen ve allojenik kemik greft materyalleri uygulandı ve 8. haftanın sonunda sakrifiye edilen deneklerden edilen örneklerdeki oluşan yeni kemik hacmi, bağ doku hacmi ve rezorbe olmayan greft materyali hacmi stereolojik olarak incelendi.

8. hafta sonundaki yeni kemik hacimleri değerlendirildiğinde en yüksek değerin otojen greft kullanılıp sistemik ZA enjeksiyonu yapılan grupta olduğu gözlemlendi ($P < 0.05$). Bu grubu, allojenik kemik greft materyalinin uygulanıp sistemik ZA enjekte edilen grup izledi. Bu sonuç literatürde altın standart olarak değerlendirilen otojen greftlerin, defekt tamiri işleminde de ideal materyal olduğu sonucunu desteklemekle beraber sistemik olarak uygulanan ZA'nın yeni kemik oluşumu üzerindeki olumlu etkisini de ortaya koymaktadır.

Defekt alanındaki bağ doku hacmi değerlendirildiğinde ise yalnız allogreft uygulanan grubun (grup 5) ilk sırada yer aldığı gözlemlendi. Bu grubu sırasıyla grup 3, grup 4-6, grup 2 ve grup 1 izledi. İstatistiksel olarak incelendiğinde grup 5 ile diğer gruplar arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi.

Çalışmamızda sistemik uygulanan ZA'nın greft materyalinin rezorbsiyonu üzerine etkisi de değerlendirildi ve 8. hafta sonunda defekt alanındaki rezorbe olmayan materyallerin hacimleri hesaplandı. Değerlendirme sonunda literatürde bahsedilen bilgilerin aksine sistemik olarak ZA enjekte edilen gruplardaki greft rezorbsiyonun enjeksiyon yapılmayan gruplara göre daha fazla olduğu gözlemlendi.

Literatürde yeni kemik oluşumunun histolojik incelenmesine ek olarak radyografik yöntemlerin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Yapılan bu çalışmalarda radyolojik incelemeler için farklı yöntemler kullanılmıştır (Moghadam ve ark.,2004;

Yonamine ve ark., 2010; van Leeuwen ve ark., 2012). Bizim çalışmamızda da histolojik ve stereolojik bulguları destekleyebileceği ve değerlendirmelere yardımcı olabileceği düşüncesiyle, defekt bölgelerinin radyografileri de çalışma kapsamına alındı. 8. hafta sonunda sakrifiye edilen deneklerin kalvaryaları çıkarıldıktan sonra periapikal radyografileri çekildi ve grupların filmleri radyoopasite yönünden incelenip yeni kemik ve rezorbe olmayan greft materyalleri değerlendirildi. Değerlendirmeler sonucunda grup 1 ve 2 de defekt alanı net olarak sağlam kemikten ayrılabilirdi. Diğer gruplarda ise defekt sınırları düzensiz ve defekt alanını dolduran radyopak adacıklar gözlemlendi. Bu adacıkların yerleştirilip rezorbe olmayan greft materyali ve yeni oluşan kemik oluşumu sonucunda izlendiği düşünüldü.

Bu çalışma overektomize edilmiş rat modelinde ZA'nın defekt tamiri üzerine etkisini stereolojik olarak inceleyen ilk çalışmadır. Çalışma sonucunda osteoporotik ratlarda sistemik olarak enjekte edilen ZA'nın postmenapozal osteoporozun defekt tamiri üzerindeki olumsuz etkilerini geri çevirdiği gözlemlenmiştir. Bu sonuç, postmenapozal osteoporoz hastalarında sistemik olarak uygulanan ZA'nın defektlerin greft ile tamirinde iyileşme süresini kısaltabileceğini düşündürmekle birlikte bu konuda ileri klinik çalışmalar gerekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız dahilinde elde edilen sonuçlar ve öneriler şu şekilde sıralanabilir;

1. Çalışmamızda kontrol grubunda defekt sınırlarına komşu bölgeler hariç sadece bağ doku izlenmesi oluşturulan kritik boyuttaki kalvaryal kemik defektlerinin yeterli büyüklükte olduğunu ortaya koymuştur.

2. Çalışmamızda rat kalvaryalarından elde edilen radyograflar incelenmiş ve greft materyali uygulanan gruplarda radyoopak alanlarla beraber defekt sınırlarının da net olarak izlenmediği gözlenmiştir. Ancak oluşan yeni kemiğin kalitesini belirlemek için daha ileri görüntüleme yöntemlerinin kullanılabilir olması göz önünde bulundurulmalıdır.

3. Yapılan incelemeler sonucunda en yüksek kemik hacminin otojen kemik greft materyal kullanılıp sistemik olarak ZA enjekte edilen grupta gözlenmesi altın standart olarak kabul edilen otojen greftlerin defekt tamirinde de ideal materyal olduğunu desteklemiş ayrıca ZA enjeksiyonunun yeni kemik oluşumu üzerine olumlu etkisini de ortaya koymuştur.

4. Otojen kemik greftinin kullanıldığı gruplarda matematiksel olarak daha fazla yeni kemik hacmi belirlenmesine rağmen allogreft kullanılan gruplarla aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayışı osteoporozlu bireylerde allogreft kemik materyalinin otojen greft materyali yerine kullanılabilirliği sonucunu ortaya çıkarmaktadır.

5. Literatürde ZA'nın greft materyallerinin erken rezorpsiyonunu geciktirdiğini belirten çalışmalar yer almaktadır. Çalışmamızda ZA'nın greft rezorpsiyonu üzerine etkisi değerlendirilmiş ve ZA uygulanmayan gruplarda rezorbe olmayan greft materyalinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da matematiksel olarak daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, yapılan çalışmalardaki defekt bölgesine ve bifosfonatın kullanım şekline bağlı olarak farklılık gösterdiğini düşünmekteyiz.

6. Çalışmamızın sonuçlarına dayanarak intraperitoneal olarak verilen ZA'nın postmenapozal osteoporozun defekt tamiri üzerindeki olumsuz etkilerini azaltarak iyileşme sürecini hızlandırdığı düşünülmektedir. Farklı ZA uygulamaları ile beraber çalışmamızın sonuçlarının farklı deneysel çalışmalarla karşılaştırılmasının önemli olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Akita S, Fukui M, Nakagawa H, Fujii T, Akino K. Cranial bone defect healing is accelerated by mesenchymal stem cells induced by coadministration of bone morphogenetic protein-2 and basic fibroblast growth factor. *Wound Repair Regen.* 2004;12(2):252-259.
- Albrektsson T, Dahl E, Enbom L, Engevall S, Engquist B, Eriksson AR, Feldmann G, Freiberg N, Glantz P, Kjellman O, Kristersson L, Kvint S, Köndel P, Palmquist J, Werndahl L, Astrand P. Osseointegrated Oral implants. *J.Periodontol.* 1998; 59(5): 287-296.
- Almășan HA, Băciuț M, Rotaru H, Bran S, Almășan OC, Băciuț G. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates. Discussion over 52 cases. *Rom J Morphol Embryol.* 2011;52(4):1233-41.
- Aloia JF, Cohn SH, Vaswani A, Yeh JK, Yuen K, Ellis K. Risk factors for postmenopausal osteoporosis. *Am J Med.* 1985 Jan;78(1):95-100.
- Altman RD, Latta LL, Keer R, Renfree K, Hornicek FJ, Banovac K. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on fracture healing: A laboratory study in rats. *J Orthop Trauma.* 1995;9:392-400.
- Anderson JJ, Mets JA. Contributions of dietary of calcium and physical activity to primary prevention of osteoporosis in females. *J Am Coll Nutr.* 1993;12(4):378-383.
- Astrand J, Harding AK, Aspenberg P, Tägil M. Systemic zoledronate treatment both prevents resorption of allograft bone and increases the retention of new formed bone during revascularization and remodelling. A bone chamber study in rats. *BMC Musculoskelet Disord.* 2006;7:63.
- Aybar Odstrcil A, Territoriale E, Missana L: An experimental model in calvaria to evaluate bone therapies. *Acta Odontol Latinoam.* 2005;18: 63-67.
- Bailey K, Combs MC, Rogers LJ, Stanley KL. Measuring up. Could this simple nursing intervention help prevent osteoporosis? *AWHONN Lifelines.* 2000;4(2):41-44.
- Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Mouloupoulos LA, Melakopoulos I, Bozas G, Koutsoukou V, Gika D, Anagnostopoulos A, Papadimitriou C, Terpos E, Dimopoulos MA. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *J Clin Oncol.* 2005;23(34):8580-8587.
- Bancroft JD, Stevens A. *Theory and Practice of Histological Techniques.* 4th ed., Newyork, Churchill Livingstone. 1996;309-339.

- Barrett-Connor E, Chang JC, Edelstein SL. Coffee-associated osteoporosis offset by daily milk consumption. The Rancho Bernardo Study. *JAMA*. 1994 Jan 26;271(4):280-283.
- Bauer DC, Sklarin PM, Stone KL, Black DM, Nevitt MC, Ensrud KE, Arnaud CD, Genant HK, Garnero P, Delmas PD, Lawaetz H, Cummings SR. Biochemical markers of bone turnover and prediction of hip bone loss in older women: the study of osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res*. 1999;14:1404-1410.
- Bean JF, Vora A, Frontera WR. Benefits of exercise for community-dwelling older adults. *Arch Phys Med Rehabil*. 2004 ;85:31-42.
- Benford HL, Frith JC, Auriola S, Mönkkönen J, Rogers MJ. Farnesol and geranylgeraniol prevent activation of caspases by aminobisphosphonates: biochemical evidence for two distinct pharmacological classes of bisphosphonate drugs. *Mol Pharmacol*. 1999;56:131-140.
- Benford HL, McGowan NW, Helfrich MH. Visualization of bisphosphonate-induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone*. 2001;28:465-473.
- Bilston LE, Little DG, Smith NC, Williams P, Briody J. Zoledronic acid improves the mechanical properties of normal and healing bone. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 2002;17:716-718.
- Binkley N, Kimmel D, Bruner J, Haffa A, Davidowitz B, Meng C, Schaffer V, Green J. Zoledronate prevents the development of absolute osteopenia following ovariectomy in adult rhesus monkeys. *J Bone Miner Res*. 1998;13(11):1775-82.
- Bjarnason NH, Christiansen C. The influence of thinness and smoking on bone loss and response to hormone replacement therapy in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:590-596.
- Black DM, Cummings SR, Karpf DB. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group [comment]. *Lancet*. 1996;348:1535-41.
- Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, Cosman F, Lakatos P, Leung PC, Man Z, Mautalen C, Mesenbrink P, Hu H, Caminis J, Tong K, Rosario-Jansen T, Krasnow J, Hue TF, Sellmeyer D, Eriksen EF, Cummings SR. HORIZON Pivotal Fracture Trial. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*. 2007 May 3;356(18):1809-22.
- Black DM, Schwartz AV, Ensrud KE. Effects of continuing or stopping alendronate after 5 years of treatment: the Fracture Intervention Trial Long-term Extension (FLEX): A randomized trial. *JAMA* 2006;296:2927-2938.

- Blau LA, Hoehns JD. Analgesic efficacy of calcitonin for vertebral pain. *Ann Pharmacother* 2003;37:564-570.
- Bock O, Felsenberg D. Bisphosphonates in the management of postmenopausal osteoporosis--optimizing efficacy in clinical practice. *Clin Interv Aging*. 2008;3(2):279-97.
- Bogoche E, Gschwend N, Rahn B. Healing of cancellous bone osteotomy in rabbits. Part I. Regulation of bone volume and the regional acceleratory phenomenon in normal bone. *J Orthop Res*. 1993;11:285-291.
- Boissier S, Ferreras M, Peyruchaud O. Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *Cancer Res*. 2000;60:2949-2954.
- Bonacina R, Mariani U, Villa F, Villa A. Preventive strategies and clinical implications for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a review of 282 patients. *J Can Dent Assoc*. 2011;77:1-7
- Bonaiuti D, Shea B, Iovine R. Exercise for preventing and treating osteoporosis in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; 1:1-37.
- Bonjour JP, Chevalley T, Ferrari S. The importance and relevance of peak bone mass in the prevalence of osteoporosis. *Salud Publica Mex*. 2009;51:5-13
- Bonjour JP, Theintz G, Law F, et al. Peak bone mass. *Osteoporosis Int*. 1994;4:7-13.
- Bonner FJ, Chesnut CH, Lindsay R. Osteoporosis. In: Delisa JA editors. *Physical medicine and rehabilitation principles and practice*. 4th ed., Philadelphia, Lippincott Williams Wilkins. 2005. 699-719.
- Bowers G, Granet, M, Stevens M. Histologic evaluation of new attachment in humans. A preliminary report. *J Periodontol* 1985; 56: 381-396.
- Boyce T, Edwards J, Scarborough N. Allograft bone: the influence of processing on safety and performance. *Orthop Clin North Am*. 1999;30(4):571-581.
- Boyd SK, Davison P, Müller R, Gasser JA. Monitoring individual morphological changes over time in ovariectomized rats by in vivo microcomputed tomography *Bone* 2006;39:854-862.
- Bozkuş H, Canbulat N, Güven S, Özer AF, Sarioğlu AÇ. Osteoporotik omurgaya multidisipliner yaklaşım. *Türk Nöroşirürji Dergisi*. 2000; 10:32-40
- Bozkuş H, Canbulat N, Güven Ş, Özer AF, Sarioğlu AÇ. Osteoporotik omurgaya multidisipliner yaklaşım *Türk Nöroşirürji Dergisi* 2000; 10:32-40.

- Bras J, Van OJ CP, Abraham-Inpijn L, Kusen J, Wilmlink JM. Radiographic interpretation of the mandibular angular cortex a diagnostic tool in metabolic bone loss, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;53:647-650.
- Brixen K, Abrahamsen B, Kassem H. Prevention and treatment of osteoporosis in women. *Current Obstetrics and Gynaecology* 2005;15:251–258.
- Brown JP, Josse RG. 2002 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. *CMAJ* 2002;167:1-34.
- Browner B., Jupiter JB, Levine AM, Trafton PG. *Skeletal Trauma. Fractures. Dislocations. Ligamentous Injuries.* 3rd ed., Philadelphia,;W.B. Saunders Company. 2002;41.
- Buck BE, Malinin TI. Human Bone and Tissue Allografts *Clin Orthop Related Research.* 1994; 303 : 8 – 17.
- Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1983;174:28–42.
- Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, Wong JB, King A, Tosteson A. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005–2025. *J Bone Miner Res.* 2007;22:465-75.
- Burge RT. The cost of osteoporotic fractures in the UK: Projections for 2000-2020. *J of Med Economic.* 2001;4:51.
- Carranza-Lira S, Rosas M, Murillo A, Martínez N, Santos J. Osteoporosis in postmenopausal women (Mexico City): 1. Risk factors. *Int J Fertil Womens Med.* 2002;47(1):22-25.
- Chapurlat RD, Delmas PD. Drug insight: Bisphosphonates for postmenopausal osteoporosis. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2006; 2:211–219.
- Chapuy MC, Arlot ME, Dubouef F, et al. Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in the elderly women. *N Engl J Med* 1992;327:1637-1642.
- Chesnut IC, Skag A, Christiansen C. Effects of oral ibandronate administered daily or intermittently on fracture risk in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res,* 2004;19:1241–9.
- Christiansen C, Riis BJ, Rodbro P. Prediction of rapid bone loss in postmenopausal women. *Lancet.* 1987;23:1105-1107.
- Clark P, de la Peña F, Gómez García F, Orozco JA, Tugwell P. Risk factors for osteoporotic hip fractures in Mexicans. *Arch Med Res.* 1998 ;29(3):253-257.

- Clohisy DR, Mankin HJ. Osteoarticular allografts for reconstruction after resection of a musculoskeletal tumor in the proximal end of the tibia. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76:549–554.
- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Robbin's pathologic basis of disease*. 6th ed., London, WB Saunders Co.1999; 138-152.
- Coxon FP, Helfrich MH, Van't Hof R. Protein geranylgeranylation is required for osteoclast formation, function, and survival: Inhibition by bisphosphonates and GGTI-298. *J Bone Miner Res*. 2000;15:1467–1476.
- Cummings SR, Browner WS, Bauer D. Endogenous hormones and the risk of hip and vertebral fractures among older women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med*. 1998;339:733-738.
- Cummings SR, Kelsey JL, Nevitt MC. The epidemiologies of osteoporosis and osteoporotic fractures. *Edip Rev*. 1995;7:178-208.
- Daculsi G. Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute. *Biomaterials* 1998; 19:1473-1478.
- Dalsky GP, Stocke G, Ehsani E. Weight bearing exercise training and lumbar spine bone mineral content in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1988; 108: 824-828.
- Daniell HW. Osteoporosis of the slender smoker. *Arch Intern Med* 1976;136:298-304.
- Dawson-Hughes B, Dallal GE, Krall EA. A controlled trial of the effect of calcium supplementation on bone density in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1990;23:878-883.
- De Boer HH. The history of bone grafts. *Clin Orthop*. 1988;226:292-298.
- Delmas P, Meunier P. The management of paget's disease of bone. *N Engl J Med*. 1997; 336(8): 558-566
- Dennison E, Cole Z, Cooper C. Diagnosis and epidemiology of osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2005;17:456-461.
- Densitometry. *Osteoporos Int*. 2000 ;11:192–202.
- Dequeker J, Mundy GR. Management of osteoporosis. *Rheumatol*. 2000;11:391-394.
- Devogelaer JP, Brown JP, Burckhardt P, Meunier PJ, Goemaere S, Lippuner K, Body JJ, Samsioe G, Felsenberg D, Fashola T, Sanna L, Ortmann CE, Trechsel U, Krasnow J, Eriksen EF, Garnero P. Zoledronic acid efficacy and safety over five years in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2007;18(9):1211-1218.

- Dilşen G. Osteoporozun Epidemiyolojisi, Osteoporoz. 1. Baskı, İstanbul, Epsilon Matbaacılık. 2002 ;11-23.
- Dodde R 2nd, Yavuzer R, Bier UC, Alkadri A, Jackson IT: Spontaneous bone healing in the rabbit. *J Craniofac Surg.* 2000;11: 346-349.
- Doggrell SA: Zoledronate once-yearly increases bone mineral density--implications for osteoporosis. *Expert Opin Pharmacother* 2002;7:1007-9.
- Duncan RL, Turner CH. Mechanotransduction and the functional of bone to mechanical strain. *Calcif Tissue Int* 1995;57(5):344–358.
- Dunford JE, Thompson K, Coxon FP. Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl disphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;296:235– 242.
- Eastlund T. Infectious disease transmission through cell, tissue, and organ\transplantation: reducing the risk through donor selection. *Cell Transplant* 1995;4:455-77.
- Enneking WF, Burchart H, Puhl JJ. Physical and biological aspects of repair in dog cortical-bone transplants. *J Bone Joint Surg.* 1975;57:237–252.
- Enneking WF, Mindell ER. Observations on massive retrieved human allografts. *J Bone Joint Surg Am.* 1991;73:1123–1142.
- Ensrud KE, Duong T, Cauley JA, Heaney RP, Wolf RL, Harris E, Cummings SR. Low fractional calcium absorption increases the risk for hip fracture in women with low calcium intake. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann Intern Med.* 2000 ;132(5):345-53.
- Eryavuz S M. Osteoporozun Tanımı ve Sınıflandırılması. 2. baskı, Ankara, Güneş Kitabevi. 2005;1-4.
- Favus MJ, Christakos S. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 3rd Ed., Philadelphia, Lippincott-Raven. 1993; 230.
- Feik SA, Thomas CDL, Clement JG. Age-related changes in cortical porosity of the midshaft of the human femur. *J Anat.* 1997;191:407-416.
- Felsenthal G. Rehabilitation of the aging and elderly patient. *Willa Will.* 1994;11:107-123.
- Feskanich D, Willett W, Colditz G. Walking and leisure-time activity and risk of hip fracture in postmenopausal women. *JAMA.* 2002;288:2300-2306

- Fini M, Giavaresi G, Torricelli P, Corsari V, Giardino R, Nicolini A, Carpi A. Osteoporosis and biomaterial osteointegration. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2004;58:487–493.
- Frame JW: A convenient animal model for testing bone substitute materials. *J Oral Surg*. 1980;38: 176-180.
- Frost HM. The biology of fracture healing. Part I. *Clin Orthop Rel Res*, 1989a;248:283-293.
- Frost HM. The biology of fracture healing. Part II. *Clin Orthop Rel Res*, 1989b;248:294-309.
- Frost HM. *Vital Biomechanics of bone-grafted dental implants*. 1st ed., London, Quintessence Publishing Co. 1999:17-30.
- Frost HM. Seeking genetic causes of "osteoporosis:" insights of the Utah paradigm of skeletal physiology. *Bone*. 2001;29(5):407-412.
- Gambert SR, Schultz BM, Handy RC. Osteoporosis clinical features prevention and treatment. *Endoc Metab North Amer* 1995; 24(2): 317-371.
- Garrison SJ. Osteoporoz. Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon El Kitabı. 2. Baskı., Ankara, Güneş Kitabevi. 2005;182.
- Gartner LP, Hiatt JL. Cartilage and Bone. *Color Textbook of Histology*, 2nd ed., Philadelphia, Gartner W. B. Saunders. 2001;129-154.
- Gartner LP, James LH. *Color Atlas of Histology*. 3rd ed., Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.2000;73.
- George A, Tracy JK, Meyer WA, Flores RH, Wilson PD, Hochberg MC. Racial differences in bone mineral density in older men. *J Bone Miner Res*. 2003 ;18(12):2238-2244.
- Gertz BJ, Holland SD, Kline WF. Studies of the oral bioavailability of alendronate. *Clin Pharmacol Ther*. 1995;58(3):288–298.
- Glass DA, Bialek P, Ahn JD. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell* 2005;8:751-764.
- Glatt M, Pataki A, Evans GP, Hornby SB, Green JR. Loss of vertebral bone and mechanical strength in estrogen-deficient rats is prevented by long-term administration of zoledronic acid. *Osteoporos Int*. 2004;15(9):707-15.
- Gloth FM 3rd, Gundberg CM, Hollis BW, Haddad JG Jr, Tobin JD. Vitamin D deficiency in homebound elderly persons. *JAMA*. 1995;274(21):1683-1686.

- Goodman S, Aspenberg P, Song Y. The effects of intermittent micromotion versus polymer particles on tissue in growth: Experiment using the micromotion chamber implanted in rabbits. *J Appl Biomater*. 1994;5:117-123.
- Grbic JT, Landesberg R, Lin SQ, Mesenbrink P, Reid IR, Leung PC, Casas N, Recknor CP, Hua Y, Delmas PD, Eriksen EF; Health Outcomes and Reduced Incidence with Zoledronic Acid Once Yearly Pivotal Fracture Trial Research Group. Incidence of osteonecrosis of the jaw in women with postmenopausal osteoporosis in the health outcomes and reduced incidence with zoledronic acid once yearly pivotal fracture trial. *J Am Dent Assoc*, 2008;139(1):32–40.
- Green JR, Müller K, Jaeggi KA. Preclinical pharmacology of CGP 42'446, a new, strong, heterocyclic bisphosphonate compound: *J Bone Miner Res*. 1994; 9: 745–751.
- Green JR. Chemical and biological prerequisites for novel bisphosphonate molecules: Results of comparative preclinical studies. *Semin Oncol*. 2001;28(6):4–10.
- Greendale GA, Edelstein S, Barrett-Connor E. Endogenous sex steroids and bone mineral density in older women and men: The Rancho Bernardo Study. *J Bone Miner Res*. 1997;12:1833-1843.
- Greenspan SL, Bone HG, Ettinger MP. Effect of recombinant human parathyroid hormone (1-84) on vertebral fracture and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2007;146:326-339.
- Gregg EW, Cauley JA, Seeley DG. Physical activity and osteoporotic fracture risk in older women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann Intern Med*. 1998;129:81-88.
- Groen JJ, Duyvensz F, Halsted JA. Diffuse alveolar atrophy of the jaw (non-inflammatory form of paradental disease) and pre-senile osteoporosis. *Geront Clin* 1960; 2: 68-86.
- Gundersen HJG, Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *Journal of Microscopy*. 1986; 143: 3-45.
- Gundersen HJG, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc*. 1987;147: 229-63.
- Gundersen HJG, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Muller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Strensén, FB, Vesterby A, West J. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*. 1988;96:857–881.

- Gundersen HJG, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Muller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Strensén FB, Vesterby A, West J. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*. 1988;96:379–394.
- Hahn BH, Osteopenic bone diseases. In: Mc. Carty DJ, Koopman WJ editors. *Arthritis and Allied Conditions*. 12th ed., London, Lea Febiger. 1993; 1927-1954.
- Hamerman D. Considerations of osteoporosis prevention in an aging society. *Maturitas*. 2000;37:69-73.
- Harrington M, Cashman KD. High salt intake appears to increase bone resorption in postmenopausal women but high potassium intake ameliorates this adverse effect. *Nutr Rev*. 2003;61(5):179-183.
- Harris CT, Cooper LF. Comparison of bone graft matrices for human mesenchymal stem cell-directed osteogenesis. *J Biomed Mater Res A* 2004; 68 :747-755.
- Harris ST, Watts NB, Genant HK. Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *JAMA*. 1999;282:1344–52.
- Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Marcus R, Matkovic V, Weaver C. Peak bone mass. *Osteoporos Int*. 2000;11(12):985-1009.
- Heaney RP, Layman DK. Amount and type of protein influences bone health. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:1567-1570.
- Heslop BK, Zeiss IM, Nisbet NW. Studies on transference of bone: a comparison of autologous and homologous transplants with reference to osteocyte survival osteogenesis and host reaction. *Br J Exp Pathol* 1960;41:269–272.
- Hislop WS, Finlay PM, Moos KF. A Preliminary study into the uses of Anorganic Bone in Oral and Maxillofacial Surgery. *British J Oral Maxillofac Surg*. 1993; 31:149-153.
- Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000;15:2-12.
- Horner K, Devlin H, Alsop CW, Hodgkinson IM, Adams JE. Mandibular bone mineral density as a predictor of skeletal osteoporosis. *Br J Radiol*. 1996;69:1019-1025.

- Howard GM, Nguyen TV, Harris M, Kelly PJ, Eisman JA. Genetic and environmental contributions to the association between quantitative ultrasound and bone mineral density measurements: a twin study. *J Bone Miner Res.* 1998;13(8):1318-27.
- Ilich JZ, Brownbill RA, Tamborini L. Bone and nutrition in elderly women: protein, energy, and calcium as main determinants of bone mineral density. *Eur J Clin Nutr.* 2003 ;57(4):554-565.
- Jackson RD, LaCroix AZ, Gass M. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures. *N Engl J Med* 2006;354:669-683.
- Jee JH, Lee W, Lee BD. The influence of alendronate on the healing of extraction sockets of ovariectomized rats assessed by in vivo micro-computed tomography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;110(2):47-53.
- Jeffcoat MK, Chestnut CH. Systemic osteoporosis and oral bone loss: evidence shows increased risk factors. *JADA* 1993;124:49-56.
- Jensen T, Schou S, Svendsen PA, Forman JL, Gundersen HJ, Terheyden H, Holmstrup P. Volumetric changes of the graft after maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss and autogenous bone in different ratios: a radiographic study in minipigs. *Clin Oral Implants Res.* 2012 ;23(8):902-910.
- Jilka RL. Cytokines, bone remodelling, and estrogen deficiency. A 1998 update. *Bone,* 1998;23(2):75–81.
- Jofe MH, Gebhardt MC, Tomford WW, Mankin HJ. Reconstruction for defects of the proximal part of the femur using allograft arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 1988;70:507–516.
- Jonasson G, Bankvall G, and Kiliaridis S. Estimation of skeletal bone mineral density by means of the trabecular pattern of the alveolar bone, its interdental thickness, and the bone mass of the mandible. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;92:346-352.
- Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology.* 10th ed., New York, McGraw-Hill, 2003; 144-146.
- Kalfas HI. Principles of Bone Healing. *Neurosurg Focus.* 2001; 10(4); 1- 4.
- Kanczler JM, Oreffo RO. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *Eur Cell Mater.* 2008;15:100-114.
- Kandel RA, Pritzker KP, Langer F, Gross AE. The pathologic features of massive osseous grafts. *Hum Pathol.* 1984;15:141–146.

- Kanis JA, Gluer CC. An Update on the Diagnosis and Assessment of Osteoporosis with
Kanis JA. Diagnosis of Osteoporosis. *Osteoporos Int.* 1997; 7 (3):108-116.
- Kanis JA, Borgstrom F, De Laet C. Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int.* 2005;16:581-589.
- Kanis JA, Johansson H, Johnell O. Alcohol intake as a risk factor for fracture. *Osteoporos Int.* 2005;16:737-42.
- Kanis JA, Johnell O, Oden A. Smoking and fracture risk: a metaanalysis. *Osteoporos Int.* 2005;16:155-62.
- Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltey N. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1994;9(8):1137-1141.
- Kanis JA. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int.* 1994 ;4(6):368-381.
- Kaplan FS. Prevention and management of osteoporosis. *Clin Symp.* 1995;47(1):2-32.
- Kearns AE, Khosla S, Kosteniuk PJ. Receptor activator of nuclear factor-kB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodelling in health and disease. *Endocr Rev* 2008;29:155-192.
- Kenwright J, Goodship AE. Controlled mechanical stimulation in the treatment of tibial fractures. *Clin Orthop Rel Res*, 1989;241:36-47.
- Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D, Gagel RF, Gilsanz V, Guise T, Koka S, McCauley LK, McGowan J, McKee MD, Mohla S, Pendrys DG, Raisz LG, Ruggiero SL, Shafer DM, Shum L, Silverman SL, Van Poznak CH, Watts N, Woo SB, Shane E; American Society for Bone and Mineral Research. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res.* 2007;22(10):1479-91.
- Kiely P, Ward K, Bellemore C, Briody J, Cowell C, Little D. Bisphosphonate rescue in distraction osteogenesis: a case series. *J Pediatr Orthop.* 2007; 27(4):467-471.
- Kierszenbaum AL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology.* 1st ed., St. Louis, Mosby Inc. 2002; 131.
- Kimmel DB. *Animal Model For Invivo Experimentation In Osteoporosis Research.* 1st ed., San Diego, Academic Press.1996;671-690.
- Kinnon Mac J. Osteoporosis. *Phys Ther.* 1988;10:1533-1540.

- Knoke JD, Barrett-Connor E. Weight loss: a determinant of hip bone loss in older men and women. The Rancho Bernardo Study. *Am J Epidemiol* 2003;158:1132-1138.
- Kochi G, Sato S, Fukuyama T, Morita C, Honda K, Arai Y, Ito K. Analysis on the guided bone augmentation in the rat calvarium using a microfocus computerized tomography analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(6):42-8
- Koike N, Fukumura D, Gralla O, Au P, Schechner JS, Jain RK. Tissue engineering: creation of long-lasting blood vessels. *Nature.* 2004;428:138-139.
- Kökden A, Türker M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greftleri ve Biyomateryaller. *Cumhuriyet Üniversitesi Dishekimligi Fakültesi Dergisi* 1999; 2(2): 134-140.
- Krall EA, Dawson-Hughes B. Smoking increases bone loss and decreases intestinal calcium absorption. *J Bone Miner Res.* 1999;14:215-20.
- Kribbs PJ. Comparison of mandibular bone in normal and osteoporotic women. *J Prosthet Dent* 1990;63:2182-22.
- Küçük D, Ay S, Kara MI, Avunduk MC, Gümüş C. Comparison of local and systemic alendronate on distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2011;40(12):1395-1400.
- Landesberg R, Eisig S, Fennoy I, Siris E. Alternative indications for bisphosphonate therapy. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(5): 27-34.
- Lau EM, Suriwongpaisal P, Lee JK, Das De S, Festin MR, Saw SM, Khir A, Torralba T, Sham A, Sambrook P. Risk factors for hip fracture in Asian men and women: the Asian osteoporosis study. *J Bone Miner Res.* 2001 ;16(3):572-580.
- Layne JE, Nelson ME. The effects of progressive resistance training on bone density: a review. *Med Sci Sports Exerc.* 1999 Jan;31(1):25-30.
- Lewandrowski KU, Gresser JD, Wise DL, Trantol DJ. Bioresorbable bone graft substitutes of different osteoconductivities: a histologic evaluation of osteointegration of poly (propylene glycol-co-fumaric acid)-based cement implants in rats. *Biomaterials* 2000;21:757-764.
- Li EC, Davis LE. Zoledronic acid: a new parenteral bisphosphonate. *Clin Ther.* 2003 ;25(11):2669-2708.

- Liberman U, Weiss S, Bröll J, Mine H, Quan H, Bell N, Rodriguez-Portales J, Downs R.Jr, Dequeker J, Favus M. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III, Osteoporosis Treatment Study Group. *N Engl J Med.* 1995; 333(22):1437-1443.
- Little DG, Ramachandran M, Schindeler A. The anabolic and catabolic responses in bone repair. *J Bone Joint Surg [Br]* 2007;89B:425–433.
- Lone Ne, Genant HK. Osteoporosis and bone mineral assesment. *Arth All Cond.* 1993;7:133-149.
- Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Graham R, Russell G, Rogers MJ. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent posttranslational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res.* 1998;13:581-589.
- Luize DS, Bosco AF, Bonfante S, de Almeida JM. Influence of ovariectomy on healing of autogenous bone block grafts in the mandible: a histomorphometric study in an aged rat model. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008;23(2):207-214.
- Lypaczewski G, Lappe J, Stubby J. "Mom & me" and healthy bones: An innovative approach to teaching bone health. *Orthop Nurs.* 2002; 21:35-42
- Mankin HJ, Doppelt SH, Sullivan TR, Tomford WW. Osteoarticular and intercalary allograft transplantation in the management of malignant tumors of bone. *Cancer.* 1982;50:613–630.
- Marco F, Milena F, Gianluca G, Vittoria O. Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. *Micron.* 2005;36(7-8):630-644.
- Mardas N, Kostopoulos L, Karring T. Bone and suture regeneration in calvarial defects by e-PTFE-membranes and demineralized bone matrix and the impact on calvarial growth: an experimental study in the rat. *J Craniofac Surg* 2002;13:453–62.
- Marden LJ, Fan RS, Pierce GF, Reddi AH & Hollinger JO. Platelet derived growth factor inhibits bone regeneration induced by osteogenin, a bone morphogenetic protein, in rat craniotomy defects. *Journal of Clinical Investigation.* 1993;92:2897– 2905.
- Mariano R, Messori M, de Moraes A, Nagata M, Furlaneto F, Avelino C, Paula F, Ferreira S, Pinheiro M, de Sene JP. Bone healing in critical-size defects treated with platelet-rich plasma: a histologic and histometric study in the calvaria of diabetic rat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(1):72-78.

- Marie PJ, Sabbagh A, de Vernejoul MC, Lomri A. Osteocalcin and deoxyribonucleic acid synthesis in vitro and histomorphometric indices of bone formation in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol.* 1989;69:272–279.
- Marieb EN. *Human Anatomy and Physiology.* 4th ed., The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 1998;173-174.
- Marx RE, Carlson ER. Tissue Banking Safety: Caveats and Precautions for the Oral and Maxillofacial Surg. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51: 1372- 1379.
- Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61(9):1115-7.
- McClung M. Bisphosphonates. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003;32:253-271.
- McKane WR, Khosla S, Peterson JM, Egan K, Riggs BL. Circulating level of cytokines that modulate bone resorption: effects of age and menopause in women. *J Bone Min Res.* 1994;9(8):1313–1318.
- Mei-Ling H, Je-Kan C, Gwo-Jaw W. Anti-inflammatory drug effects on bone repair and remodeling in rabbits. *Clin Orthop Rel Res.* 1995;313:270-278.
- Melton LJ III, Gabriel SE, Crowson CS. Costequivalence of different osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2003; 14:383–388
- Menkes CJ. Metabolic bone diseases. *Curr Opin Rheumatol.* 1994;6:319-320.
- Meryl S L. *Metabolic Bone Diseases in Text book of Rheumatology.* 5. ed., London, WB Saunders Co. 1997;1563–1572.
- Messori MR, Nagata MJ, Dornelles RC, Bomfim SR, Furlaneto FA, de Melo LG, Deliberador TM, Bosco AF, Garcia VG, Fucini SE. Bone healing in critical-size defects treated with platelet-rich plasma activated by two different methods. A histologic and histometric study in rat calvaria. *J Periodontal Res.* 2008;43(6):723-9.
- Mezquita-Raya P, Muñoz-Torres M, Luna JD, Luna V, Lopez-Rodriguez F, Torres-Vela E, Escobar-Jiménez F. Relation between vitamin D insufficiency, bone density, and bone metabolism in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 2001;16(8):1408-15.
- Misch CE. *Bone augmentation for implant placement: Contemporary Implant Dentistry,* 2nd ed., St. Louis, Mosby. 1999:451-469.
- Moghadam HG, Sándor GK, Holmes HH, Clokie CM. Histomorphometric evaluation of bone regeneration using allogeneic and alloplastic bone substitutes. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(2):202-13.

- Mokbel N, Bou Serhal C, Matni G, Naaman N. Healing patterns of critical size bony defects in rat following bone graft. *Oral Maxillofac Surg.* 2008;12(2):73-8.
- Nagata MJ, Messori M, Pola N, Campos N, Vieira R, Esper LA, Sbrana M, Fucini S, Garcia V, Bosco A. Influence of the ratio of particulate autogenous bone graft/platelet-rich plasma on bone healing in critical-size defects: a histologic and histometric study in rat calvaria. *J Orthop Res.* 2010;28(4):468-73.
- Nancollas GH, Tang R, Phipps RJ, Henneman Z, Gulde S, Wu W, Mangood A, Russell RG, Ebetino FH. Novel insights into actions of bisphosphonates on bone: differences in interactions with hydroxyapatite. *Bone.* 2006;38(5):617-27.
- Nguyen ND, Frost SA, Center JR. Development of a nomogram for individualizing hip fracture risk in men and women. *Osteoporos Int.* 2007;18:1109-1117.
- Nguyen ND, Pongchaiyakul C, Center JR. Identification of high-risk individuals for hip fracture: a 14-year prospective study. *J Bone Miner Res.* 2005;20:1921-1928.
- Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA. Bone loss, physical activity, and weight change in elderly women: the Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study. *J Bone Miner Res.* 1998 ;13(9):1458-1467.
- Nielson OS, Munro AJ, Tannock IF. Bone metastasis: Pathophysiology and management policy. *J Clin Oncol.* 1991;9:509–524.
- Nieves JW. Osteoporosis: the role of micronutrients. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:1232-1239.
- Nuti R, Martini G, Valenti R, Gambera D, Gennari L, Salvadori S, Avanzati A. Vitamin D status and bone turnover in women with acute hip fracture. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;(422):208-213.
- Oxlund H, Anderson NB, Ortoft G. Growth hormone and mild exercise in combination markedly enhances cortical bone formation and strength in old rats. *Endocrinology.* 1998;139(4):1899–904.
- Önvural A, Posacı C. Postmenopozal osteoporozda hormon replasman tedavisi. E. Ertüngealp, H. Seyisoğlu Editör, Menapoz ve Osteoporoz (çeviri)'de. 2. Baskı, İstanbul, Ulusal Menapoz ve Osteoporoz Derneği Yayını. 2000: 407-420.
- Pacifici RJ. Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1996;11:1043-1051.
- Pampu AA, Dolanmaz D, Tüz HH, Karabacakoglu A. Experimental evaluation of the effects of zoledronic acid on regenerate bone formation and osteoporosis in mandibular distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2006;64(8):1232-1236.

- Papapoulos SE. Bisphosphonate actions: physical chemistry revisited. *Bone*. 2006;38:613-616.
- Pazianas M, Miller P, Blumentals WA, Bernal M, Kothawala P. A review of the literature on osteonecrosis of the jaw in patients with osteoporosis treated with oral bisphosphonates: prevalence, risk factors, and clinical characteristics. *Clin Ther*. 2007;29(8):1548-58.
- Pereira MC, Zecchin KG, Campagnoli EB, Jorge J. Effects of Ovariectomy on Alveolar Wound Healing. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65:2248-2253.
- Perry C, Figgitt D. Zoledronic acid a review of its use in patients with advanced cancer. *Drugs*. 2004;64 (11):1197-1211.
- Pietrzik K, Bailey L, Shane B. Folic acid and L-5-methyltetrahydrofolate: comparison of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacokinet*. 2010;49(8):535–548.
- Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S. Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J Clin Invest*. 1987;80:706-710.
- Precheur HV. Bone Graft Materials. *Dent Clin N Am*. 2007; 51:729–746.
- Prince RL, Devine A, Dhaliwal SS, Dick IM. Effects of calcium supplementation on clinical fracture and bone structure: results of a 5-year, double-blind, placebo-controlled trial in elderly women. *Arch Intern Med* 2006;166:869-875.
- Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S. Proportion of deproteinized bovine bone and autogenous bone affects bone formation in the treatment of calvarial defects in rabbits. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg*. 2009;38:356–362.
- Pryor ME, Susin C, Wikesjo UM. Validity of radiographic evaluations of bone formation in a rat calvaria osteotomy defect model. *J Clin Periodontol*. 2006;33(6):455-460.
- Qi M, Hu J, Li J, Li J, Dong W, Feng X, Yu J. Effect of zoledronate acid treatment on osseointegration and fixation of implants in autologous iliac bone grafts in ovariectomized rabbits. *Bone*. 2012;50(1):119-127.
- Qin YJ, Zhang ZL, Huang QR, He JM, Hu YQ, Zhao Q, Lu JH, Li M, Liu YJ. Association of vitamin D receptor and estrogen receptor-alpha gene polymorphism with peak bone mass and bone size in Chinese women. *Acta Pharmacol Sin*. 2004 ;25(4):462-468.
- Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest*. 2005;115:3318-3325.

- Räkel A, Boucher A, Ste-Marie LG. Role of zoledronic acid in the prevention and treatment of osteoporosis. *Clinical Interventions in Aging*. 2011;6:89–99.
- Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev*. 2010;31:629-662.
- Ramesh A, Mahajan K, Thomas B, Shenoy N, Bhandary R. Alveolar bone mass in pre- and postmenopausal women with serum calcium as a marker: a comparative study. *Indian J Dent Res*. 2011;22(6):878.
- Reid I. Bisphosphonates: New Indications And Methods Of Administration. *Curr Opin Rheumatol*. 2003;15(4): 458-463.
- Reid IR, Brown JP, Burckhardt P, Horowitz Z, Richardson P, Trechsel U, Widmer A, Devogelaer JP, Kaufman JM, Jaeger P, Body JJ, Brandi ML, Broell J, Di Micco R, Genazzani AR, Felsenberg D, Happ J, Hooper MJ, Ittner J, Leeb G, Mallmin H, Murray T, Ortolani S, Rubinacci A, Saaf M, Samsioe G, Verbruggen L, Meunier PJ. Intravenous zoledronic acid in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med*. 2002;346(9):653-61.
- Reinholz GG, Getz B, Pederson L, Sanders ES, Subramaniam M, Ingle JN, Spelsberg TC. Bisphosphonates directly regulate cell proliferation, differentiation, and gene expression in human osteoblasts. *Cancer Res*. 2000;60(21):6001-6007.
- Riggs BL, Melton LJ. The prevention and treatment of osteoporosis. *N Engl J Med*. 1992; 327: 620-627.
- Rizzoli R, Bonjour JP, Ferrari SL. Osteoporosis, genetics and hormones. *J Mol Endocrinol*. 2001;26:79-94.
- Robling AG, Niziolek PJ, Baldrige LA.. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of SOST/sclerostin. *J Biol Chem*. 2008;283:5866-5875.
- Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest*. 1996;97:2692-2696.
- Rosen CJ, Donahue LR, Hunter SJ. Insulin-like growth factors and bone: the osteoporosis connection. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1994;206:83-102.
- Rosen CJ. What's new with PTH in osteoporosis: where are we and where are we headed? *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2004; 15(5):229-233.
- Russell RG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone* 1999;25:97–106.
- Russell RG, Watts NB, Ebtino FH, Rogers MJ. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporos Int* 2008;19:733–759.

- Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone*. 2011;49(1):2-19.
- Russell RG. Determinants of structure- function relationships among bisphosphonates. *Bone*. 2007;40(2):21–25.
- Russell RG, Xia Z, Dunford J, Oppermann U, Kwaasi A, Hulley PA, Kavanagh KL, Triffitt JT, Lundy MW, Phipps RJ, Barnett B, Coxon FP, Rogers MJ, Watts NB, Ebetino FH. Bisphosphonates: an update on mechanisms of action and how these relate to clinical efficacy. *Ann N Y Acad Sci*. 2007; 1117, 209-257.
- Saag K, Lindsay R, Kriegman A. A single zoledronic acid infusion reduces bone resorption markers more rapidly than weekly oral alendronate in postmenopausal women with low bone mineral density. *Bone*. 2007;40(5):1238–1243.
- Sahni M, Guenter HL, Fleisch H, Collin P, Martin TJ. Bisphosphonates act on bone resorption through the mediation of osteoblasts. *J Clin Invest*. 1993;91:2004–2011.
- Sandhu SK, Hampson G. The pathogenesis, diagnosis, investigation and management of osteoporosis. *J Clin Pathol*. 2011;64(12):1042-1050.
- Schindeler A, Birke O, Yu NY, Morse A, Ruys A, Baldock PA, Little DG. Distal tibial fracture repair in a neurofibromatosis type 1-deficient mouse treated with recombinant bone morphogenetic protein and a bisphosphonate. *J Bone Joint Surg Br*. 2011;93(8):1134-9.
- Seeger LL. Bone density determination. *Spine* 1997; 22(24): 49-57.
- Seeman E, Delmas PD. Bone quality—the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med*. 2006;354:2250-2261.
- Seeman E, Melton LJ 3rd, O'Fallon WM, Riggs BL. Risk factors for spinal osteoporosis in men. *Am J Med*. 1983;75(6):977-83.
- Sellmeyer DE, Stone KL, Sebastian A, Cummings SR. A high ratio of dietary animal to vegetable protein increases the rate of bone loss and the risk of fracture in postmenopausal women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Am J Clin Nutr*. 2001;73(1):118-122.
- Seo SW, Cho SK, Storer SK, Lee FY. Zoledronate reduces unwanted bone resorption in intercalary bone allografts. *Int Orthop*. 2010;34(4):599-603.
- Sepici V. Osteoporoz Tanı ve Takibinde Laboratuvar Yöntemleri. 1.Baskı., İstanbul, Epsilon Matbaacılık. 2001:104-118.

- Shih MS, Norrdin RW. Effect of prostaglandin E1 on regional haversian remodeling in beagles with fractured ribs: A histomorphometric study. *Bone*. 1987;8:87-90.
- Silverman SL. Calcitonin. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2003;32:273-284.
- Sindel D. Osteoporozda görüntüleme yöntemleri. *Prospect*. 1998; 2(3): 133-139.
- Skerjanec A, Berenson J, Hsu C. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of zoledronic acid in cancer patients with varying degrees of renal function. *J Clin Pharmacol*. 2003;43(2):154-162.
- Stel VS, Pluijm SM, Deeg DJ, Smit JH, Bouter LM, Lips P. Functional limitations and poor physical performance as independent risk factors for self-reported fractures in older persons. *Osteoporos Int*. 2004 ;15(9):742-750.
- Sterio DC. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc*. 1984;134:127-36.
- Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S. New sequence variants associated with bone mineral density. *Nat Genet* 2009;41:15-17.
- Suzuki Y, Whiting SJ, Davison KS, Chilibeck PD. Total calcium intake is associated with cortical bone mineral density in a cohort of postmenopausal women not taking estrogen. *J Nutr Health Aging*. 2003;7(5):296-299.
- Sweet MG, Sweet JM, Jeremiah MP, Galazka SS. Diagnosis and treatment of osteoporosis. *Am Fam Physician*. 2009;79(3):193-200.
- Şahin B, Aslan H, Ünal B, Canan S, Bilgiç S, Kaplan S, Tümkaya L. Brain volumes of the lamb rat and bird do not show hemispheric asymmetry: A stereological study. *Anal Stereol*. 2001;20:9-13.
- Tägil M, Aspenberg P, Astrand J. Systemic zoledronate precoating of a bone graft reduces bone resorption during remodeling. *Acta Orthop*. 2006;77(1):23-6.
- Taguchi A, Tanimoto K, Suei Y, Ohama K, Wada T. Relationship between the mandibular and lumbar vertebral bone mineral density at different postmenopausal stages. *Dentomaxillofac Radiol*. 1996;25:130-135.
- Taguchi A, Tanimoto K, Suei Y, Otani K, Wada T. Oral signs as indicators of possible osteoporosis in elderly women. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod* 1995; 80:612-616.
- Taguchi A, Tanimoto K, Suei Y, Wada T. Tooth loss and mandibular osteopenia. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 1995; 79: 127-132.

- Tanaka S, Shimizu M, Debari K, Furuya R, Kawawa T, Sasaki T. Acute Effects of ovariectomy on wound healing of alveolar bone after maxillary molar extraction in aged rats *The Anatomical Record*. 2001; 262: 203–212.
- Tekin U, Tüz HH, Onder E, Ozkaynak O, Korkusuz P. Effects of alendronate on rate of distraction in rabbit mandibles. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008;66(10):2042-9.
- Toker H, Ozdemir H, Ozer H, Eren K. Alendronate enhances osseous healing in a rat calvarial defect model. *Arch Oral Biol*. 2012;57(11):1545-50.
- Tomford WW. Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allografts. *J Bone Joint Surg Am* 1995;77–A(11):1742–1754.
- Tuncay Ü. Diş Hekimliği cerrahisinde kullanılan kemik greftleri. *Ege Üniv Diş Hek Fak Derg*. 1989;10:159-163.
- Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965;150:893–899.
- Välimäki VV, Moritz N, Yrjans JJ, Vuorio E, Aro HT. Effect of zoledronic acid on incorporation of a bioceramic bone graft substitute. *Bone*. 2006;38(3):432-43.
- Van der Stok J, Van Lieshout EMM, El-Massoudi Y, Van Kralingen GH, Patka P. Bone substitutes in the Netherlands –a systematic literature review. *Acta Biomater* 2011;7;739–750.
- Van Leeuwen AC, Huddleston Slater JJ, Gielkens PF, de Jong JR, Grijpma DW, Bos RR. Guided bone regeneration in rat mandibular defects using resorbable poly(trimethylene carbonate) barrier membranes. *Acta Biomater*. 2012;8(4):1422-9.
- Van Staa TP, Dennison EM, Leufkens H, Cooper C. Epidemiology of fractures in England and Wales. *Bone*. 2001;29:517-522.
- Vastel L, Lemoine CT, Kerboul M, Courpied JP. Structural allograft and cemented long-stem prosthesis for complex revision hip arthroplasty: use of a trochanteric claw plate improves final hip function. *Int Orthop*. 2007;31:851–857.
- Von Wovern N, Kollerup G. Symptomatic osteoporosis: a risk factor for residual ridge reduction of the jaws. *J Prosthet Dent* 1992;67:656-660.
- Von Wovern N. General and oral aspect of osteoporosis:a review. *Clin. Oral Invest*. 2001; 5: 71-82.
- Wark JD. Osteoporosis: pathogenesis, prevention and treatment of osteoporosis. *Am J Med*. 1991;90:107-110.

- Watts NB, Lewiecki EM, Miller PD, Baim S. National Osteoporosis Foundation 2008 Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis and the World Health Organization Fracture Risk Assessment Tool (FRAX): what they mean to the bone densitometrist and bone technologist. *J Clin Densitom* 2008;11:473-477.
- Wells G, Tugwell P, Shea B, et al. Metaanalysis of the efficacy of hormone replacement therapy in treating and preventing osteoporosis in postmenopausal women. *Endocr Rev*. 2002;23:529-539.
- Werkman C, Senra GS, da Rocha RF, Brandão AA. Comparative therapeutic use of Risedronate and Calcarea phosphorica--allopathy versus homeopathy--in bone repair in castrated rats. *Braz Oral Res*. 2006;20(3):196-201.
- Widler L, Jaeggi KA, Glatt M. Highly potent geminal bisphosphonates. From pamidronate disodium (Aredia) to zoledronic acid (Zometa). *J Med Chem*. 2002;45: 3721–3738.
- Wilk RM. Bony reconstruction of the jaws. In: Miloro M, editor. *Peterson's principles of oral and maxillofacial surgery*. 2nd ed. London, B C Decker. 2004; 785–787.
- Williams FM, Cherkas LF, Spector TD, MacGregor AJ. The effect of moderate alcohol consumption on bone mineral density: a study of female twins. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(2):309-10.
- Winn SR, Schmitt JM, Buck D, Hu Y, Grainger D & Hollinger JO. Tissue- engineered bone biomimetic to regenerate calvarial critical-sized defects in athymic rats. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1999;45:414–421.
- Winsloe C, Earl S, Dennison EM. Early life factors in pathogenesis of osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep*. 2009;7:140-144.
- Witters L, Crispino J, Javeed M. Inhibition of growth of a human prostate cancer cell line with the combination of zoledronic acid and a COX-2 inhibitor. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2002;21: 1827.
- Yaffe A, Fine N, Alt I. The effect of bisphosphonate on alveolar bone resorption following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats. *J Periodontol*, 1995;66:999-1003.
- Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H. Association of polymorphisms of interleukin-6, osteocalcin, and vitamin D receptor genes, alone or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(7):3372-3378.

- Yıldız A, Esen E, Kürkçü M, Damlar İ, Dağlıoğlu K, Akova T. Effect of zoledronic acid on osseointegration of titanium implants: an experimental study in an ovariectomized rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010;68(3):515-523.
- Yılmaz C. Osteoporozun etyopatogenezi. 1. Baskı, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi. 1997;30-48.
- Yılmaz HH, Yasar F. Osteoporoz ve Dişhekimliği. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2003; 10(4): 59-64.
- Yonamine Y, Matsuyama T, Sonomura T, Takeuchi H, Furuichi Y, Uemura M, Izumi Y, Noguchi K. Effectable application of vascular endothelial growth factor to critical sized rat calvaria defects. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(2):225-231.
- Zhang HC, Kushida K, Atsumi K, Kin K, Nagano A. Effects of age and menopause on spinal bone mineral density in Japanese women: a ten-year prospective study. *Calcif Tissue Int.* 2002 ;70(3):153-157.
- Zhang M, Powers RM Jr, Wolfenbarger L Jr. Effect(s) of the demineralization process on the osteoinductivity of demineralized bone matrix. *J Periodontol* 1997; 68: 1085-1092.

EK 1- Etik Kurul Onayı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
SAMSUN

Sayı : HADYЕК/19
Konu : Araştırma projeniz hk.

31/03/2011

Yrd. Doç. Dr. İsmail ŞENER
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız,Diş,Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi Anabilim Dalı

2011/13 numaralı “OSTEOPOROTİK RAT MODELİNDE ZOLEDRONİK ASİT’İN DEFİKT TAMİRİNDEKİ ETKİSİ: HİSTOLOJİK, STEREOLOJİK VE RADYOGRAFİK DEĞERLENDİRME” konu başlıklı Projeniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 30.03.2011 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü süreç içinde etik kurallar ve hayvan haklarına uygunluk yönünden sorumluluk araştırmacılara ait olmak kaydıyla ve 6 aylık dönemler halinde Çalışma Raporu verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.


Prof. Dr. Ferişt KOLBAKIR
HADYЕК Başkan

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Akif TÜRER

Doğum Yeri: Adana, Türkiye

Doğum Tarihi: 18.08.1985

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller:

İngilizce (ÜDS, 77,5)

Eğitim Durumu:

Sadık Eliyeşil İlkokulu, 1997 (İlkokul)

Abdul Kerim Bengi Anadolu Lisesi, 2003 (Ortaokul-Lise)

Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2008 (Lisans-Y. Lisans)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 2013 (Doktora)

Çalıştığı Kurumlar:

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 2009-2013 (Arş. Gör.)

İletişim Bilgileri:

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Atakum, Samsun, Türkiye

Telefon: 0507-7885373

E-posta: akifturer@gmail.com