

**PERİ İMPLANT DEFEKTLERDE REZORBE
OLABİLEN MEMBRAN İLE BİRLİKTE KULLANILAN
FARKLI MATERYALLERİN YENİ KEMİK
OLUŞUMUNDAKİ ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Orhan GEÇÖR
İnönü Üniversitesi ve Gazi Üniversitesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Ortak Doktora
Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Serkan POLAT
Ortak Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mustafa Sancar ATAÇ

Doktora Tezi-2015

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

**PERİ İMPLANT DEFEKTLERDE REZORBE OLABİLEN MEMBRAN İLE
BİRLİKTE KULLANILAN FARKLI MATERYALLERİN YENİ KEMİK
OLUŞUMUNDAKİ ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Orhan GEÇÖR

**İnönü Üniversitesi ve Gazi Üniversitesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı
Ortak Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Serkan POLAT**

**Ortak Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mustafa Sancar ATAÇ**

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2013/82 proje numarası ile desteklenmiştir.

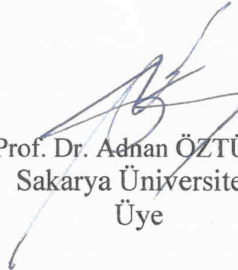
**MALATYA
2015**

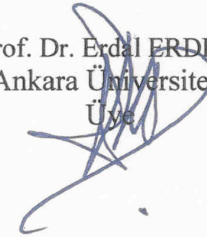
KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüleri Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Orhan GEÇÖR** 'ün "**Peri İmplant Defektlerde Rezorbe Olabilen Membran İle Birlikte Kullanılan Farklı Materyallerin Yeni Kemik Oluşumundaki Etkinliğinin Araştırılması**" konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

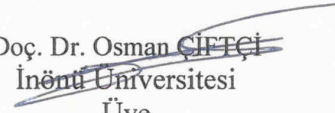
Tez Savunma Tarihi: 12/05/2015


Prof. Dr. Serkan POLAT
İnönü Üniversitesi
Tez Danışmanı
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Adnan ÖZTÜRK
Sakarya Üniversitesi
Üye


Prof. Dr. Erdal ERDEM
Ankara Üniversitesi
Üye


Doç. Dr. Mustafa Sancar ATAÇ
Gazi Üniversitesi
Ortak Tez Danışmanı
Üye


Doç. Dr. Osman ÇİFTÇİ
İnönü Üniversitesi
Üye

ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/....../2015 tarih ve 2015/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Dokusu	3
2.2. Kemiğin Hücresel Elemanları	3
2.2.1. Osteoblastlar	3
2.2.2. Osteositler	3
2.2.3. Osteoprogenitör Hücreler	4
2.2.4. Osteoklastlar	4
2.3. Kemik Matriksi	4
2.4. Kemik Oluşumu ve Gelişimi	5
2.4.1. İntramembranöz Kemikleşme	5
2.4.2. Endokondral Kemikleşme	6
2.5. Kemik Greftleri	6
2.6. Kemik Greftlerinin Biyolojisi	6
2.7. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Geçerli Olan Kemik Greftleri	7
2.7.1. Otojen Kemik Greftleri	7
2.7.2. Homojen Kemik Greftleri (Allogreftler)	7
2.7.3. Heterojen Kemik Greftleri (Ksenogreftler)	8
2.7.4. Alloplastik Greftler	8
2.8. Trombosit Konsantrasyonları	9
2.8.1 Trombositten Zengin Fibrin (TZF)	9
2.8.2. Tekniğin Uygulanması	9
2.8.3. Avantajları	10
2.9. Dental İmplantoloji	11
2.9.1. İmplantın Tanımı	11
2.9.2. İmplantın Tarihçesi	11

2.9.3. Osseointegrasyon	11
2.9.4. İmplantolojide Başarıyı Etkileyen Faktörler	12
2.9.5. İmplantlarda Başarı ve Başarısızlık Kriterleri	12
2.10. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu	13
2.10.1. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunda Kullanılan Biyomateryaller	14
2.10.1.1. Rezorbe Olmayan Rejeneratif Bariyerler	14
2.10.1.2. Rezorbe Olan Rejeneratif Bariyerler	14
2.10.1.2.1. Doğal Rejeneratif Bariyerler	14
2.10.1.3. Polimerler	15
2.10.1.3.1. Biyopolimerler	15
2.10.1.3.1.1. Poli (Laktik Asit)	15
2.10.1.3.1.2. Poli (Etilen Glikol)	16
2.10.1.3.1.3. Poli (laktik asit)-Poli(etilen glikol) Kopolimer	16
2.11. Bifosfonatlar	17
2.11.1. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı	18
2.11.2. Bifosfonatların Etki Mekanizması	18
2.11.2.1. Osteositler Üzerine Etkileri	18
2.11.2.2. Kemik Rezorbsiyonunun Önlenmesi	19
2.11.2.3. Kemik Oluşumuna Etkileri	19
2.11.3. Bifosfonat Çeşitleri	20
2.11.3.1. Alendronat Sodyum (4-amino-1-hydroxybutylidene 1,1 diphosphate)	20
2.11.4. Bifosfonatların Tümörisidal Etkileri	22
2.11.5. Bifosfonatların Yan Etkileri	22
2.11.5.1. Bifosfonata Bağlı Çenelerde Görülen Osteonekroz	22
3. MATERYAL VE METOT	24
3.1. Çalışma Grupları	24
3.2. Biobozunur Mebranın Hazırlanması	25
3.2.1. Harmanlama ve Film Dökme	25
3.3. Trombositten Zengin Fibrinin (TZF) Hazırlanması	26
3.4. Alendronat Solüsyonunun Hazırlanması	28
3.5. Cerrahi İşlemler	29
3.6. Radyolojik Değerlendirme	39

3.7. Histolojik Preparatların Hazırlanması	43
3.7.1 Sert Doku Kesme İşlemi	43
3.8. Kesitlerin Histomorfometrik Değerlendirilmesi	46
3.9. İstatistiksel Değerlendirme	47
4. BULGULAR	48
4.1. Histolojik Bulgular	50
4.1.1. 6.Haftaya Ait Histolojik Bulgular	50
4.1.2. 12.Haftaya Ait Histolojik Bulgular	54
4.2. Histomorfometrik Bulgular	58
4.3. Radyolojik Bulgular	60
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR	72
EKLER	96
EK.1. ÖZGEÇMİŞ	96
EK.2. Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı	97

TEŞEKKÜR

Annem Hayriye Güler Hanım, babam Mehmet Ali Bey ve sevgili eşim Derya'ya...

Doktora eğitimi sürecinde bizlerden desteklerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Serkan POLAT'a, Doç. Dr. Mustafa Sancar ATAÇ'a, Yrd. Doç. Dr. Ümit YOLCU'ya, Yrd. Doç. Dr. Hilal ALAN'a ve Doç. Dr. Osman ÇİFTÇİ'ye teşekkür ederim.

Doktora tezimin deney aşamasında bana çok yardımda bulunan yakın dostlarım Dr. Dt. Ahmet Hüseyin ACAR'a ve Dt. Muhammed Fatih ÖZÜPEK'e teşekkür ederim.

Tezimin istatistiksel analizlerinin hesaplanmasında yardımcı olan Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na teşekkür ederim.

Mikro-BT analizlerinde yardımcı olan Doç. Dr. Ali KELEŐ'e teşekkür ederim.

Histoloji ve histomorfometrik incelemelerde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Zeynep Burçin GÖNEN'e teşekkür ederim.

ÖZET

PERİ İMPLANT DEFEKTLERDE REZORBE OLABİLEN MEMBRAN İLE BİRLİKTE KULLANILAN FARKLI MATERYALLERİN YENİ KEMİK OLUŞUMUNDAKİ ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Bu çalışmanın amacı peri implant defektlerde rezorbe olabilen membran altında lokal Alendronat (ALN) uygulanmasının, trombositten zengin fibrinin (TZF) ve deproteinize kemik greftinin (ksenogreft) yeni kemik oluşumundaki etkisinin araştırılmasıdır.

Çalışmamızda kullanılan biyobozunur membran ağırlıkça %90 poli(laktik asit) ve %10 poli(etilen glikol) karışımı ile 200 mikron metre kalınlığında üretilmiş bir polimerdir.

Çalışmamızın deneysel aşamasında 16 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Her tavşanın tibialarına ikişer adet 5 mm çapında mono kortikal standart defektler açılmış ve 3,3 mm çapında 8 mm boyunda dental implantlar yerleştirilmiştir. Defektlerden birisi kontrol grubu, diğer üç grup ise deney grubu olmuştur. Kontrol grubunda peri implant defektler boş bırakılmıştır. Birinci deney grubunda defektler deproteinize kemik grefti (ksenogreft) ile doldurulmuştur. İkinci deney grubunda defektlere TZF konulmuştur. Son deney grubunda ise ALN solüsyonu 60 sn boyunca defekti içeren implant kavitelerine uygulanmıştır. Tüm gruplarda implantlar kemik seviyesinde yerleştirilmiş ve üzerleri rezorbe olabilen biobozunur membran ile örtülmüş ve membranı sabitlemek amacıyla doku yapıştırıcısı ile kemiğe sızdırmaz bir şekilde yapıştırılmıştır.

Hayvanların yarısı 6. hafta diğer yarısı ise 12. hafta sonunda sakrifiye edilmiştir. Tavşanlardan elde edilen numunelerin Mikro-Bilgisayarlı tomografi (Mikro-BT) görüntüleri alındıktan sonra histolojik ve histomorfometrik analizleri yapılmıştır. Mikro-BT incelemesinde, peri implant defektlerde oluşan yeni kemik hacmi hesaplanmıştır. Histomorfometrik incelemelerde ise oluşan yeni kemik alanı ve kemik implant temas alanı hesaplanmıştır.

Histomorfometrik inceleme ve Mikro-BT analizlerine göre lokal ALN uygulanan grupta yeni kemik oluşumu 12. hafta sonundada diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$). Yine lokal ALN uygulanan grupta 6. ve 12. haftalarda yeni kemik oluşumundaki artış diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$).

Sonuç olarak peri implant defektlerde lokal ALN uygulaması yeni kemik oluşumunu artırmaktadır.

Anahtar kelimeler: Peri implant defekt, lokal Alendronat, Trombositten zengin fibrin, ksenogreft, Mikro-BT, tavşan.

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE EFFECTIVENESS OF RESORBABLE MEMBRANE WITH USED DIFFERENT MATERIALS ON NEW BONE FORMATION IN PERI-IMPLANTS DEFECTS

The present study aimed to investigate the effectiveness of locally administered alendronate (ALN) treatment, platelet-rich fibrin (PRF) and deproteinized bovine bone graft (xenograft) with resorbable membrane on bone regeneration.

Biodegradable membranes, a polymer consist of 90% by weight poly (lactic acid) and 10% poly (ethylene glycol) with thickness of 200 micron, were used in our study.

16 New Zealand rabbits were used in the study. On the tibias of each rabbit, 2 standardized monocortical defects, 5-mm in diameter, were created. One of the defects was used as control and the other three were used as experimental groups. The first experimental defects were filled with PRF The second experimental defects were filled with deproteinized bovine bone graft (xenograft), and the third experimental defects the ALN solution was injected with a syringe into the hole for 60 sn. All implants were placed with in bone level and covered with biodegradable resorbable membrane. Membranes adhered tightly to the bone tissue with adhesive.

Half of the rabbits were sacrificed at 6th week (T1) and other half sacrificed at 12th week (T2). The volume of new bone formed in peri implant defect were calculated bu micro-CT examination. In the histomorphometric analysis, the new bone areas and bone to implant contacts area were calculated.

Histomorphometric and micro-CT analysis showed that locally administered ALN significantly increased bone regeneration T2 ($p < 0.01$). However increase in new bone formation in the local ALN treatment group at T1 and T2 were statistically significant compared to all other groups ($p < 0.01$).

To conclude, locally administered Alendronate increases new bone formation in peri implant defects.

Key Words: Peri implant defect, locally Alendronate, Platelet rich fibrin, Micro-CT, rabbit.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α : Alfa

$^{\circ}\text{C}$: Santigrat Derece

μm : Mikro Metre

ALN: Alendronat

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

BMP: Bone Morphogenetic Proteinler

BRONJ: Bifosfonata bağlı çenelerde görülen osteonekroz

CBFA1: Core Binding Factor Alpha-1

ePTFE: expanded Polytetrafluoroethylene

FDA: Food and Drug Administration

HAP: Hidroksiapatit

HCV: Hepatitis C virus

HIV: Human Immunodeficiency Virus

IL-6: Interleukin 6

ILGF1: İnsülin benzeri büyüme faktörü 1

ILGF2: İnsülin benzeri büyüme faktörü 2

Mikro-BT: Mikro Bilgisayarlı Tomografi

Ort: Ortalama

P-C-P: Bifosfonat

PEG: poli (etilen glikol)

PLA: poli (laktik asit)

PGA: poli (glikolik asit)

PLGA: poli (laktik-ko-glikolik asit)

Rpm: Rounds per minute (dakikada devir sayısı)

ROI: Region of interest

SS: Standart sapma

TZF: Trombositten zengin fibrin

TZP: Trombositten zengin plazma

YDR: Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu

YKR: Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kemiğin hücresel elemanları	4
Şekil 2.2 Hazırlanan TZF'nin görüntüsü: Altta eritrositler ve üstte fibrin phtı (TZF).	10
Şekil 2.3 Pirofosfat anyonunun temel yapısı	18
Şekil 2.4 Bifosfonatın temel yapısı	18
Şekil 2.5 Alendronatın kimyasal yapısı	21
Şekil 3.1 Hazırlanan deney düzeneğinin (a) transversal ve (b) koronal şeması	25
Şekil 3.2 Mikro harmanlayıcıya monte edilmiş film çekme cihazı	25
Şekil 3.3 Çalışmada kullanılan 0,2 mm kalınlığındaki PLA:PEG membran	26
Şekil 3.4 Tavşanın kulak veninden kan alınması	27
Şekil 3.5 TZF için kullanılan 10 ml'lik boş tüp	27
Şekil 3.6 Santrifüj cihazı	28
Şekil 3.7 Hazırlanan TZF'nin küçük parçalar halinde parçalanmış görüntüsü	28
Şekil 3.8 a) Aledronat Sodyum b) Steril kap içerisinde 2,5 mg/ml çözelti	29
Şekil 3.9 Çalışmada kullanılan anestezi ilaçları	29
Şekil 3.10 Çalışmada kullanılan dental implant	30
Şekil 3.11 Çalışmada kullanılan ksenojen greft materyali	30
Şekil 3.12 Çalışmada kullanılan cerrahi aletler ve implant seti	31
Şekil 3.13 Tavşan arka bacağına traş edilip povidon iyodür ile silindikten sonraki görüntüsü	31
Şekil 3.14 Cilt insizyonu	32
Şekil 3.15 Künt ve keskin diseksiyonla tavşan tibiasına ulaşılması	32
Şekil 3.16 Yerleştirilecek implantların yerlerinin belirlenmesi	33
Şekil 3.17 İmplant yuvalarının hazırlanması	33
Şekil 3.18 Hazırlanan implant yuvalarının etrafına trefin frez ile kemik defektlerinin oluşturulması	34
Şekil 3.19 Defektler oluşturulduktan sonra implant yuvaları cerrahi sahanın görüntüsü	34
Şekil 3.20 Kemik seviyesinde yerleştirilmiş dental implantların (3,3 x 8mm) görüntüsü	35
Şekil 3.21 Grup 2'deki peri-implant defektlerin TZF ile doldurulmuş görüntüsü	35

Şekil 3.22 Grup 3’deki peri-implant defektlerin greft ile doldurulmuş görüntüsü	36
Şekil 3.23 İmplantlar ve defektlerin üzerlerine rezorbe olabilen membran uygulaması	36
Şekil 3.24 Çalışmada kullanılan doku yapıştırıcısı	37
Şekil 3.25 PLA-PEG mebranın doku yapıştırıcısı ile sabitlenmesi	37
Şekil 3.26 Cilt altı dokuların primer kapatılmasından sonraki görüntüsü	38
Şekil 3.27 Cildin rezorbe olabilen suturla primer kapatılmasından sonraki görüntüsü	38
Şekil 3.28 Cerrahi alanın son hali	39
Şekil 3.29 Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT) cihazı	40
Şekil 3.30 DataView programı ile görüntülerin hazırlanması	41
Şekil 3.31 CTAn programında verilerin analizinin hazırlanması	41
Şekil 3.32 CTAn programında 5 mm çapında ROI eklenmesi	42
Şekil 3.33 Tibia, oluşturulan defekt, implant ve yeni oluşan kemiğin 3-D görüntüleri	42
Şekil 3.34 Yeni oluşan kemiğin ve implantın 3-D transversal görüntüleri	42
Şekil 3.35 Yeni oluşan kemiğin ve implantın 3-D koronal görüntüleri	43
Şekil 3.36 Tibianın, yeni oluşan kemiğin ve implantın 3-D koronal görüntüleri	43
Şekil 3.37 Tibianın, yeni oluşan kemiğin ve implantın 3-D çeşitli açılardan görüntüleri	43
Şekil 3.38 Örneklerin dehidrate olmaları için bekletildikleri alkol banyoları	44
Şekil 3.39 Hassas sert doku kesme cihazı	45
Şekil 3.40 Kesitleri final kalınlığına getirmek için kullanılan aşındırma cihazı	45
Şekil 3.41 Peri implant defektteki yeni oluşan kemiğin ve kemik implant kontağının ölçülmesi	46
Şekil 4.1 12 haftalık gruptaki PLA:PEG membranın tamamen rezorbe olmuş görüntüsü	49
Şekil 4.2 6 haftalık grupta kısmen rezorbe olmamış PLA:PEG membranın görüntüsü	49
Şekil 4.3 6. hafta Grup 1’e ait preparatın histolojik görüntüsü	50

Şekil 4.4	6. hafta Grup 2'ye ait preparatın histolojik görüntüsü	51
Şekil 4.5	6. hafta Grup 3'e ait preparatın histolojik görüntüsü	52
Şekil 4.6	6. hafta Grup 4'e ait preparatın histolojik görüntüsü	53
Şekil 4.7	12. hafta Grup 1'e ait preparatın histolojik görüntüsü	54
Şekil 4.8	12. hafta Grup 2'ye ait preparatın histolojik görüntüsü	55
Şekil 4.9	12. hafta Grup 3'e ait preparatın histolojik görüntüsü	56
Şekil 4.10	12. hafta Grup 4'e ait preparatın histolojik görüntüsü	57
Şekil 4.11	Histomorfometrik inceleme sonuçlarına göre yeni oluşan kemik alanlarının yüzde cinsinden dağılımları (%)	59
Şekil 4.12	Mikro-BT inceleme sonuçlarına göre yeni oluşan kemik alanlarının yüzde cinsinden dağılımları (%)	61
Şekil 4.13	Gruplara ait Mikro-BT görüntüsü	63

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1: Grupların histomorfometrik değeriendirilme sonuçları	58
Tablo 4.2: Grupların post hoc histomorfometri sonuçlarının değeriendirilmesi	58
Tablo 4.3: Mikro-BT analizinde hesaplanan yeni kemik hacminin yüzdesi	60
Tablo 4.4: Grupların post hoc Mikro-BT sonuçlarının değeriendirilmesi	61

1.GİRİŞ

Oral ve maksillofasiyal cerrahi pratiğinde; tümör ve kist operasyonları sonrasında, diş çekimlerini takiben, osteoporoz etkisiyle rezidüel kemik hacminde azalmalar meydana gelebilir (1,2). Bu kaybedilen kemik dokusunun, yeniden kazandırılması ve kemik oluşumunun hızlandırılması dental implantoloji için tedavi sürecinin en önemli parçalarını oluşturmaktadır (3,4). Bu amaçla kemik rejenerasyonunda çeşitli tedavi teknikler geliştirilmiştir (5). Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu ile çeşitli tipteki kemik greftleri, bunların kombinasyonları ve bariyer membranlar gibi biyomateryaller sıklıkla kullanılmaktadır.

Kendiliğinden iyileşmesi mümkün olmayan defektlerin rekonstrüksiyonunda genellikle ilk seçenek altın standart olarak kabul edilen otojen kemik transplantasyonudur. Ameliyat süresinin uzaması, ikinci bir cerrahi operasyon alanı, istenilen biçim ve boyutlarda hazırlanabilme güçlüğü ve alıcı sahada skar kalması; hastalar ve klinisyenler açısından tekniğin olumsuz yönleridir (6, 7). Bu dezavantajı nedeniyle otojen greftlerin yerine allogreftler, ksenogreftler, alloplastik materyaller, rejeneratif bariyer membranlar, kemik yapımını stimüle edici bazı materyaller önem kazanmıştır (8).

Allogreftler otojen greftlere iyi bir alternatifirler. Tartışmalı osteoindüktif kapasiteleri, uygulanan bölgede immünolojik yanıt oluşturma potansiyelleri ve bulaşıcı hastalık riski allogreftlerin olumsuz özelliklerindedir (9).

Ksenogreftler oral cerrahide yaygın olarak kullanılmakta olup diğer kemik greftlerine iyi bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Sığır kaynaklı ksenogreftler insan kemik yapısına benzemeleri, biyouyumlu olmaları ve iyi osteokondüktif yapıları nedeniyle sık tercih edilmektedirler (10).

Konvansiyonel tedavilerin başarı oranını yükseltmek amacıyla yeni ve kombine teknikler araştırılmaktadır (11, 12).

Son dönemlerde Paget hastalığında, osteoporozda ve metastatik kemik hastalıklarında başarıyla kullanılan bifosfonatlar dişhekimliği alanında da dikkat çekmekte ve kemik metabolizmasını değiştirebilen bu ilaçlar, yeni bir tedavi yaklaşımı olarak görülmektedir (13-15).

Bifosfonatların sistemik kullanımı sebebiyle oluşan yan etkilerini en düşük düzeye indirmek amacıyla son dönemlerde lokal uygulamaları üzerine çeşitli araştırmalar yapılmaktadır (16).

Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan tavşan tibialarındaki peri implant defektlerde rezorbe olabilen mebran ile birlikte kullanılan TZF, ksenojen greft ve Alendronat'ın (ALN) yeni kemik oluşumundaki etkisinin histolojik, histomorfometrik ve radyolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu

Vücutun en sert dokularındandır. İskelet sistemini oluşturur ve hayati önem taşıyan organları korur. Yaşam süresince istemli fiziksel aktivitelere destek ve direnç sağlar (17-20). Vücuttaki kalsiyum depolarının %99'unu barındırır. İçerdiği kemik iliği sayesinde hematopoetik bir organdır (21).

Kemik doku içerisinde organik ve inorganik yapıyı barındıran, kalsiyum ve fosfat tuzlarıyla mineralize olmuş düzenli sıralanmış kollajen matriksten oluşan ileri derecede özelleşmiş bir bağ dokusudur (21-23).

2.2. Kemiğin Hücresel Elemanları

Kemiğin hücresel elemanları; osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar, mezenşimal osteoprogenitör hücreler, kemik iliği hücreleri ve kemiğin büyüme ile gelişimini düzenleyen immün sistem hücreleridir (24, 25).

2.2.1. Osteoblastlar

Osteoblast kemik matriksini salgılayan farklılaşmış kemik oluşturucu hücredir. Metabolit yönünden daha aktif olan matür kemiği üretirler. Matriksi oluşturan osteoidi meydana getirirler ve kendi oluşturdukları osteoid içinde gömülü kalırlar. Kemik yapımı aktivitesi azaldığında, bir kısım osteoblast hücreleri osteositlere dönüşürken büyük bir kısmı da kemik yüzeyi boyunca küboid hücre kümeleri şeklinde bulunurlar (26-29). Bu doku kalsifiye olunca osteoblastların aktiviteleri azalır, basık bir görünüme kavuşurlar ve birer osteosit olurlar. Kemiğin inorganik kısımlarının üretilmesi osteoblastların varlığına bağlıdır (25).

2.2.2. Osteositler

Osteosit daha önce bir osteoblasttan salgılanan kemik matriksi tarafından hapsedilen olgun kemik hücresidir. Bir osteoblast tamamıyla osteoid veya kemik matriksi içinde olduğunda, osteosit olarak adlandırılır (Şekil 2.1). Osteositler kemik matriksinin korunmasından sorumlu hücrelerdir. Osteositler yeni bir matriks sentezine ve hem de matriks parçalanmasına katılabilir. Bu tür faaliyetler kalsiyum dengesini korumasına yardımcı olur (25, 28).

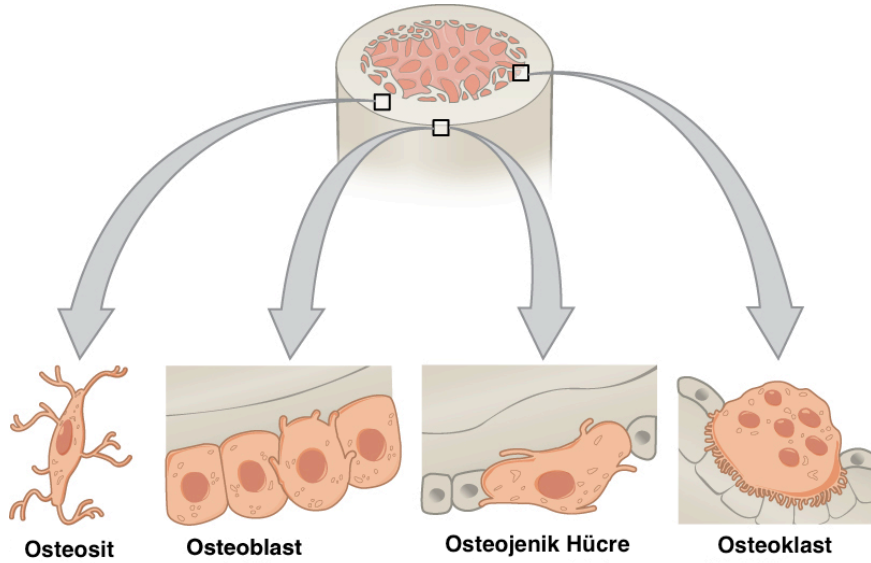
2.2.3. Osteoprogenitör Hücreler

Osteoprogenitör hücre mezenşimal kök hücrelerinden köken alırlar. Osteogenezis, yeni kemik oluşumu sürecinde, normal kemik fonksiyonu için gereklidir. Bölünüp çoğalarak fibroblastlara, osteoblastlara, yağ dokusu hücresine, kırık dokusu hücresine ve kas hücresine farklılaşabilir. Kemik büyümesinde ve kırık iyileşmesi sırasında osteoblastlara dönüşür. Osteoprogenitör hücreler osteoblast farklılaşmasında ve kemik matriksini salgılanmasında bir dinlenme hücresidir (25, 28).

2.2.4. Osteoklastlar

Osteoklast kemik rezorpsiyonundan sorumludur. Kemik bulunmadığı alanlarda bulunan büyük, çok çekirdekli hücrelerdir. Kemik yüzeylerinde yer alan rezorpsiyon kavimleri ya da 'Howship Lakünleri' adı verilen boşluklarda bulunurlar.

Osteoklastlar, kemik mineral yapısını çözerek kalsiyumun açığa çıkmasını sağlarlar. Osteoklastların etkileri bifosfonatların, kalsitonin ve östrojen hormonlarının etkileriyle azalır; paratiroid, tiroksin hormonları ve D vitamini ile artar (30, 31).



Şekil 2.1 Kemik hücresel elemanları

2.3. Kemik Matriksi

Organik ve inorganik matriks olmak üzere iki kısma ayrılır.

İnorganik matriks, kalsiyum hidroksiapatit ve osteokalsiyum fosfattan oluşur.

Kemik mineral kısmı kemik kuru ağırlığının yaklaşık %65'ini meydana getirir ve çoğunlukla hidroksiapatit $[Ca^{10}(PO_4)^6(OH)^2]$ kristalleri tarafından doldurulur. Bu

kristaller kollajen liflerinin içlerinde ve aralarında bulunur, iğne veya çubuk şeklindedirler.

Organik matriks ise kemiğin kuru ağırlığının %35'ini meydana getirir. Organik matriksin %90'ını kollajen oluştururken, kalan kısmı kollajen dışı çeşitli proteinlerden (proteoglikanlar, glikoproteinler, büyüme faktörleri, sitokinler, fosfolipidler ve fosfolipoproteinler) oluşur.

Kollajenin %85-90'ını Tip I kollajenden oluşmakla birlikte, matriks yapısına diğer kollajen tipleri de (Tip III, V, XI, XIII kollajenler) katılmaktadır.

Matriks kemiğin yapısal bütünlüğünü sağlar. Matriksin üretilmesi ve yenilenmesi kemiğin hücresel elemanları tarafından sağlanır (32).

2.4. Kemik Oluşumu ve Gelişimi

Kemik oluşumu embriyolojik dönemde başlar ve gelişimi erişkin hayata kadar devam eder. Biyokimyasal, hormonal, hücresel ve patolojik olayların birbirleriyle uyumlu ve sistematik etkileşimiyle gelişir. İki tip gelişme modeli gösterir.

Bir kemik gelişimi geleneksel biçimde intramembranöz veya endokondral olarak sınıflandırılır.

2.4.1. İnamembranöz Kemikleşme

Mezenşimal bağ dokusundan oluşan yeni kemik gelişimidir. Vücudumuzda yassı kemiklerde (kafatası, mandibula, sternum gibi), yüz kemiklerinde (mandibulanın processus coronoideus ve simfizisi dışındaki bölgeler), kısa ve uzun kemiklerin kompakt kısımlarında bulunur (28). Doğumdan sonra, kemik defektlerinin yenilenmesi ve kırık iyileşmesi sırasında reaktif olur (25, 33).

İnamembranöz kemikleşmede, osteoblastlar kemik içinde mezenşimal hücrelerin farklılaşması ile oluşturulur. İnamembranöz kemikleşme insanlarda ilk olarak gebeliğin sekizinci haftasında görülür. Mezenşimal hücrelerin doku içinde bu yoğunlaşması intramembranöz kemikleşme sürecini başlatır. Mezenşimal hücreler daha sonra 'core binding factor alpha-1' (CBFA1) transkripsiyon faktörü ile osteoprogenitör hücrelerine farklılaştırılır. Bu, transkripsiyon faktörü osteoblast farklılaşmasını ve her iki tip olan intramembranöz ve endokondral kemikleşme için gerekli olan genlerin ekspresyonu için gereklidir. İşlem devam ettikçe, olası kemik bölgesinde organize olan yeni doku daha vaskülarize olur ve toplanan mezenşimal hücreler, daha büyük ve yuvarlak hale gelir (28).

2.4.2. Endokondral Kemikleşme

Hiyalin kırıkta modelde, osteoprogenitor hücrelerin invazyonu sonrasında primer kemikleşme merkezi ortaya çıkar. Uzun kemiklerdeki epifiz sekonder kemikleşme merkezidir. Bu iki merkezin arasında büyümeyi sağlayan metafiz büyüme plağı (fizis) bölgesi bulunur. Fiziste kondrosit gelişimi ve dönüşümü gerçekleşir. Fizislerdeki büyüme sırasında ve kırık sonrasında oluşan sekonder iyileşme endokondral kemikleşme örnekleridir (33). Periost kemik yüzeyinde bulunan osteoblastlar kemiklerin enine büyümesi ve kırık iyileşmesi sırasında apozisyonel kemikleşme gösterir ve lameller kemik oluşur. Kemikler endokondral kemikleşmeyle boyuna büyüme gösterirken, intramembranöz kemikleşmeyle enine büyüme gösterir (25).

2.5. Kemik Greftleri

Hekimler çok eski zamanlardan beri maksillofasiyal cerrahide, zarar görmüş dokuları sağlıklı olanlarıyla transplantasyon yoluyla değiştirmeye çalışmışlardır. Bu uğraşlar günümüzde de protez öncesi cerrahide, konjenital defektlerin ve ortognatik deformitelerin tedavisinde, temporomandibuler eklem deformitelerinin tedavisinde ve çene ve yüz kemiklerinin onkolojik cerrahi sonrası rekonstrüksiyon alanlarında yapılmaktadır.

2.6. Kemik Greftlerinin Biyolojisi

Kemik doku mühendisliğinin temeli, kemiğin istenen anatomik bölgede kemik iyileşmesi için yanıt oluşturmaktır. Klinik başarı, oluşan kemiğin yeniden şekillenme sonucu çevre kemik dokusu ile yapısal olarak bütünleşmesi (integration) ve oluşan kemiğin fonksiyon görmek için yeterli mekanik dayanıklılığa sahip olması ile belirlenir. Kemik greftlerinin biyolojisini anlamak için bazı kavramların açıklanması gereklidir (34, 35). Bunlar :

Osteokondüksiyon: Alıcı kemikten vasküler ve perivasküler yapıların grefte ilerlemesi için greftin çatı görevi üstlenerek yüzeyinde yeni kemik oluşumunu destekleyebilmesidir. Kısacası greft materyalinin yeni kemik oluştuğu sırada iskelet görevini görmesidir.

Osteoindüksiyon: Greft materyalinin etkisi ile mezenşimal hücreler ve fibroblastların kemik yapıcı hücrelere dönüşmesidir.

Osteogenesis: Greft materyali içindeki hücresel elemanların, transplantasyon sonrası hayatta kalarak, nakledilen alanda yeni kemik oluşturabilmesidir. Yeni kemik dokusu ortaya çıkabilmesi için öncelikle kemiği meydana getirebilecek yeterli sayıda "osteojenik progenitor hücreler" ortamda bulunmalıdır (36).

Kemik grefti uygulamalarında donör saha ve greft materyali kemik oluşumunda birbirine yardımcıdır. Yüz ve çene kemiklerinin rekonstrüksiyonunda başarılı sonuçlar elde edebilmek için, donör sahadaki vaskülarite ve fibroblastik hücrelenmenin yanı sıra transplante edilen kemiğin osteojenik kalite ve kantitesi önemlidir (37).

Tüm bunlar düşünüldüğünde, osteogenezisteki artış, yeni kemik oluşumu için matriks sağlanması ve mekanik stabilite araştırmaların odak noktasını oluşturmuştur (38).

Kemik greftlerinin osteogenezisi artırması iki yolla gerçekleşebilir;

- i. osteoblastları ya da osteoblastlara dönüşebilecek canlı hücreleri koruyarak,
- ii. alıcı dokuyu osteoblastların sayısını artırıcı şekilde indükleyerek (39).

2.7. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Geçerli Olan Kemik Greftleri

Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanımı olan kemik greftleri ve implantlar; otojen kemik greftleri, homojen kemik greftleri (allogreftler), heterojen kemik greftleri (ksenogreftler) ve alloplastik implantlardır.

2.7.1. Otojen Kemik Greftleri

Aynı bireyden alınan greft tipidir. Osteojenik etkiye sahip tek greft malzemesidir. Bu etkisiyle altın standart olarak kabul edilir. Bunun yanında zaman içerisinde osteojenik etkisinin kaybolmasıyla osteoindüktif ve osteokondüktif etki gösterir. Otojen greftlerde aynı bireyde transplantasyon yapıldığı için doku uyumluluğu sorunu görülmez. Yapısındaki canlı hücreler sayesinde osteojenik etki gösterir. Osteojenik hücreler bulundurması ve immünolojik reaksiyona sebep olmamasıyla en avantajlı greft materyali olarak gösterilmektedirler. Ancak verici bölgede ikinci bir operasyona ihtiyaç olması, uzun süreli postoperatif ağrı ve hareket kısıtlılığı görülebilmesi ve bakım süresinin uzaması bu grubun dezavantajlarıdır (23, 39).

2.7.2. Homojen Kemik Greftleri (Allogreftler)

Aralarında genetik benzerlik bulunmayan aynı türdeki bireyden alınan greftlerdir. Aynı genetik yapıya sahip bireylerden (tek yumurta ikizleri) alınıp uygulandığında izogreft denilmektedir. Değişik genetik tipteki farklı insanlardan,

kadavralardan elde edilirler. Allogreftlerin immünolojik komplikasyonlarını ve hastalık taşıma potansiyellerini vardır. Vericiden alıcıya geçebilecek Human Immunodeficiency Virüs (HIV) ve Hepatit C virüsü (HCV) gibi önemli virüsleri pirionları barındırma riskleri vardır. Bunları ortadan kaldırmak için hazırlanmalarındaki son teknikler; dondurma, dondurup kurutma gibi kriyobiolojik metotlar ya da radyasyona tabi tutmadır. Fakat bu işlemler neticesinde biyolojik ve mekaniksel özellikleri olumsuz yönde etkilenir (40-42).

2.7.3. Heterojen Kemik Greftleri (Ksenogreftler)

Heterojen terimi farklı türdeki bireylerden alınan dokular için kullanılır. İnsanlarda heterojen kemik greftleri uygulamaları 17. yy'dan beri var olmasının yanı sıra, maksillofasiyal bölgede kullanımı sık olmamakla beraber yenidir. Ksenogreftler memeli hayvanların kemiklerinden veya omurgasız hayvanlar olarak kabul edilen mercan iskeletlerinden elde edilebilirler.

Heterojen kemik greftleri küçük boyutlardaki defektleri doldurmak için geliştirilmişlerdir. Birçok klinisyen bu greftlerin herhangi bir osseojenik potansiyel sağlamadıklarını, bunun yerine yeni kemik oluşumu için matriks oluşturduklarını belirtmişlerdir. Bu materyallerin erken klinik kullanımları ile normal iyileşme mekanizmasında bir yavaşlama olduğu bilinmektedir. Bazı organik çözücüler ile hazırlanan ve bu sırada immünojenitesinin çoğunu kaybeden dana kemiği en genel heterojen greft kaynağıdır. Bu kemik organik komponentlerinden ayrıldıktan sonra kalsiyum matriks sterilize edilir ve greft kullanıma hazır hale getirilir. Bu şekilde hazırlanan greft, alıcıda herhangi bir immün reaksiyona sebep olmaz. Anorganik dana kemiği ile yapılan çalışmalarda greftin osteotomi alanlarında başarılı sonuçlar verdiği, post-travmatik deformite ve hipoplastik alan düzeltmelerinde yetersiz kaldığı görülmüştür (42, 43).

2.7.4. Alloplastik Greftler

Vücut dokularıyla uyumlu, organik maddeden arındırılmış sentetik greft materyalleridir. Katı (solid) veya kafes metallere, katı veya gözenekli polimerler, hidroksilapatit ve buna bağlı trikalsiyum fosfat, seramikler, biyoaktif cam veya bu materyallerin gözenekli formlarının kombinasyonlarıdır. Yapısal olarak kemik dokunun inorganik yapısına benzerlik gösterirler. İdeal bir alloplastik greft şu özelliklere sahip olmalıdır;

Çeşitli formlarda ve boyutlarda üretilebilmelidir. Sert doku sağlamlığına ve esnekliğine sahip olmalıdır. İmmunojenik reaksiyona sebep olmamalı ve operasyon sırasında adaptasyon için rahat şekillendirilebilmelidir (42, 44).

2.8. Trombosit Konsantrasyonları

Trombositler kemik iliğinin megakaryosit diye adlandırılan büyük ve multinükleer olan hücrelerinin parçalarından oluşur. Megakaryosit parçaları sistemik dolaşıma girince trombosit olarak adlandırılırlar. Çapları 1,5-3,0 µm arasında değişir. Dolaşımdaki ömrü 9-10 gündür (45, 46). Trombositler fonksiyonel olarak, hemostazın sağlanmasında ve yara iyileşmesinin başlamasına görev alırlar (47).

Hemostaz, iyileşmenin ilk aşaması olarak kabul edilebilir. Damarsal bütünlüğün bozulması durumunda koruyucu bir trombosit tıkaç oluşur. Birincil hemostaz da denilir. İkincil hemostaz ise plazma pıhtılaşma sistemi reaksiyonlarını kapsar ve sonuçta fibrin oluşur (48). Fibrin; fibrinojen denilen bir plazma molekülünün aktif formudur ve hemostaz sırasında trombosit agregasyonunda belirleyici rol oynar. Aslında, fibrinojen tüm koagülasyon reaksiyonlarının son substrattır. Çözünür protein olan fibrinojen, polimerize fibrin jel skatrisyel yaralı alanın matrisini teşkil ederken fibrinojen trombin tarafından çözünmeyen fibrine dönüşür (45).

2.8.1 Trombositten Zengin Fibrin (TZF)

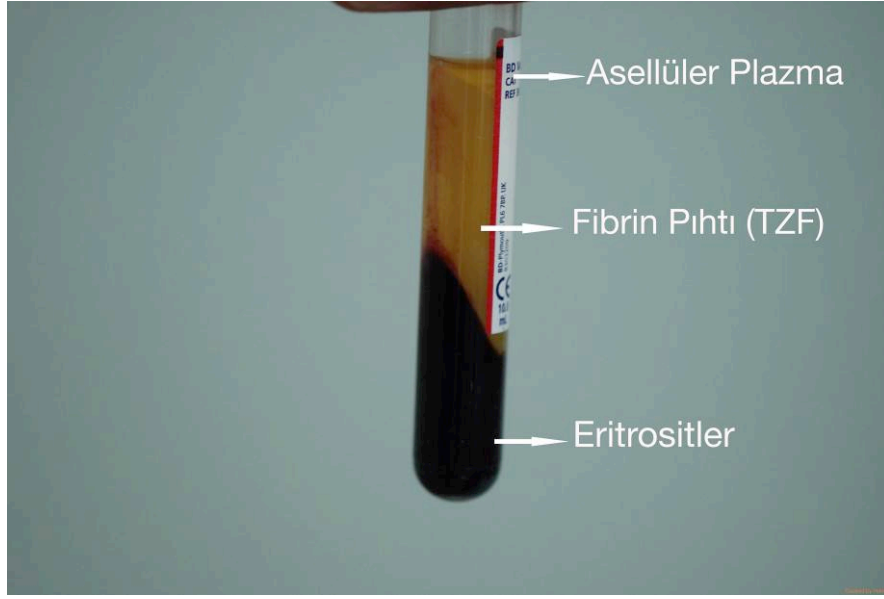
Trombositten zengin fibrin (TZF) ikinci nesil trombositten zengin plazma (TZP) olarak da adlandırılır. Trombosit konsantrasyonları arasındaki temel farklardan biri, TZF'nin tamamen doğal olmasıdır. Bu sistemde ne sığır trombinini ne de kalsiyum klorür antikoagülanın kullanılmasına gerek yoktur. TZF basitçe doğal optimize bir kan pıhtısı olarak kabul edilmektedir (49).

2.8.2. Tekniğin Uygulanması

TZF tekniği ağız ve çene cerrahisi alanında özel kullanım için ilk olarak Choukroun ve ekibi tarafından Fransa'da geliştirilmiştir. Bu teknikte ne antikoagülan ne de sığır trombinini (ne de başka bir jelleşme ajanı) kullanmak gerekmemektedir (45). Sadece bir santrifüj cihazı ve kan alma kiti yeterlidir.

TZF protokolü çok basittir. Alınan kan antikoagülan olmadan 10 dakika süreyle 3000 rpm'de santrifüj edilir. Antikoagülan bulunmadığından tüp duvarları ile temas halinde olan kanda trombositlerin birkaç dakika içinde aktivasyonu meydana gelir. Trombin tüpün üst kesiminde yoğunlaşmadan önce fibrinojeni fibrine dönüştürür.

Sonrasında da tüpün üst kısmında asellüler plazma, orta kısmında fibrin pıhtı (TZF) ve altta eritrositler elde edilir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Hazırlanan TZF'nin görüntüsü: Altta eritrositler ve üstte fibrin pıhtı (TZF).

Trombositler teorik olarak fibrin bir kafeste kitlesel olarak hapsolmuş durumdadır. Bu tekniğin başarısı tamamen kan toplama hızı ve santrifüj için transfer hızına bağlıdır. Kan toplamak ve santrifüjü başlatmak için uzun bir süre geçerse, başarısızlık ortaya çıkar. Fibrin tüp içinde dağınık şekilde polimerize olur ve tutarlılığı olmayan sadece bir kan pıhtısı elde edilir. Trombositlerin yaklaşık %97 si ve lökositlerin %50 si TZF'nin içerisinde yoğunlaşır ve santrifüj kuvvetine bağlı olarak, belirli bir üç boyutlu dağılım gösterir (49).

TZF içerdiği immün sistem elemanları ve yüksek miktardaki trombosit sayesinde maksillofasiyal cerrahide yara iyileşmesini hızlandırmak ve yeni kemik oluşumunu arttırmak amacıyla kullanılmaktadır (50). Özellikle sinüs tabanı yükseltme operasyonlarında tek başına ya da greft materyali ile birlikte klinik kullanımı yaygındır. Fibrin ağların oluşturduğu yapısı sayesinde membran olarak kullanılabilir. Ayrıca peri-implant defektlerinin onarılması ile ilgili yapılan hayvan çalışmaları mevcuttur (51-55).

2.8.3. Avantajları

Herhangi bir otoimmün reaksiyona yol açma ya da alıcı ya da verici sahada enfeksiyon riski yaratma potansiyelinin en az düzeyde olması da yöntemin avantajları olarak karşımıza çıkmaktadır. Buna ek olarak TZF'nin membran olarak kullanımı

sonucunda, greft kaybında en önemli etken olan greftin ekspoz olmasi sorunu kismen de olsa engellenebilir ayrıca membran kolaylıkla suture edilebilir. Pahalı değildir, basit bir protokolü vardır. Yüksek miktarda lökosit içerir. Yedi gün süresince büyüme faktörü salınımı yapar (56).

2.9. Dental İmplantoloji

2.9.1. İmplantın Tanımı

İmplant terimi tıp literatüründe tedavi amacıyla yapay bir maddenin vücut içerisine yerleştirilmesi olarak kullanılır. Diş hekimliği alanında ise; ağız bölgesinde kayba uğrayan dişlerin veya destek dokuların kaybını yerine koymak amacıyla çene kemiği içerisine, yerleştirilen fonksiyonel ve estetik açıdan doğal dişlerin yerini tutmayı amaçlayan yapılardır (57).

2.9.2. İmplantın Tarihçesi

Tarih boyunca çekilmiş dişler, metal ve tahta parçaları, kurumuş kemik gibi nesnelere implant materyali olarak kullanılmıştır (58).

Modern dental implantolojinin temeli 1960'lı yıllarda Dr. Per Ingvar Branemark ve ekibi tarafından yapılan çalışmalarla oluşturulmuştur (59). Bu çalışmalar sırasında ilk defa osseointegrasyon kavramı ortaya atılmıştır.

2.9.3. Osseointegrasyon

İlk kez Brånemark ve arkadaşları tarafından "Canlı kemik ile implant arasındaki (ışık mikroskopu düzeyinde) doğrudan temas" şeklinde tanımlanmıştır. Terim ilk olarak Albrektsson ve arkadaşları tarafından bir makalede tanımlanmıştır. Albrektsson ve ekibi (60) osseointegrasyonu "canlı kemik ve yük taşıyan bir implant yüzeyi arasında direkt, fonksiyonel ve yapısal bağlantı" şeklinde tanımlamıştır.

Osseointegrasyon, Medical Dictionary'de "Histolojik olarak kemik ve implant arayüzünde fibröz doku büyümesi olmaksızın implant etrafında kemik dokusu oluşumu ile bir implantın doğrudan kemiğe sabitlenmesi" olarak tanımlanır(61).

Albrektsson ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda titanyum, zirkonyum ve neobiyumdan üretilen implantların kemik ile osseointegre olabileceğini; altın ve paslanmaz çelikten üretilenlerin ise kemik ile arada yumuşak doku oluşmadan kaynaşmasının mümkün olmadığını belirtmişlerdir. Osseointegrasyon için en uygun materyalin titanyum olduğunu göstermişlerdir (57, 62, 63).

Bazı araştırmacılar ise osseointegrasyon süresini azaltmak için implant yüzeyinin farklı yöntemlerle şekillendirilmesi ve farklı materyallerle kaplanması yönünde çalışmalar yapmışlardır (64-66).

2.9.4. İmplantolojide Başarıyı Etkileyen Faktörler

İmplant çalışmalarının başarısı maksillofasiyal cerrah, protez uzmanı, periodontolog ve hasta arasındaki uyumun sonucuna bağlı olarak değişiklikler gösterir. Yapılacak olan implant tedavisinin başarıya ulaşmasında pek çok faktör etkilidir. Bunlar:

- 1) Uygun hasta seçimi,
- 2) Sert ve yumuşak dokuların implant tedavisi için uygunluğu,
- 3) Uygulama metodu ve ekibin yeterliliği,
- 4) Uygulanacak implant materyalinin uygun özelliklere sahip olması,
- 5) Postoperatif dönemde hastanın göstereceği özen,
- 6) Yüklemenin zamanında ve uygun şekilde yapılması,
- 7) Uygulanacak protetik tedavilerin planlama ve uygulamasının doğru yapılması,
- 8) Tüm tedaviler bittikten sonra hastanın ağız bakımına göstereceği önemdir (67, 68).

2.9.5. İmplantlarda Başarı ve Başarısızlık Kriterleri

En çok kabul gören başarı kriterlerinden biri, 1998'de Zarb ve Albrektsson (69) tarafından yayımlanan bir konsensüs raporudur. Bu rapora göre başarı kriterleri şunlardır:

- İmplantlar klinik olarak mobilite göstermemelidir,
- Radyografide peri-implant bölgede radyolüsent alanlar bulunmamalıdır,
- İmplantın yerleştirildiği ilk yıl için kemik kaybı en fazla 0,4 veya 0,5 mm, birinci yıl sonrası her yıl için yıllık dikey kemik kaybı 0,2 mm'den az olmalıdır,
- İmplant cerrahisinden kaynaklanan kalıcı ağrı, enfeksiyon, nöropati, parestezi gibi belirtiler olmamalıdır,
- İmplantın 5 yıllık başarı oranı %85'ten, 10 yıllık başarı oranı ise %80'den az olmamalıdır.

Bu raporda, başarının bazı kriterleri subjektif, bazıları ise daha objektiftir.

Literatürde genellikle kabul edilen 3 başarı kriteri; hastalığın klinik belirti ve semptomlarının olmaması, implant mobilitesinin olmaması ve stabil kemik seviyesi, olarak karşımıza çıkmaktadır (70-76).

Dental implantların uzun dönem başarısını etkileyen bir diğer faktör ise, implantın yerleştirildiği kemiğin durumudur. Maksillofasiyal bölgede travma, enfeksiyon, travmatik diş çekimleri, konjenital sebepler, kist ve tümör eksizyonları gibi birçok nedene bağlı olarak kemik defektleri gelişebilir. Küçük boyuttaki defektler kendiliğinden iyileşebileceği gibi daha büyük boyuttaki defektlerin onarılması gerekmektedir (77). İmplant tedavisinde defektli bölgelere yapılan implantasyonda “yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu” (YKR) kavramı karşımıza çıkmaktadır.

2.10. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu

Oral ve maksillofasiyal cerrahide ana hedef kaybedilen dokuların fonksiyonel ve estetik bakımdan yeniden kazandırılmasıdır. Bu hedefe ulaşabilmek amacıyla çeşitli teknikler tasarlanmış ve geliştirilmiştir (78-81).

Bu tekniklerden biri olan Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (YDR) Dahlin ve ark. tarafından 1980'li yıllarda yapılan seri çalışmalarla bilim hayatına kazandırılmıştır. Tekniğin temel olarak yeni ataçman oluşturma mekanizması olarak tanımlanan periodontal doku rejenerasyonu prosedürü şeklinde tasarlanmıştır (82-85).

Bu yöntemde bariyer olarak kullanılan bir materyal defektli bölgeye yerleştirilir, diş eti bağ dokusu hücrelerinin defekte ulaşması engellenir ve periodontal ligamentten organize olan hücrelerin gelişip çoğalmasına yardımcı olunur. Günümüzde YDR tekniği periodontal dokuların en etkin rejenerasyon tekniği haline gelmiştir (86, 87).

İlk başta periodontal dokuların rejenerasyonu için geliştirilen bu teknik daha sonra rejenerasyon kapasitesi oldukça yüksek olan kemik dokusuna uygulanmıştır. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu prensiplerini temel alan kemik dokudaki rejenerasyon tekniği, ‘Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu’ (YKR) olarak adlandırılmıştır (88-90).

Oral ve maksillofasiyal cerrahide travmatik diş çekimi, kist veya tümör eksizyonu sonrasında alveol kemiği geniş defektler bırakarak iyileşmektedir. Bu defektlerin tamirini gerektiren olgularda, fibröz iyileşme istenmeyen bir durumdur. Bu durumun ana nedenlerinden birisi iyileşme sırasında yara bölgesine çevre dokulardan farklı hücresel elemanların değişik oranlarda göç etmesidir. Bu istenilmeyen hücrelerin

yara bölgesinden uzaklaştırılması amacıyla çeşitli bariyer membranlar üretilmiştir ve YKR tekniği ile başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (91-94).

Özellikle dental implant tedavilerinin güvenilir ve yaygın bir hale gelmesiyle yeterli alveoler kemik hacim ve yüksekliği sağlamak amacıyla kemik rejenerasyonu tekniklerine duyulan ihtiyaç da artmıştır.

2.10.1. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunda Kullanılan Biyomateryaller

Günümüzde implant cerrahisinde oldukça popüler olan yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu tekniği kapsamında pek çok biyomateryal kullanılmaktadır. Bu materyaller temel olarak iki gruba ayrılır. [1] Rezorbe olmayan bariyer membranlar, [2] Rezorbe olabilen bariyer membranlar.

2.10.1.1 Rezorbe Olmayan Rejeneratif Bariyerler

Materyalin çıkartılmasının gerekmesi bu gruptaki membranların en büyük dezavantajıdır. Bu da hasta ve hekim için ikinci bir cerrahi işlem demektir. Diğer bir dezavantaj ise membranın ekspoz olma riski %31'den fazladır. Bu da başarısızlıklara neden olmaktadır. Membranın ekspoz olmasıyla enfeksiyon riski artar, kemik rejenerasyonu potansiyeli azalır. Bu dezavantajlar rezorbe olan membranların gelişmesine neden olmuştur (95).

Bu grupta titanyum, ePTFE, nanopolitetrafloroetilen ve bunların kombinasyonları vardır.

2.10.1.2. Rezorbe Olan Rejeneratif Bariyerler

Rezorbe olabilen bariyerler; hayvan kaynaklı ya da sentetik polimerler olarak üretilirler. Yavaş yavaş hidrolize olurlar ya da enzimatik reaksiyonla çözünürler. Bu nedenle konuldukları ortamdan uzaklaştırılmaları gerekmez. İkinci bir cerrahi işlem gerektirmez. Geçmişten günümüze kadar sığır kollajeni, öküz peritonu, polilaktik asit, poliglukolid, vikril, yapay deri ve dondurulmuş kurutulmuş dura mater gibi değişik kaynaklardan elde edilmişlerdir (96).

2.10.1.2.1. Doğal Rejeneratif Bariyerler

Domuz ve sığırların Tip I veya Tip II kollajeninden hazırlanırlar. Tip I kollajen periodontal bağ dokuda bulunan temel komponenttir. Kuvvete karşı dirençlidir ve esnek değildir. Epitel hücrelerin ortama göçüne izin vermezler. Hemostaza katkıları vardır.

Bağ dokunun ataşmanına ve platelet agregasyonuna izin vererek pıhtı formasyonu oluşumuna yardım ederler. Zayıf immünojenite gösterirler, ePTFE membranlara kıyasla daha az ekspozе oldukları görülür ve buna bağılı olarak enfeksiyon riskleri daha düşüktür. Hazırlanma şekline göre 4-40 hafta arasında rezorbe olurlar (97, 98).

2.10.1.3. Polimerler

Polimerler, monomer denilen daha küçük moleküllerin birbirlerine tekrarlar halinde eklenmesiyle oluşan çok uzun zincirli moleküllerdir. Bir polimer molekülünde onlarca, yüzlerce, binlerce adet monomer molekülü bulunabilir (99).

2.10.1.3.1. Biyopolimerler

Bazı polimerler, canlı hücreler veya mikroorganizmaların bulunduğu biyolojik ortam şartlarında bozunmaya uğrarlar. Bu biyolojik ortamlar; deniz, toprak, nehir, göl, insan ve hayvan bedeni olabilir (100, 101). Biyopolimer daha geniş anlamıyla; biyolojik ortamlarda, insan vücudunda belli bir süre sonra tamamen kaybolan polimerler olarak tanımlanır (102). Biyobozunur polimerler ikiye ayrılır;

Doğal selüloz, nişasta, deri, çitin, çitosan vb. canlı organizma tarafından üretilir.

Poli (laktik asit) (PLA), poli (glikolik asit) (PGA), poli (etilen glikol) (PEG) vb. sentetik olarak üretilirler ama biyobozunurluğu kanıtlanmış biyopolimerlerdir.

2.10.1.3.1.1. Poli (Laktik Asit)

Biyoesashlı yapılardan üretilen biyopoliesterler arasında PLA, ticari potansiyeli en fazla olan ham maddedir ve günümüzde oldukça büyük boyutta üretim yapılmaktadır. PLA; şeker pancarı, mısır gibi %100 yenilenebilen kaynaklardan elde edilir. Genellikle de mısır nişastası ve laktik asidin polimerizasyonu ile üretilir. PLA sentezi ilk olarak 1932'de Carothers tarafından çalışılmıştır. İlk kullanımı ise Amerika'da 1974 yılında ameliyat dikişi malzemesi şeklinde olmuştur (103).

PLA, vücudumuzda monomerlerine ve oligomerlerine parçalanır ve polimerden hiçbir iz kalmaz. İnsan vücudunda bu parçalanma sonrasında karbonhidrat metabolizmasının bir ara ürünü olan ve nontoksik yapıdaki laktik aside dönüşür. Laktik asit α -hidroksipropiyonik asidin yaygın kullanılan adıdır (102).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda bilinen bir yan etkisi olmadığı anlaşılmıştır. Gözeneksiz bir yapıya sahiptir. PLA'yı farklı fiziksel özelliklerde üretmek ve istenilen performans değerini elde etmek mümkündür. Kullanımından itibaren 6–18 ay içinde vücuttan tamamen yok olur. Biyo eliminasyon aşamasında hidroliz ile PLA

zinciri daha küçük zincir ve birimlere bölünmekte ve tek tek laktik asit moleküllerine indirgenmektedir. Laktik asit karbonhidrat metabolizmasında yer alan bir madde olmasından dolayı toksik değildir. Laktik asit molekülleri ya fagositozla ya da intersellüler sıvıda eriyerek karaciğer tarafından metabolize edilir, CO₂ ve H₂O'ya parçalanarak, akciğerlerden elimine edilir (104-108).

Biyobozunma işlemi organizma, substrat ve çevre etkisi ile gerçekleşir. Bunlardan herhangi biri eksik olduğunda biyobozunma gerçekleşemez (109).

Biyobozunur polimerlerin bozunma süreci karmaşıktır ve 2 ana aşamada gerçekleşir;

I. Aşama: Ürün fiziksel, ısıl veya mekaniksel olarak bozunur. Kırımlar şeklinde ufalanarak, kimyasal olarak veya mikroorganizmalar tarafından biyolojik olarak parçalanabilir. Bu aşamada ürün küçük parçalar haline gelir.

II. Aşama: Biyobozunmadır. Bu aşamada mikroorganizmaların enzimleri etkisiyle ürün yapı taşlarına ayrılır ve tüketilir. Sonuçta ürün karbondioksit, su, metan ve biyolojik kütleyle dönüşerek mineralize olur.

PLA'nın kullanıldığı değişik klinik uygulamalarda materyalin biyoyumunun olduğu gösterilmiştir. Ortopedide, diş hekimliğinde, oral ve maksillofasiyal operasyonlarda kullanımı sonrasında yumuşak dokuyla, kemik iliği hücreleriyle olan biyoyumu tespit edilmiştir (110-120).

2.10.1.3.1.2. Poli (Etilen Glikol)

Poli (etilen glikol) (PEG), toksiki immunojenik ve antijenik olmayan; hidrofilik ve esnek olması sayesinde mükemmel biyoyumluluğa sahip bir biyomalzemedir.

PEG insan vücudunda kullanımı ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmış bir polimerdir. PEG toksik değildir, aktif proteinlere veya hücrelere hasar vermez. PEG vücuttan bütün olarak böbrekler veya feçes yoluyla atılır (121, 122).

2.10.1.3.1.3. Poli (laktik asit)-Poli(etilen glikol) Kopolimer

PLA, PGA ve PLGA gibi güçlü hidrofobik özellikleri olan biyoparçalanır poliesterlerin getirdiği bazı kısıtlamalar, bu polimerlerin omurgalarına inkorpore edilen PEG sayesinde aşılabilmektedir. PEG, toksik olmayışı, hidrofilitesi ve esnekliği sayesinde mükemmel biyoyumluluğa sahip bir biyomalzemedir. Polimerlerin Yapısına PEG eklenmesi esnekliğini ve hidrofilikliğini artırabilir (123).

İçerisindeki PEG'e ait olan hidrofilik özellik nedeniyle su ile etkileşme ve şişme özellikleri kazanan bu yapıların parçalanma hızı özellikleri, içerdikleri PEG oranı değiştirilerek ayarlanabilmektedir. İçerikteki PEG moleküllerinin önce hızla su alıp şişmeleri polimerik yapıda bir erozyona neden olmakta ve ardından denge durumunda yavaşça hidrasyon gerçekleşmekte ve faz ayırımına bağlı parçalanma bu şekilde gerçekleşmektedir (123-125).

2.11. Bifosfonatlar

Bifosfonatlar ilk kez Almanya'da sentezlenmiştir. 19. yy'ın ortalarına kadar kimyagerler tarafından bilinen bisfosfonatlar esasen korozyonu önleme amacıyla sanayide, tekstilde, gübre ve petrol endüstrisinde negatif katalizör maddeler olarak kullanılmıştır. Etidronat 1897 yılında bir hastalığın tedavisi için kullanılan ilk bifosfonattır. 1995 yılından beri bisfosfonatlar kemik ve kalsiyum metabolizmasının çeşitli hastalıklarında kullanılmak için ilaç olarak geliştirilmiştir (126).

Osteoklastik aktiviteyi azaltmaları, kemik yoğunluğunda belirgin artışa sebep olmaları, stabil kemik mineralizasyonunu düzenlemeleri ve tümör hücreleri üzerine öldürücü etkisinin olması bifosfonatların en önemli özelliklerindedir (127).

Bifosfonatların klinik kullanımına yönelik en önemli adım 1969 yılında Fleisch ve ark. (128) tarafından yapılan çalışmada osteoporozu engellediği olmuştur. Bu çalışmada bifosfonatlar için hidroksiapatit (HAP) kristallerin çözünmesini önlenmesinin alışılmışın dışında bir özelliği gözlemlendi (129). Prifosfatlarda daha önceden belirlenmiş olan bu özellik bifosfonatlar için de birçok yeni kemik iyileşmesi araştırmasının önünü açmıştır (130).

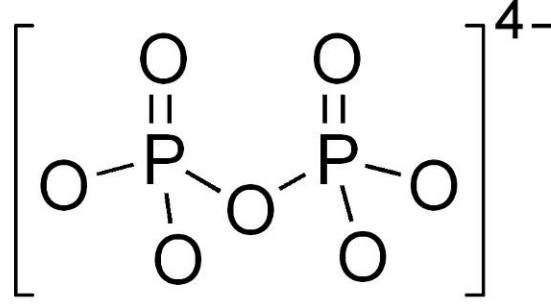
Klinik olarak ilk kullanılan bifosfonat Etidronat olmuştur. Miyozit ossifikans progressiva gibi kalsifikasyon hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır. Yine Paget hastalığında kemik turnoverını da engellemek için ilk kullanım Etidronat ile olmuştur. (130-132).

Paget hastalığında, Etidronat ve daha sonra da diğer bifosfonatların kullanılması, daha önce kullanılan ilaçlara göre oldukça etkili olduğu gösterilmiştir.

Bifosfonatların antianjiyojenik etkileri ve osteoklastik aktiviteyi inhibe ederek kemik repozisyonunun önleme gibi iki temel biyolojik etkileri vardır (127).

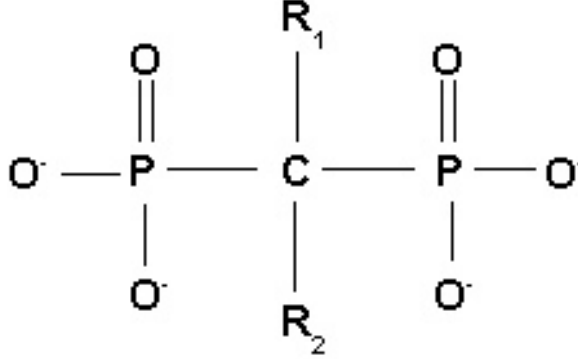
2.11.1. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı

Bifosfonatlar, insan metabolizmasının normal bir ürünü olan pirofosfatların, karbon analogudur; (sentetik analoglarıdır, metabolize olmazlar.) Fosfat-karbon-fosfat (P-C-P) yapısıyla karakterize inorganiklerdir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Pirofosfat anyonunun temel yapısı

İki fosfonat grubu merkezi bir karbon atomuna bağlı olarak bulunur. Pirofosfatların yapısında ise merkezde karbon yerine oksijen atomu vardır (Şekil 2.4). Pirofosfat molekülündeki oksijen atomunun yerine karbon atomu geçerse bifosfonat oluşur (133).



Şekil 2.4 Bifosfonatın temel yapısı

2.11.2. Bifosfonatların Etki Mekanizması

2.11.2.1. Osteositler Üzerine Etkileri

Son çalışmalarda kemik erimesi aktivitesinin engellenmesine katkıda bulunduğu, osteoklast apoptozunu meydana getiren kemik rezorpsiyonunun kuvvetli bir inhibitörü oldukları anlaşılmıştır. Aşağıdaki gibi önemli özellikleri gözlemlenmiştir:

Bisfosfonatlar kemikte kalsiyum-fosfor kristallerine bağlanır ve minerallerin fazla çözünmesini engelleyerek kemik rezorpsiyonunu inhibe eder. Bu etkiyi:

- Osteoklastların farklılaştığı kök hücrelerin dağılım ve osteoklast gelişimi

yönünde farklılaşmalarını baskılayarak,

- Osteoklastların olgunlaşmasını baskılayarak ve
- Osteoklastların fonksiyonunu engelleyerek yapar (134).

2.11.2.2. Kemik Rezorpsiyonunun Önlenmesi

Bisfosfonatlar çok güçlü kemik rezorpsiyonu inhibitörleridir ve yapısına göre değişik potansiyel etki gösterir. Bu durum, hücre ve organ kültüründe in vitro; hayvanlarda ve insanlarda da in vivo olarak gösterilmiştir. Hem normal deney hayvanlarında hem de kemik rezorpsiyonu arttırılmış deneysel koşullarda etkinliği kanıtlanmıştır. Benzer şekilde Paget hastalığında, tümör osteolizi, hiperparatiroidizm ve osteoporoz gibi kemik erimesine eşlik eden hastalıklarda kemik rezorpsiyonu azaltılır (127).

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 sürelerinin kısaltmak,
- 4) Kemik mineralinin çözünüm hızını azaltmak. Bu etki direkt veya indirekt yollarla oluşturulabilir (135).

2.11.2.3. Kemik Oluşumuna Etkileri

Kemik yapısındaki pirofosfatların sentetik analogları olan bifosfonatlar, kemikte hidroksiapatite bağlanıp pirofosfatazların etkisine direnç oluşturarak kemik yıkımını azaltırlar. Pirofosfonatlar, bir oksijene bağlanmış iki fosfonat içeren ve in vitro olarak güçlü kemik rezorpsiyon inhibitörü oldukları gözlenen doğal bileşiklerdir. Bifosfonatlar da, pirofosfat gibi, kalsiyum fosfat kristallerine yüksek afiniteyle bağlanırlar. Böylece kristalin büyümesini, kümelenmesini ve çözünmesini inhibe ederler. Bifosfonatlar, bu yolla kemik yıkımını azaltma özelliği yanında kemik yıkımından sorumlu osteoklastların ana hücreden differansiye olma ve olgunlaşmasını da baskılamakta; dolayısıyla sayı ve aktivitede azalmaya neden olmaktadır (136). Osteoklast sayısındaki bu azalma sonucu kemikte erozyon kaviteilerinin derinliği azalır. Bunun sonucunda periyodik kemik rezorpsiyonu ve yeniden yapılanma aktivitelerinin arasında

kalan, inaktif dönemler uzar; sonuçta kemik yıkımı azalır. Kemik hücre kültürlerinde, bifosfonatların çok düşük konsantrasyonlarda koloni sentezini, mineralizasyonu uyardığı ve buna bağlı olarak da osteokalsin düzeyini arttırdığı gösterilmiştir. Yine bifosfonatların, osteoblastlar tarafından üretilen ve osteoklast hücrelerini stimüle eden IL-6 (Interleukin -6) gibi maddelerin üretimini bloke ettiği bildirilmiştir (137, 138).

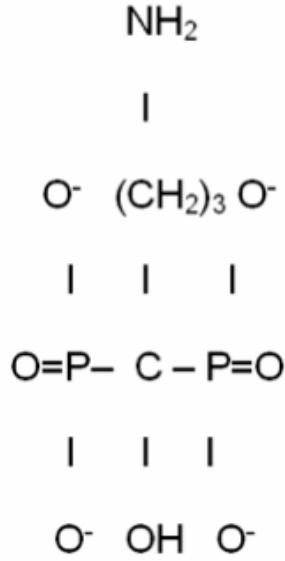
2.11.3. Bifosfonat Çeşitleri

Bifosfonatlar iki ana alt gruba ayrılır. Bu grupların osteoklastlar üzerine olan etki mekanizmaları farklıdır. Bu fark pirofosfat grubuna bağlı zincirin nitrojen içerip içermemesinden kaynaklanır. Bu gruplar: A) Alendronat (oral), Zoledronat (enjekte edilebilen), Pamidronat (enjekte edilebilen), Risedronat (enjekte edilebilen) ve İbandronat (enjekte edilebilen) nitrojen içeren metabolize olmayan bifosfonatlar iken; B) Tiludronat (oral), Etidronat (oral) ve Klodronat (enjekte edilebilen) nitrojen içermeyen ve metabolize olabilen bifosfonatlardır.

Bifosfonat grubundaki preparatlar çeşitlerine göre, oral ve parenteral olarak kullanılabilirler. Hepsinin farklı biyoyararlanımları ve etkileri mevcuttur. Genel olarak, nitrojen içeren ve enjekte edilebilen bifosfonatların (Pamidronat ve Zoledronat) etki gücü yüksektir ve kemikte kalma süreleri daha uzundur (139).

2.11.3.1 Alendronat Sodyum (4-amino-1- hydroxybutylidene-1, 1-diphosphonate)

Alendronat (ALN), ikinci nesil aminobifosfonattır. Kemik rezorpsiyonunun kuvvetli bir önleyicisi olarak işlev görür. Osteoporoz tedavisinde en yaygın olarak reçete edilir.



Şekil 2.5 Alendronatın kimyasal yapısı

ALN'in etki mekanizmasıyla ilgili olarak ilk kez 1991 yılında yapılan bir çalışmada bazı detaylar ortaya konulabilmiştir. Sato ve arkadaşları bu in vitro çalışmalarında ALN'in kemikteki rezorpsiyon yüzeylerine bağlandığını ve asidifikasyon sırasında lokal olarak açığa çıktığını ve burada konsantrasyon artışına bağlı olarak osteoklastların dalgalı membran yapılarını bozduğunu göstermişlerdir (140).

ALN'in kemik inhibisyonundaki bir diğer etki mekanizması da, osteoklastlardaki kolesterol sentez yolunu engellemesiyle oluşmaktadır. Bu yolun oluşturduğu çeşitli enzimler hücre fonksiyonlarında rol almaktadır (141).

Çok güçlü bir etkiye sahip olması ve kemik kalitesini artırması ALN'ı diğer bifosfonatlara göre üstün duruma getirmektedir. ALN kemik turnoverını yavaşlatır ve bu özelliği sayesinde mineralizasyon süresi artmaktadır. Dolayısıyla kemik yoğunluğu da artmaktadır. ALN tedavisi gören kemik doku biyomekanik anlamda daha dirençli hale gelir (142, 143).

ALN'in lokal uygulamasının kemik rezorpsiyonunu engellediği ilk olarak gösterildiği çalışma 1997 yılında Yaffe ve ark. (144) tarafından yapılmıştır.

Birçok deneysel çalışmada da kemik kaybının azaltılması ve kemik yoğunluğunun artırılması, insan ve hayvan modellerinde ALN'in sistemik etkilerini gösterilmiştir (145-156).

2.11.4. Bifosfonatların Tümörisidal Etkileri

Bifosfonatların kemik rezorpsiyonu inhibisyonu etkisi kadar önemli olan diğer etkisi ise tümör hücrelerini öldürücü etkisidir. Çok sayıda çalışmada nitrojen içeren bifosfonatların kanser hücrelerinin aktivitesini azaltarak metastazı kontrol ettiğini gösterilmiştir. Kemiğin matriksinde bulunan büyüme faktörlerinin (BMP, ILGF1, ILGF2 gibi) rezorpsiyon sonucu tümör hücrelerini stimüle ettiği bilinmektedir (157, 158). Ayrıca bifosfonatların kanser hücrelerinin kemik matriksine bağlanmasını engellediği ve kanserin kemik matriksine invazyonunu baskıladığına dair bazı kanıtlar da vardır (159, 160).

Günümüzde meme, prostat ve diğer organların kanserlerinden kaynaklanan veya çok merkezli miyelom ile bağlantılı kemik metastazları ve iskelet komplikasyonlarının tedavisi ve önlenmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.11.5. Bifosfonatların Yan Etkileri

Oral kullanılan bifosfonatların gastrointestinal sistem üzerine yan etkileri (ishal, kusma, bulantı ve karın ağrısı) bildirilmiştir. Geçici olarak ortaya çıkan akut reaksiyonlar analjezikler ile kolaylıkla tedavi edilebilir ve tedavinin kesilmesini gerektirmez (161).

2.11.5.1 Bifosfonata Bağlı Çenelerde Görülen Osteonekroz

Diğer nadir fakat ciddi bir yan etkisi ise bifosfonata bağlı çenelerde görülen osteonekrozudur (biphosphonate related osteonecrosis of jaw, BRONJ). BRONJ, önceden çenelere ait herhangi bir radyoterapi hikayesi olmaksızın bifosfonat kullanmış ya da kullanmakta olan hastaların maksilla ve mandibulalarında oluşan ve 8 haftadan uzun süredir iyileşmeyen alveol kemiğinin açıkta kalma durumudur.

BRONJ'un, sadece ağız bölgesinde ve çene kemiklerinde görülmesi, üzerinde en çok durulan konulardan birisidir. Çene kemikleri vücuttaki diğer kemiklere oranla daha yüksek rezorpsiyon ve apozisyon aktivitesine sahiptir (162). Ayrıca maksilla ve mandibulanın iskelet sisteminde dış ortamla teması olan tek kemik olması gösterilmektedir. Bu temas diş eti cebi ile sağlanmaktadır. Ayrıca diş çekimi sonrasında kemik sekonder iyileşmeye bırakılmakta ve dış ortam ile direk temas halinde olmaktadır. Bir diğer durum ise diş çekimi ve periodontal tedavi sonrası ya da hareketli bir protezin yaptığı vuruk sonrasında kemik üzerinde bir travma meydana gelmekte, mukozada doku bütünlüğü yer yer kaybolmaktadır. Özellikle parenteral formda

bifosfonat kullanan hastaların yara yeri iyileşmesinde de kötü yönde etkilendiğini belirten çalışmalar mevcuttur (163-165). Ancak bu durumların bifosfonat kullanımına bağlı gelişen osteonekroz patogeneğinde nasıl bir rol oynadığı tam olarak ortaya konulamamıştır (166-169).

İnvaziv ve noninvaziv birçok tedavi seçeneği olmasına rağmen BRONJ'a kesin bir tedavi seçeneği henüz bulunamamıştır

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2013/82 no'lu projesi ile desteklendi ve İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 2013 tarihli ve A-66 sayılı karar ile onay alındı.

Çalışmada kullanılan tüm cerrahi aletler, greft materyalleri, ilaçlar ve sarf malzemeleri, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından sağlanan proje desteği ile alındı.

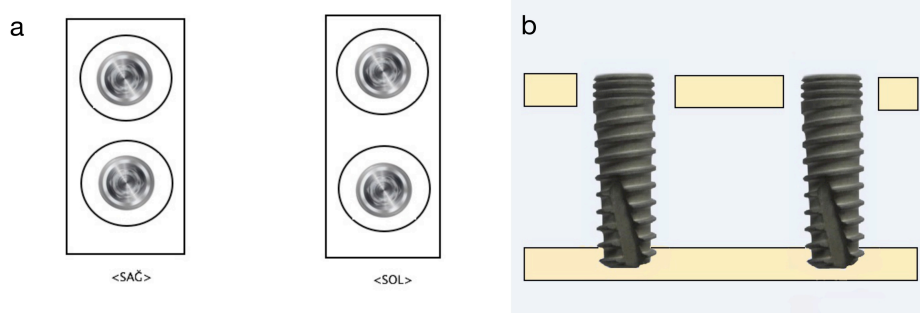
Bu projede gerçekleştirilen hayvan deneyleri İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Bu deneysel çalışmada 7 aylık, tamamı erkek ve ağırlıkları 3,3 kg ile 4 kg arasında değişen (ortalama ağırlık; 3,7 kg) 16 adet beyaz Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Kullanılan hayvanların sağlık durumları uzman bir veteriner tarafından kontrol edildi. Hayvanlar ortalama 24 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda deney kafeslerinde tutuldular. Kafeslerine standart besinleri ve su konularak istedikleri zaman ulaşmaları sağlandı.

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmada gruplar şu şekilde ayrıldı;

- **Grup 1 (Kontrol Grubu):** Bu grupta peri-implant defektler boş bırakıldı.
- **Grup 2 (TZF Uygulanan Grup):** Bu grupta peri-implant defektlere elde edilen TZF küçük parçalara ayrılarak yerleştirildi.
- **Grup 3 (Graft Uygulanan Grup):** Bu grupta peri-implant defektlere deproteinize sığır kemiği (ksenojen greft) Geistlich Bio-OSS® (Bio-OSS® Endobone, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) konuldu.
- **Grup 4 (Alendronat Uygulanan Grubu):** Bu grupta her bir peri-implant defekt ve implant yuvası 60 saniye boyunca 1 ml serum fizyolojik içinde çözülmüş 2,5 mg/ml Alendronate Sodyum (Sigma Aldrich®, St. Louis, MO, USA) solüsyonu ile yıkandı.

Çalışmada toplam 16 tavşan, 64 adet dental implant (İmpliance®, AGS Medikal Tic. AŞ, Türkiye) kullanıldı. Dental implantlar üretici firma tarafından ücretsiz olarak sağlandı. Her deneğin tibia kemiğine 2 adet olacak şekilde bir hayvana iki sağ ve iki sol olmak üzere toplam 4 adet implant yerleştirildi (Şekil 3.1a, 3.1b).



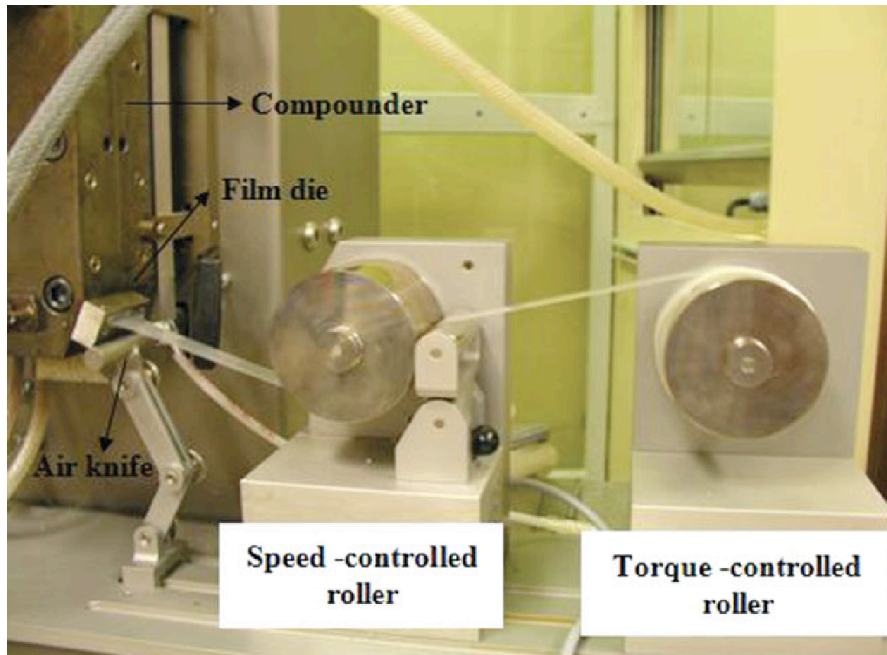
Şekil 3.1 Hazırlanan deney düzeneğinin (a) transversal ve (b) koronal şeması

3.2. Biyobozunur Mebranın Hazırlanması

Çalışmada kullanılan biyobozunur membran Kocaeli Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü Polimer Laboratuvarı'nda üretildi.

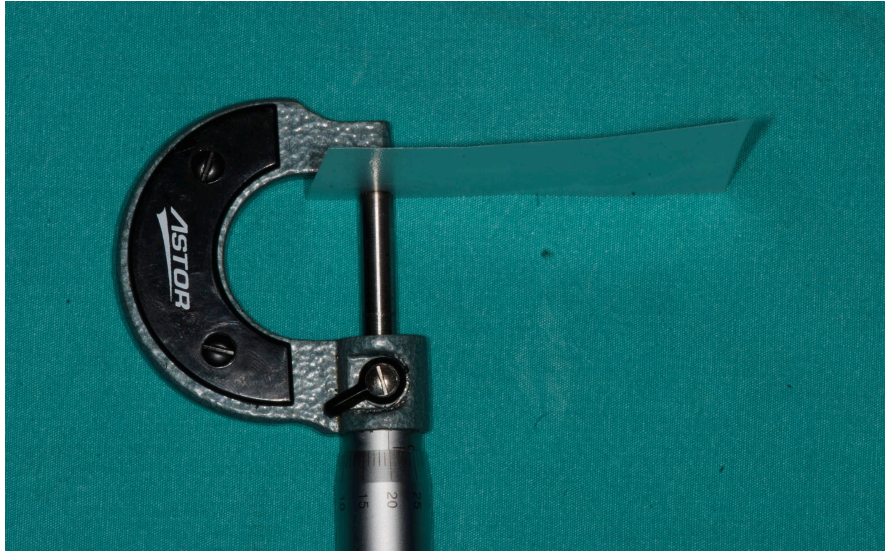
3.2.1. Harmanlama ve Film Dökme

Harmanlama işleminden önce poli(laktik asit) (PLA) 12 saat boyunca 65 °C'de vakum altında kurutuldu. Karışımdaki poli(etilen glikol) (PEG) miktarı ağırlıkça %10 oranında sabitlendi. PLA/PEG karışımı 15 ml hacimli çift vidalı bir mikro harmanlayıcı (DSM Xplore[®], Geleen, Netherlands) kullanılarak hazırlandı. Laboratuvar ölçekli bu cihaz kesikli ya da sürekli olarak çalıştırılabilmektedir. Film üretmek için, kesikli bir film hattı (Mikro film cihazı, DSM Xplore[®], Geleen, Netherlands) ölçekli harmanlayıcıya monte edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Mikro harmanlayıcıya monte edilmiş film çekme cihazı

Mikro harmanlayıcının proses esnasında kovan sıcaklığı 180 °C, vida hızı 100 devir/dakika ve alıkonma süresi ise 3 dakika olarak ayarlandı. Harmanlama esnasında termo-oksidatif bozunmayı ortadan kaldırmak için kovan içi azot gazı ile süpürüldü. Harmanlama işlemi sonunda sabit bir hızda film çekebilmek için harmanlayıcı hız kontrol modundan kuvvet kontrol moduna alındı. 0,3 mm kalınlığında ince bir kafa kullanıldı. Boyun oluşumunu önlemek ve genişliği sabitlemek için elde edilen filmler kafa çıkışında air-knife ile soğutuldu. Filmleri saran silindirin hızı ortalama 0,2 mm kalınlığında ve 25 mm genişliğinde filmler elde etmek için ayarlandı (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Çalışmada kullanılan 0,2 mm kalınlığındaki PLA: PEG membran

3.3. Trombositten Zengin Fibrinin (TZF) Hazırlanması

Çalışmadaki tavşanların 4 tanesi genel anestezi işlemi yapıldıktan sonra TZF elde etmek için kulak veninden yaklaşık olarak 5 ml kan alındı (Şekil 3.4). Bu işlem için hiçbir kimyasal içermeyen boş tüpler (Hema & Tube, Ankara, Türkiye) kullanıldı (Şekil 3.5). Kan alındıktan sonra santrifüj cihazına (Process 02, Nice, France) konuldu (Şekil 3.6). Cihazda 3000 devirde (RPM) 10 dakika olacak şekilde santrifüj edildi. 10 dakika sonunda TZF tüpün orta kısmında elde edildi (Şekil 3.7).



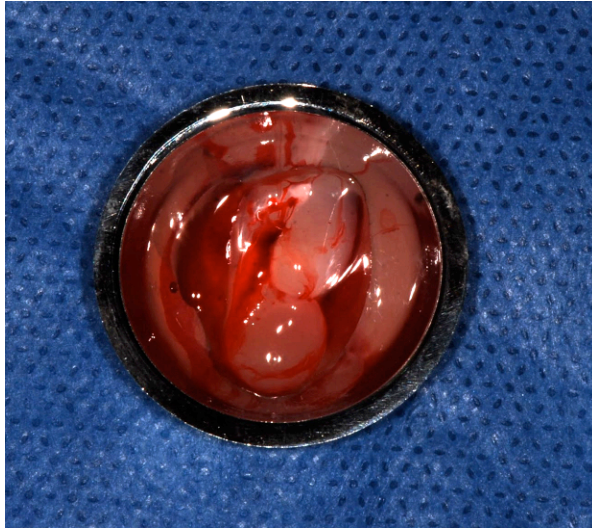
Şekil 3.4 Tavşanın kulak veninden kan alınması



Şekil 3.5 TZF için kullanılan 10 ml'lik boş tüp



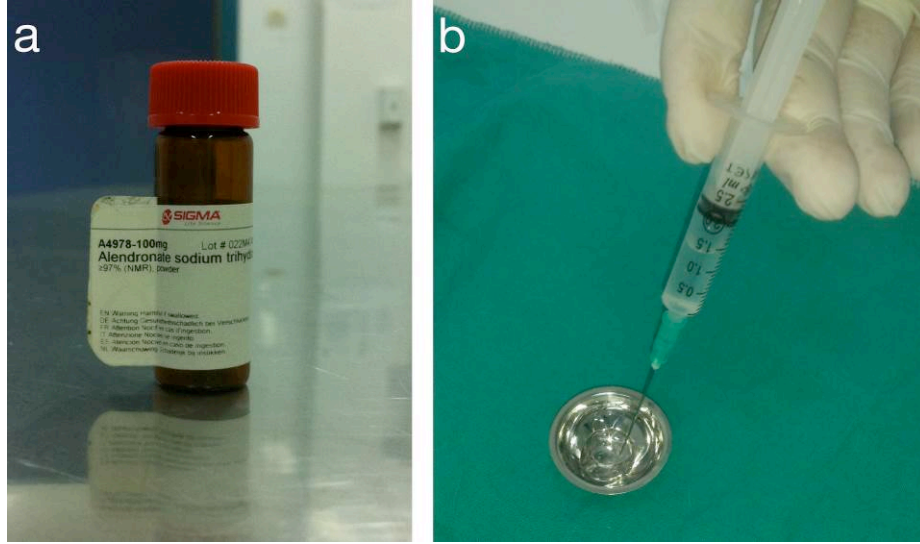
Şekil 3.6 Santrifüj cihazı



Şekil 3.7 Hazırlanan TZF'nin küçük parçalar halinde parçalanmış görüntüsü

3.4. Alendronat Solüsyonunun Hazırlanması

Çalışmada kullanılan bifosfonat türü Alendronat Sodyum Trihidrat (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) -20 °C da saklandı. 2,5 mg Alendronat Sodyum Trihidrat 1 ml serum fizyolojik (%0,9 luk NaCl) içerisinde çözdürüldü (Şekil 3.8 a,b).



Şekil 3.8 a) Aledronat Sodyum b) Steril kap içerisinde hazırlanan 2,5 mg/ml çözelti

3.5. Cerrahi İşlemler

Deneyde kullanılan tüm hayvanlar 50 mg/kg dozda %10'luk Ketamin HCL (Alfamine %10, Woerden, Hollanda) ve 10 mg/kg dozda %2'lik Ksilazin HCL (Alfazyne %2, Woerden, Hollanda) yapılan anestezi altında, aynı cerrah tarafından yapıldı (Şekil 3.9). Cerrahi işlemlerden önce anestezi altındaki tavşanın insizyon alanına 0,5 ml %2'lik Lidokain HCl (Jetokain Ampul, Adeka, Türkiye) enjekte edilerek kanama kontrolü ve analjezi sağlanmaya çalışıldı.



Şekil 3.9 Çalışmada kullanılan anestetik ilaçlar

Çalışmada 3,3 çapında, 8 mm uzunluğunda dental implantlar (Implance[®] Bone Level, AGS Medikal, Trabzon, Türkiye) kullanıldı (Şekil 3.10).



Şekil 3.10 Çalışmada kullanılan dental implant

Çalışmada 3. Gruptaki peri-implant defektlerin doldurulması amacıyla deproteinize sığır kemiği Geistlich Bio-OSS® (Bio-OSS® Endobone, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) kullanıldı (Şekil 3.11).



Şekil 3.11 Çalışmada kullanılan ksenojen greft materyali

Hayvanlara yapılacak cerrahi işlem öncesinde kullanılacak tüm cerrahi aletler (Şekil 3.12) otoklav cihazında steril edildi.



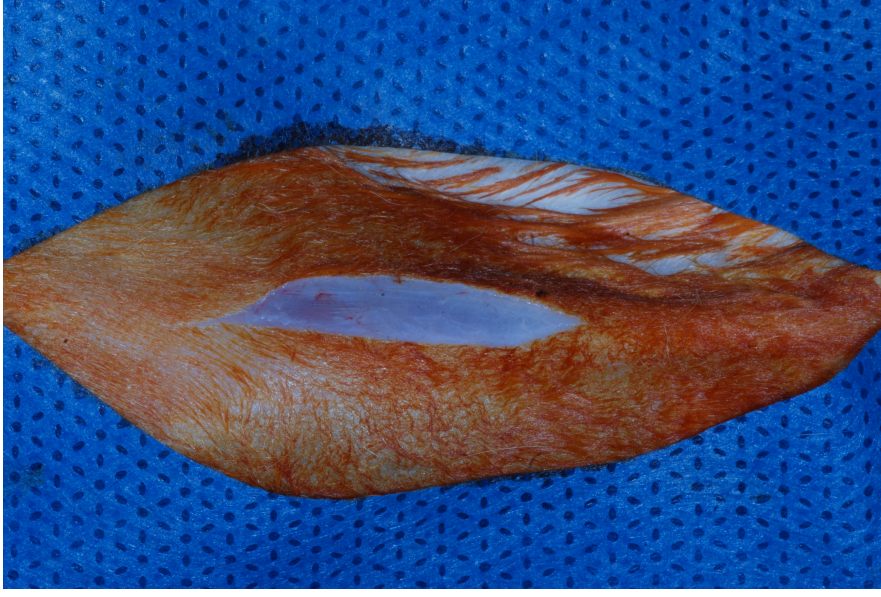
Şekil 3.12 Çalışmada kullanılan cerrahi aletler ve implant seti

Cerrahi işlemler öncesinde tüm tavşanların sağ ve sol tibia anterior üçgen bölgesi üzerindeki alanlar traş edilerek tibial metafiz cerrahi prosedürlere uygun olarak hazırlandı. Cerrahi alanda antisepsi sağlamak amacıyla %10'luk povidon iyodür kullanıldı. Steril örtüler kullanılarak tavşanların arka bacakları görülecek şekilde örtüldü (Şekil 3.13).

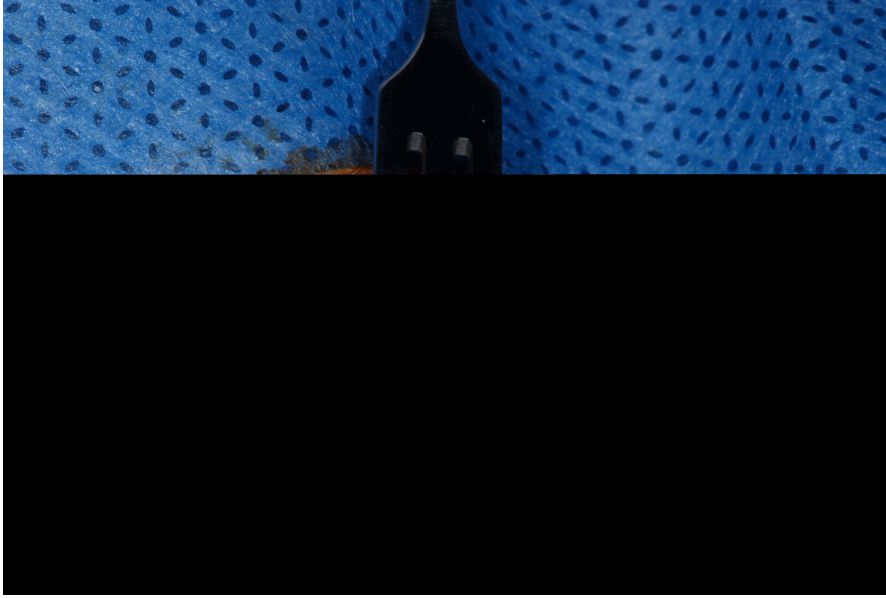


Şekil 3.13 Tavşan arka bacağının traş edilip povidon iyodür ile silindikten sonraki görüntüsü

Tavşanların tibiaların üzerinde 3-4 cm uzunluğunda cilt insizyonu yapıldı (Şekil 3.14). Sonrasında cilt altı dokular künt ve keskin diseksiyonla geçilerek kemik açığa çıkarıldı (Şekil 3.15).

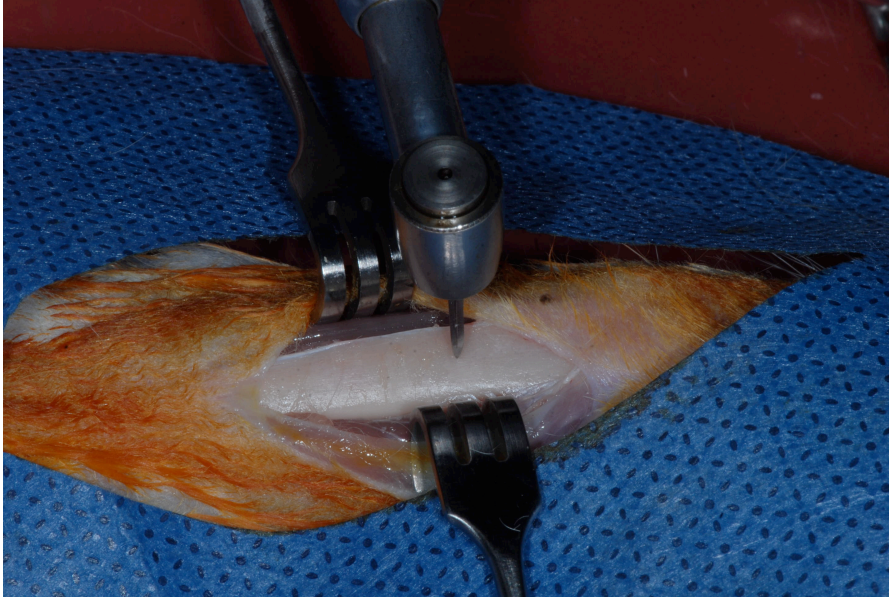


Şekil 3.14 Cilt insizyonu

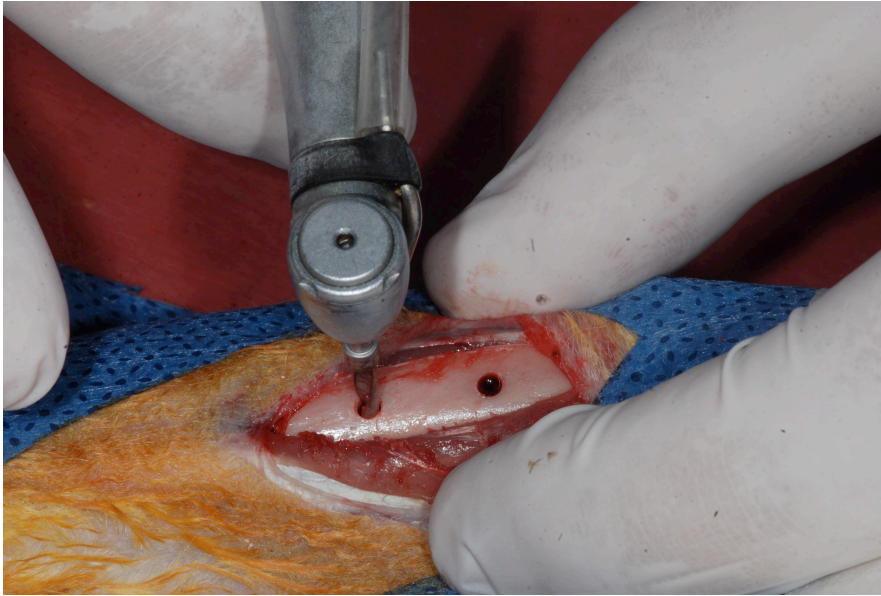


Şekil 3.15 Künt ve keskin diseksiyonla tavşan tibiasına ulaşılması

Serum fizyolojik irrigasyonu altında, özel frezlerle tibial metafize bikortikal olacak şekilde implant yuvaları açıldı. Defektlerin aralarındaki mesafe en az 6 mm olarak ayarlandı (Şekil 3.16, 3.17). Tibianın anterior kortikal tabakasında 5 mm çapındaki trefin frez ile her bir implantın boyun bölgesinde peri-implant defekti taklit etmek amacıyla mono kortikal defekt açıldı (Şekil 3.18, 3.19).



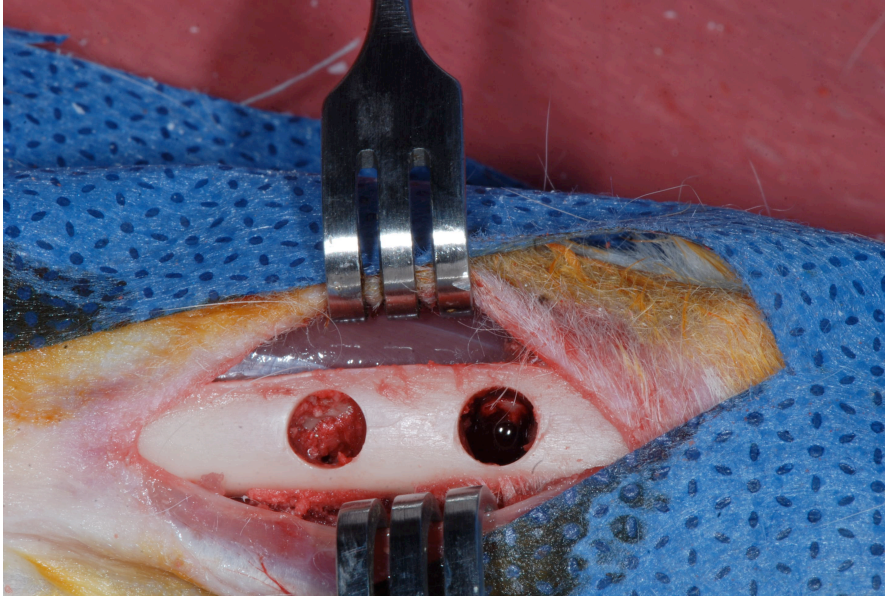
Şekil 3.16 Yerleştirilecek implantların yerlerinin belirlenmesi



Şekil 3.17 İmplant yuvalarının hazırlanması

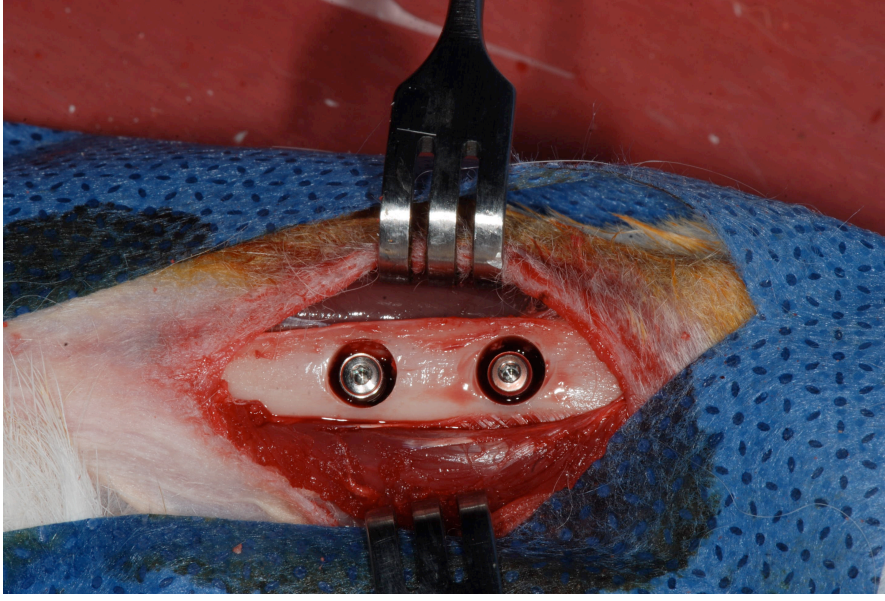


Şekil 3.18 Hazırlanan implant yuvalarının etrafına 5 mm trefin frez ile kemik defektlerinin oluşturulması

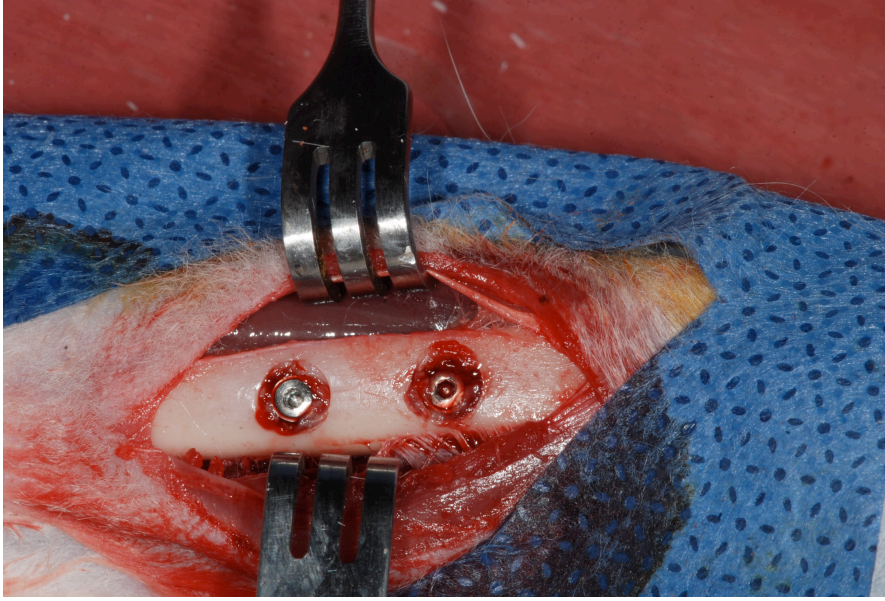


Şekil 3.19 Defektler oluşturulduktan sonra implant yuvaları cerrahi sahanın görüntüsü

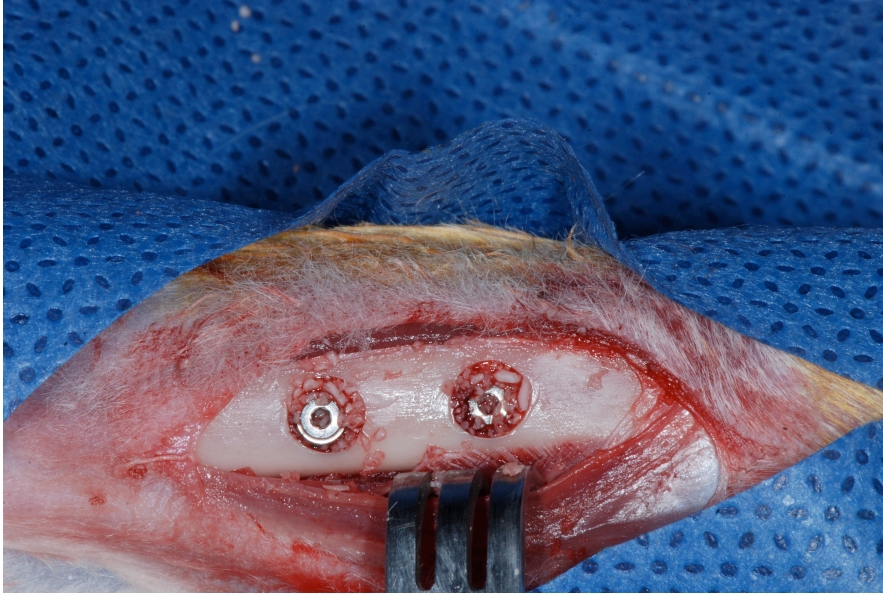
Yiv ve defekt açma işleminin ardından her bir tibiaya 2 adet olacak şekilde implantlar yerleştirildi (Şekil 3.20). İmplantlar sadece apeks bölgelerinden kemiğe tutturularak (mono kortikal) kemik seviyesinde yerleştirildi. Grup 1'deki peri-implant defektler boş bırakıldı. Grup 2'de defektler TZF ile dolduruldu (Şekil 3.21). Grup 3'de defektler ksenogreft ile dolduruldu (Şekil 3.22).



Şekil 3.20 Kemik seviyesinde yerleştirilmiş dental implantların (3,3 x 8 mm) görüntüsü

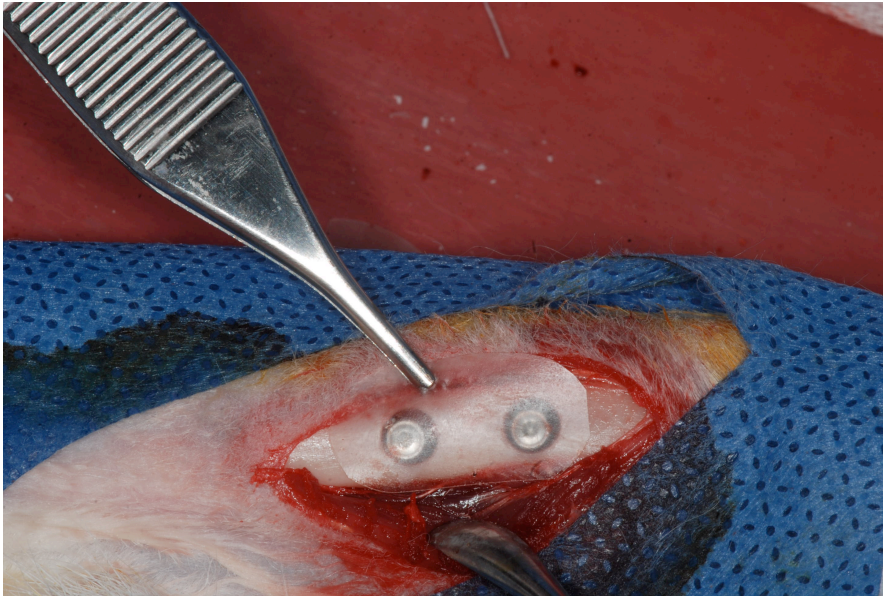


Şekil 3.21 Grup 2'deki peri-implant defektlerin TZF ile doldurulmuş görüntüsü

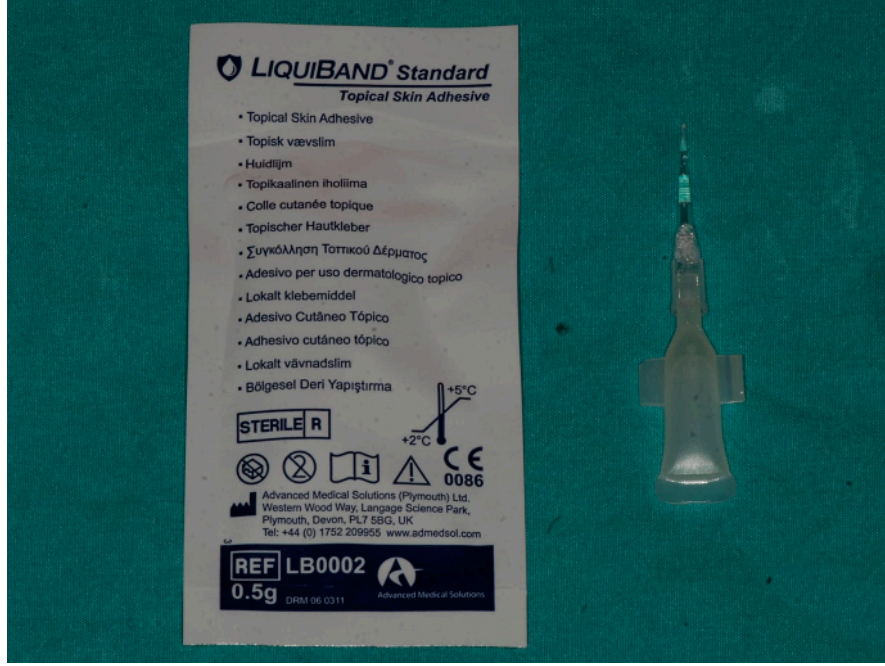


Şekil 3.22 Grup 3'deki peri-implant defektlerinin greft ile doldurulmuş görüntüsü

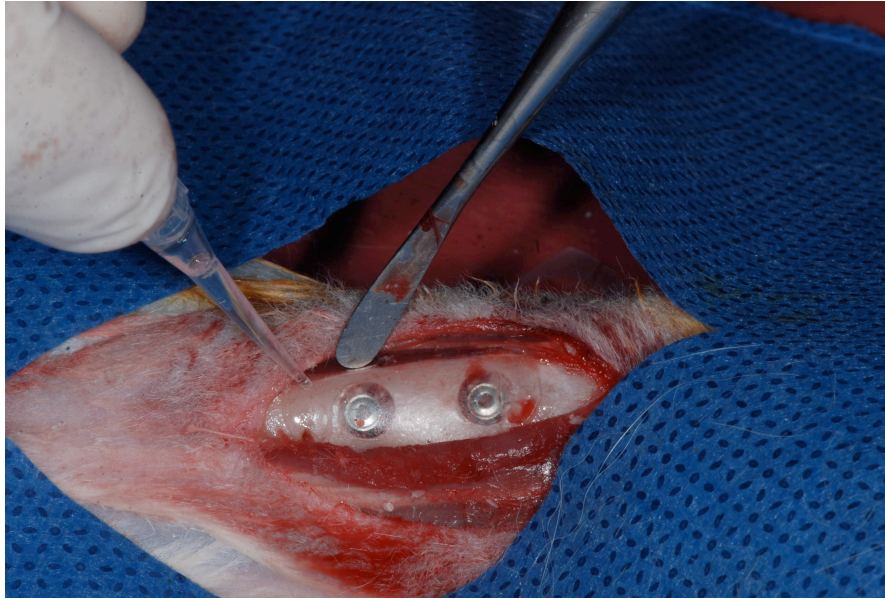
Kemik seviyesinde mono kortikal yerleştirilen implantların kapatma vidaları kapatıldı. Tüm gruplarda defektleri içine alacak şekilde 200µm kalınlığındaki poli(laktit asit)-poli(etilen glikol) (PLA: PEG) membran ile örtüldü (Şekil 3.23). Membranı sabitlemek ve sızdırmazlık sağlamak amacıyla etrafı kemiğe doku yapıştırıcısı n-butyl cyanoacrylate (LiquiBand[®], Advanced Medical Solutions, UK) kullanılarak yapıştırıldı (Şekil 3.24, 3.25).



Şekil 3.23 İmplantlar ve defektlerin üzerlerine rezorbe olabilen membran uygulaması

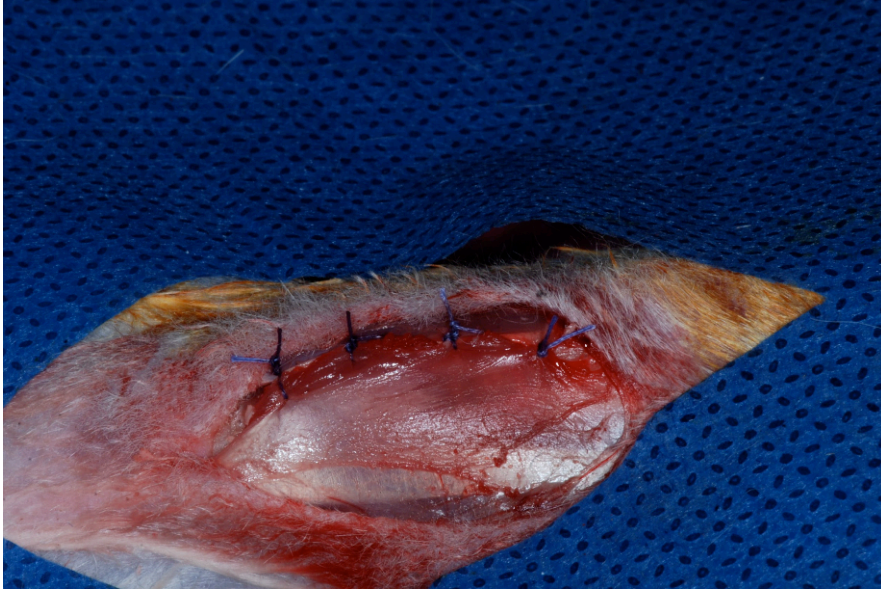


Şekil 3.24 Çalışmada kullanılan doku yapıştırıcısı

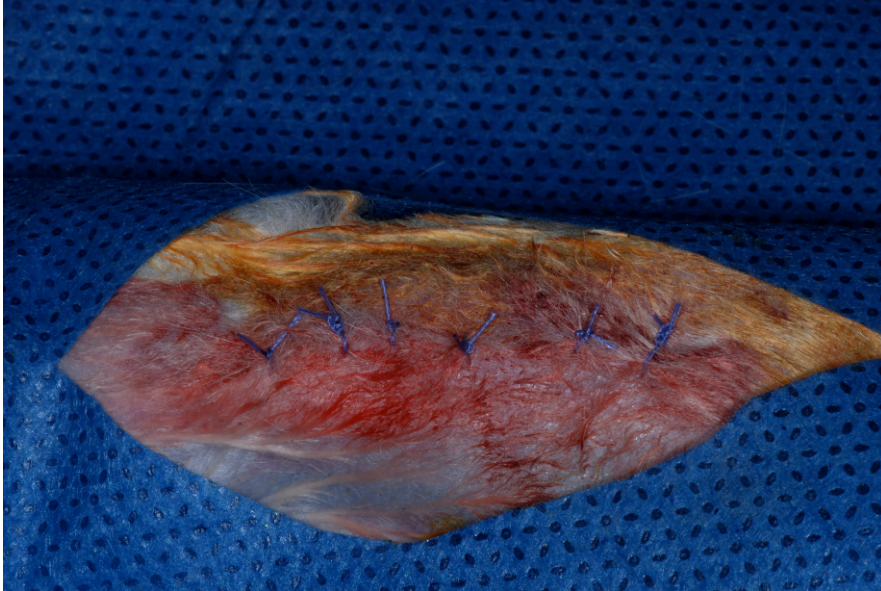


Şekil 3.25 PLA-PEG membranın doku yapıştırıcısı ile sabitlenmesi

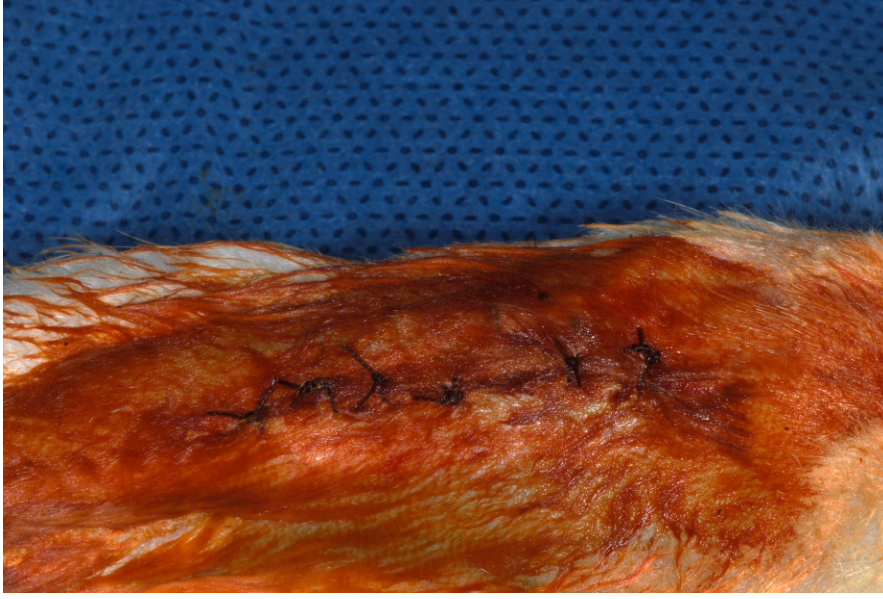
Sonrasında cilt altı dokular ve kas 4-0 rezorbe olabilen suture (Wego-PGLA[®], Foosin Medical, China) ile suture edildi (Şekil 3.26). Cilt kapaması yine 4-0 rezorbe olabilen suture ile primer olarak yapıldı (Şekil 3.27). Yara yerleri antiseptik solüsyon ile silindi (Şekil 3.28).



Şekil 3.26 Cilt altı dokuların primer kapatılmasından sonraki görüntüsü



Şekil 3.27 Cildin rezorbe olabilen suturla primer kapatılmasından sonraki görüntüsü



Şekil 3.28 Cerrahi alanın son hali

Deneysel çalışma tamamlandıktan sonra hayvanların yarısı 6. hafta sonunda diğer yarısı ise 12. hafta sonunda yüksek doz intramusküler Xylazine ve Ketamin HCl karışımı ile sakrifiye edildi.

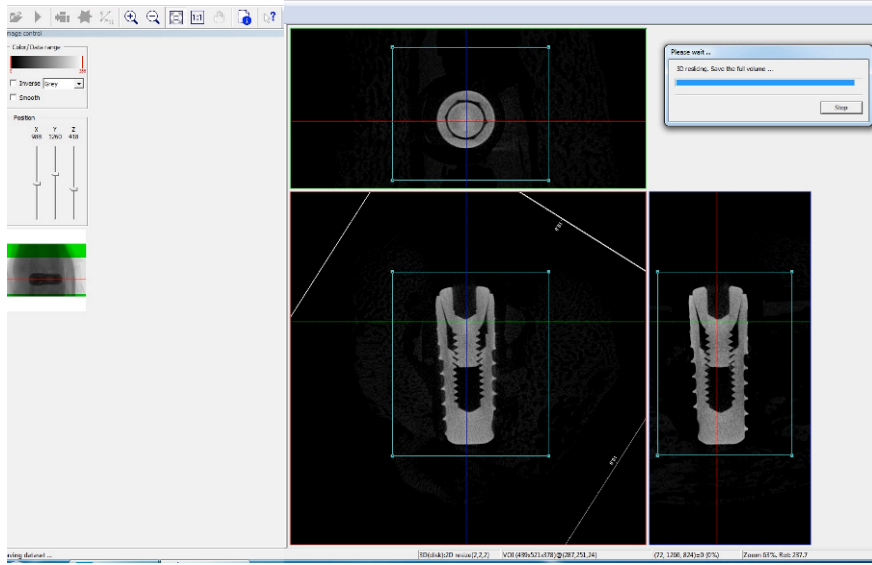
3.6. Radyolojik Değerlendirme

Hayvanlardan elde edilen numuneler her grup kendi içerisinde numaralandırılarak %10'luk formalin solüsyonuna konuldu. Daha sonra İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde bulunan Skyscan 1172 (Bruker-microCT, Kontich, Belgium) mikro bilgisayarlı tomografi (Mikro-BT) cihazı ile 70 kVp, 141 mA ve 10 μ m'lik piksel boyutları ayarlanarak her numune için birer saatlik sürede radyografik görüntüleri tarandı (Şekil 3.29).

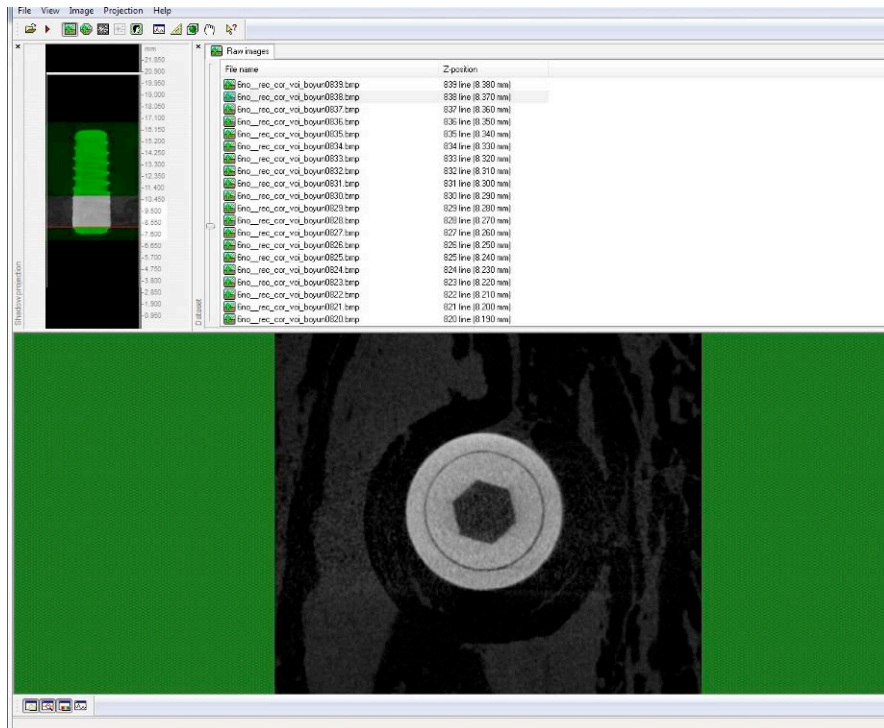


Şekil 3.29 Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT) cihazı.

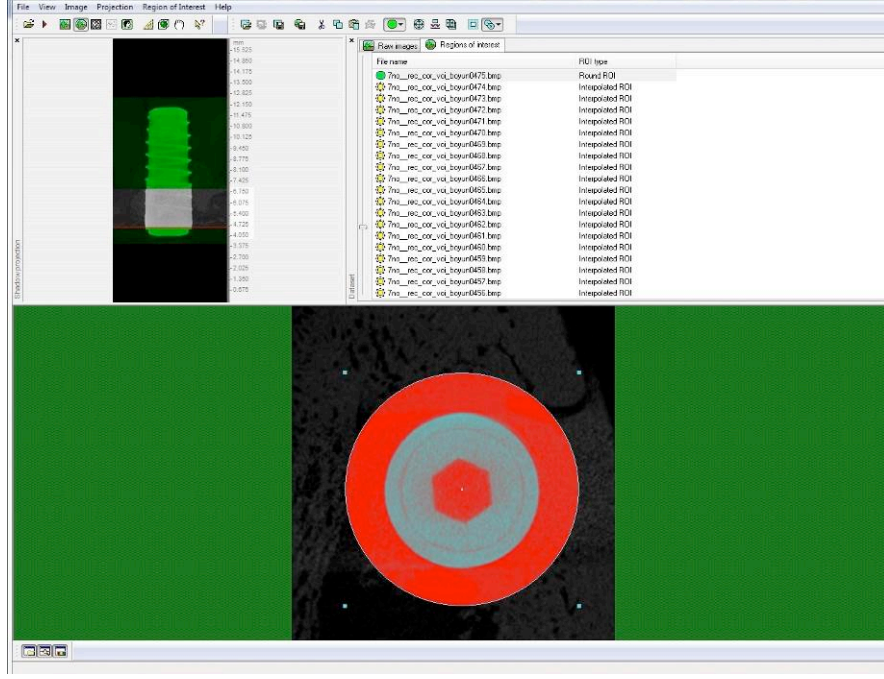
Mikro-BT ile taranan numunelerden elde edilen dataların görüntüye dönüştürülmesinde NRecon v.1.6.3 software (Bruker-microCT, Kontich, Belgium) programı kullanıldı. Hazırlanan ham görüntüler DataViewer v.2.1 (Extron Electronics, Netherlands) programı ile analize hazır hale getirildi (Şekil 3.30). Analiz için CTAn v.1.12 software (Bruker-microCT, Kontich, Belgium) programı kullanıldı (Şekil 3.31). Mikro-BT de incelenecek alanın (region of interest- ROI) çapı 5 mm olarak ayarlandı (Şekil 3.32). Toplam 800 kesitte taranan 8 mm'lik her bir implantın Mikro-BT'de inceleme alanı koronal $\frac{1}{3}$ bölümdeki 266 (800/3) kesitte incelendi. Tüm gruplarda 5 mm çapındaki 266 kesitte inceleme bölgesinde toplam hacim ve yeni oluşan kemik hacmi hesaplandı. Yeni oluşan kemik hacmi toplam hacim ile oranlanarak yeni oluşan kemik hacmi yüzde cinsinden hesaplandı.



Şekil 3.30 DataViewer programı ile görüntülerin hazırlanması.

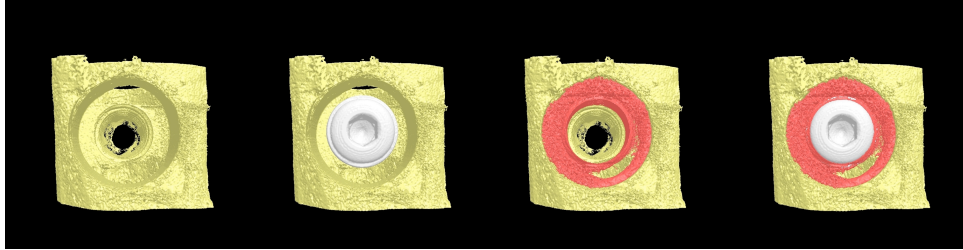


Şekil 3.31 CTAn programında verilerin analizinin hazırlanması

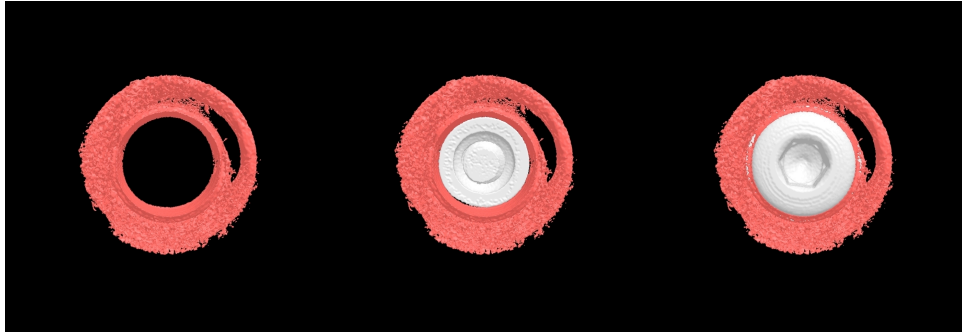


Şekil 3.32 CTAn programında 5 mm çapında ROI eklenmesi.

Üç boyutlu görüntüler CTVol v.2.2.1 software (Bruker-microCT, Kontich, Belgium) programında hazırlandı. Tibia (sarı), dental implant (gri), oluşturulan defekt ve yeni oluşan kemik (kırmızı) aynı görselde hazırlandı (Şekil 3.33, 3.34, 3.35, 3.36, 3.37).



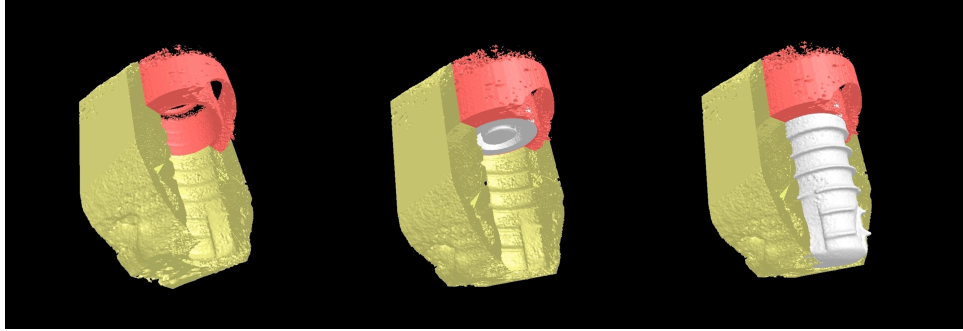
Şekil 3.33 Tibia, oluşturulan defekt, implant ve yeni oluşan kemiğin 3-D görüntüleri



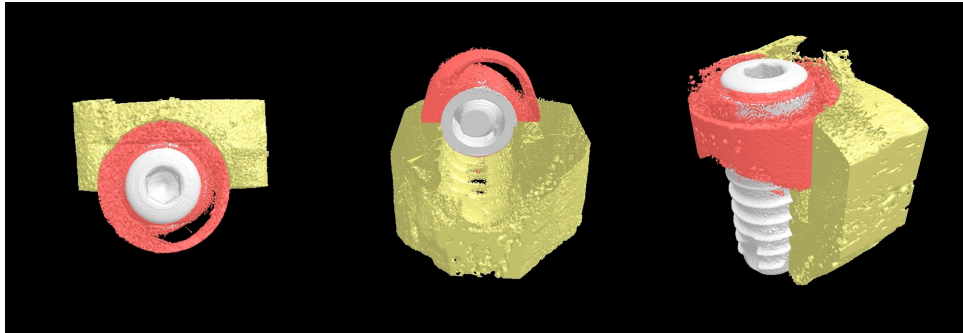
Şekil 3.34 Yeni oluşan kemiğin ve implantın 3-D transversal görüntüleri



Şekil 3.35 Yeni oluşan kemiğin ve implantın 3-D koronal görüntüleri



Şekil 3.36 Tibiannın, yeni oluşan kemiğin ve implantın 3-D koronal görüntüleri



Şekil 3.37 Tibiannın, yeni oluşan kemiğin ve implantın 3-D çeşitli açılardan görüntüleri

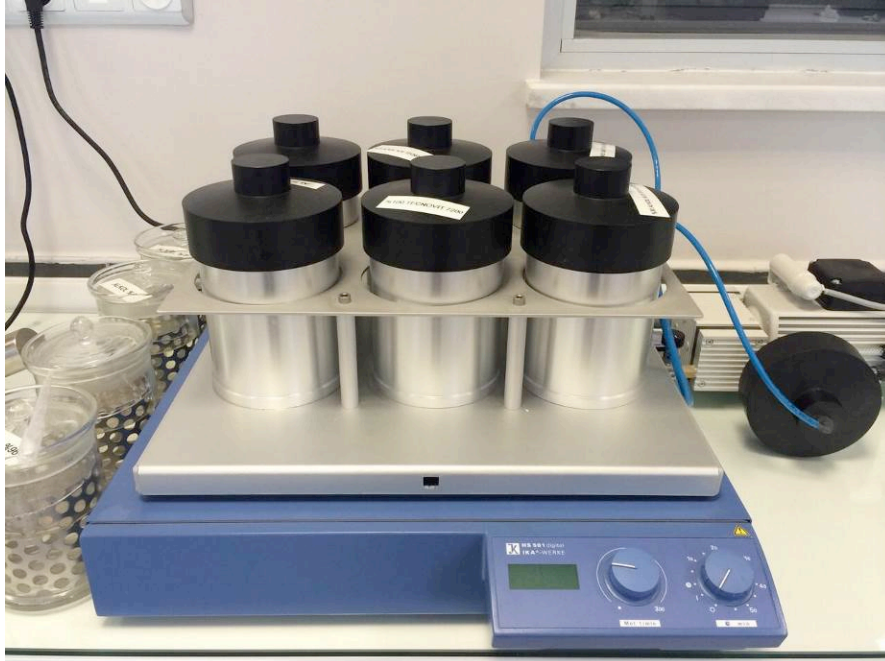
3.7. Histolojik Preparatların Hazırlanması

Hayvanlardan elde edilen numunelerden histolojik preparatlar hazırlanma işlemi Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.7.1 Sert Doku Kesme İşlemi

Numunelerden 2-3 mm kalınlığında kesitler alındı. Örnekler %60, %80, %96, %100, oranlarında etanol içeren alkol havuzlarında birer gün süreyle dehidrate edildi (Şekil 3.38). Dehidrate edilen örnekler sırasıyla, %30 metil metakrilat rezin (Tecnovit 7200 Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany) ve %70 alkol karışımında daha sonra %50

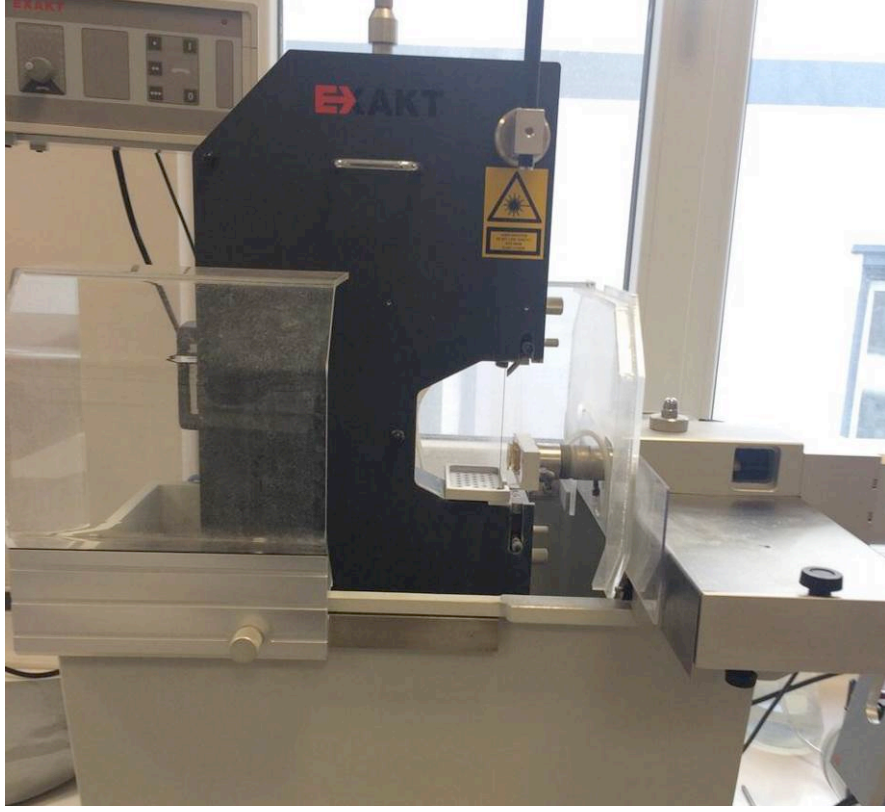
alkol- %50 Tecnovit 7200, %70 Tecnovit 7200- %30 alkol ve en sonunda da %100 lük Tecnovit 7200 içerisinde 24 saat vakum altında infiltre edildi.



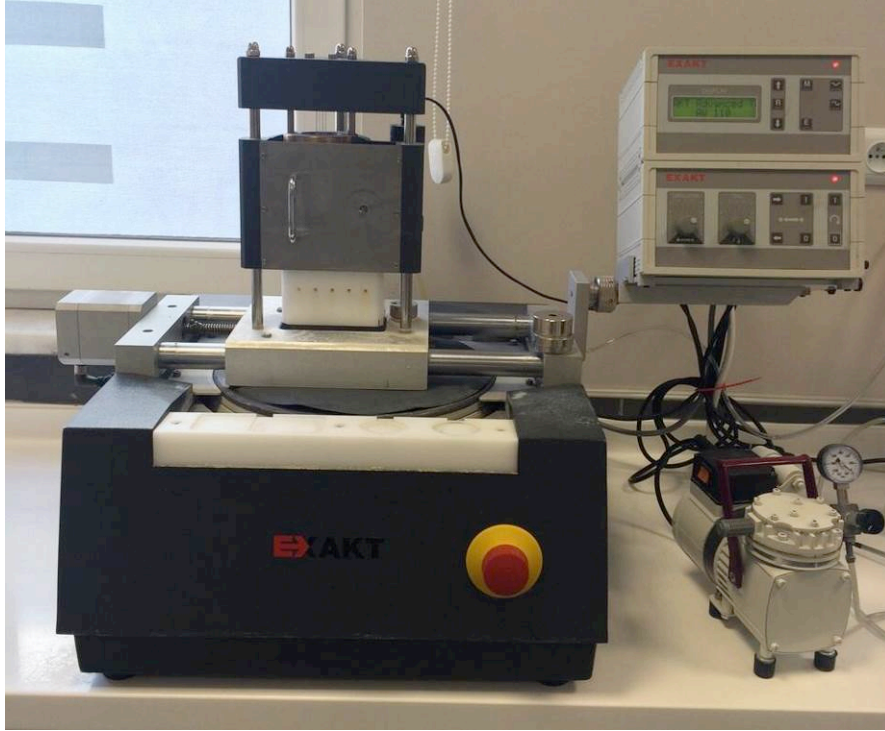
Şekil 3.38 Örneklerin dehidrate olmaları için bekletildikleri alkol banyoları

Daha sonra, örnekler metil metakrilat (Tecnovit 7200, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany) içeren plastik kalıplar içerisinde vakum altında hava kabarcığı kalmayacak şekilde gömüldü. Örnekleri içeren bu kutucuklar 40°C’de 16 saat süreyle (8 saat sarı ışık, 8 saat mavi ışık altında) polimerize edildi. Tamamen polimerize olan bloklar, ilk kesime hazırlamak ve paralel yüzey hazırlığını yapmak için şeffaf kutucuklardan çıkartıldı. Düz olan alt yüzey bir pleksiglas lam üzerine Technovit 7210 VLC (Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany) kullanılarak vakum altında yapıştırıldı.

Lam üzerine yapıştırılmış bu örneklerden hassas kesme cihazına bağlı elmas testere (Exakt 300 CL, Exakt Apparathau, Norderstad, Almanya) ile 300-350 µm kalınlığında kesitler elde edildi (Şekil 3.39). Bu kesitler, mikro aşındırma sistemine (Exakt 400 CS, Exakt Apparathau, Norderstad, Almanya) bağlı zımparalar ile 40 µm kalınlığına kadar inceltildi (Şekil 3.40). Toulidin mavisi ile boyandıktan sonra, metil metakrilat kullanılarak üzerleri lamel ile kapatıldı.



Şekil 3.39 Hassas sert doku kesme cihazı.



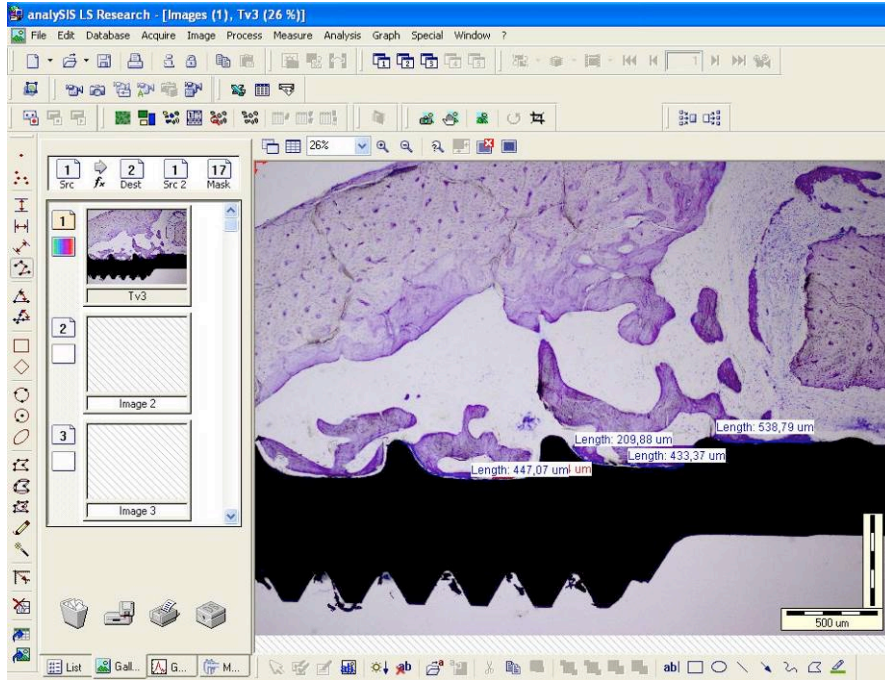
Şekil 3.40 Kesitleri final kalınlığına getirmek için kullanılan aşındırma cihazı.

3.8. Kesitlerin Histomorfometrik Değerlendirilmesi

Tüm kesitler bilgisayar destekli histomorfometrik değerlendirme yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Bu amaçla ışık mikroskopuna (Olympus® CX41, Tokyo, Japonya) bağlı dijital kamera (Olympus® DP 25, Tokyo, Japonya) kullanıldı. 4X büyütmede elde edilen dijital görüntüler üzerinde bilgisayar programı ile histomorfometrik analiz gerçekleştirildi (AnalySIS LS Research, Versiyon 5.0, Olympus Soft Imaging Solutions).

Tüm gruplarda, kemik-implant kontağı; implanta komşu kemik sınırları takip edilerek bilgisayar programındaki çoklu çizgisel işaretleme sekmesi kullanılarak mikrometre (µm) biriminde otomatik olarak hesaplandı. Osseointegrasyon gözlenen yeni kemik yüzdesi hesaplandı.

Tüm kesitler histomorfometrik değerlendirme için ışık mikroskopuna (Olympus® CX41, Tokyo, Japan) bağlı dijital kamera (Olympus® DP 25, Tokyo, Japan) yardımı ile fotoğrafları çekildi. Olympus AnalySIS LS Research (Olympus Imaging Corp., Tokyo, Japan) programı yardımı ile dijital görüntüleri alındı (Şekil 3.41).



Şekil 3.41 Peri-implant defektteki yeni oluşan kemiğin ve kemik implant kontağının ölçülmesi

3.9. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışmadaki nicel verilerin tanımlanmasında; Aritmetik Ortalama (Ort) \pm Standart Sapma (SS) ve Medyan olarak kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk's testi ile değerlendirildi ve parametrelerin normal dağılıma uygun olmadığı saptandı ($p < 0,05$). Parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Conover Testi (ikili karşılaştırma) kullanıldı. Parametrelerin zamana göre karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmanın cerrahi aşaması ve laboratuvar işlemleri sorunsuz bir şekilde tamamlandı. 3 aylık çalışma grubundaki 2 hayvanın tibiasında kırık meydana geldiğinden çalışma dışı bırakıldı. Denek sayısını tamamlamak amacıyla 2 adet hayvana yeniden cerrahi işlem yapıldı ve her grupta toplam 8 adet numune sayısına ulaşıldı. Postoperatif iyileşme dönemlerinde yara yerlerinde herhangi bir komplikasyon açılma veya enfeksiyon gözlenmedi. Hayvanların sakrifiye işlemleri sırasında 12 haftalık tüm gruplardaki PLA:PEG membranların tamamının rezorbe olduğu görüldü (Şekil 4.1). 6 haftalık gruplarda ise bazı numunelerdeki membranların az bir kısmının rezorbe olup incelendiği görüldü (Şekil 4.2).

Numunelerden yeterli sayıda ve doğru şekilde kesit alınabilmesi amacıyla implantların kapatma vidaları çıkartılması sırasında 12 haftalık grupların çoğunda kapama vidalarının üzeri kemikle kapandığı görüldü (Şekil 4.1). Tur motoru yardımıyla serum fizyolojik irrigasyon altında kemik kaldırma işlemleri gerçekleştirildi ve kapama vidaları sorunsuz bir şekilde çıkartıldı.



Şekil 4.1 12 haftalık gruptaki PLA:PEG membranın tamamen rezorbe olmuş görüntüsü



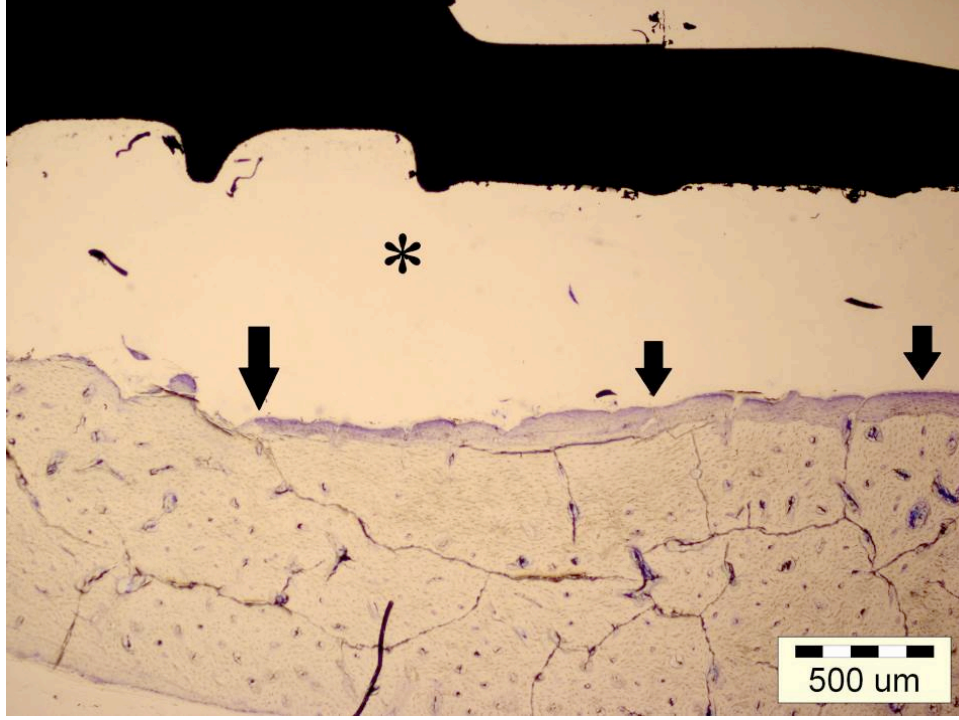
Şekil 4.2 6 haftalık grupta kısmen rezorbe olmamış PLA:PEG membranın görüntüsü

4.1. Histolojik Bulgular

4.1.1. 6. Haftaya Ait Histolojik Bulgular

6. Hafta Grup 1 (Kontrol grubu):

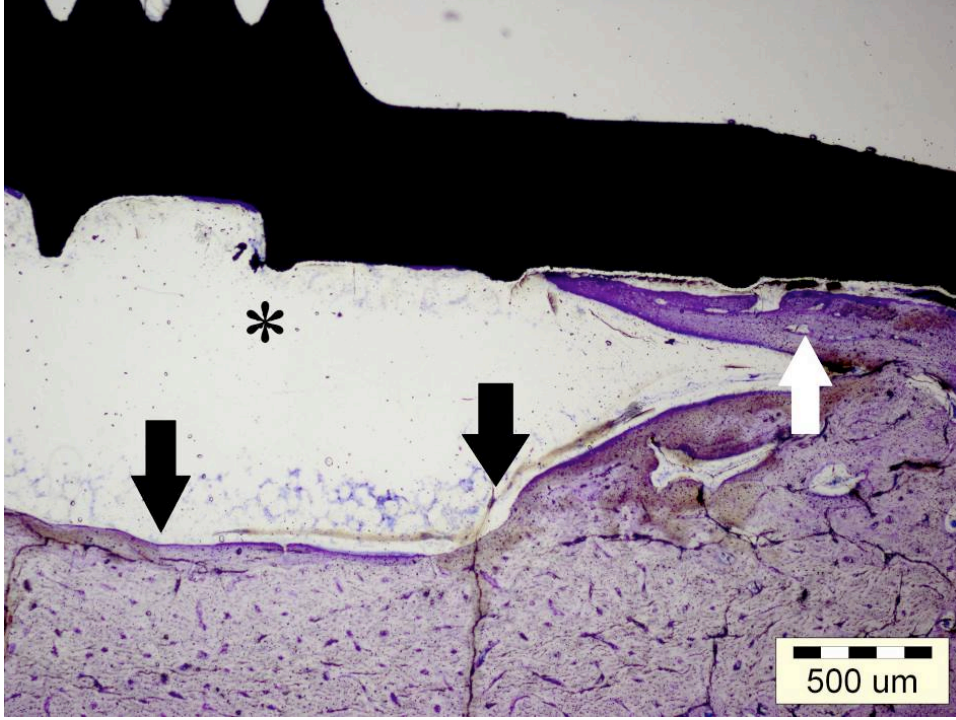
Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.3'te görülmektedir. İncelenen 6 ve 12 haftalık tüm kesitlerde en az implant-kemik osseointegrasyonu ve defektlerdeki yeni oluşan kemik miktarı bu grupta görüldü.



Şekil 4.3 6. hafta Grup 1'e ait preparatın histolojik görüntüsü (siyah ok cerrahi kemik sınırı, * boş cerrahi defekt alanı, Toludin mavisi, büyütme 4x)

6. Hafta Grup 2 (TZF uygulanan grup):

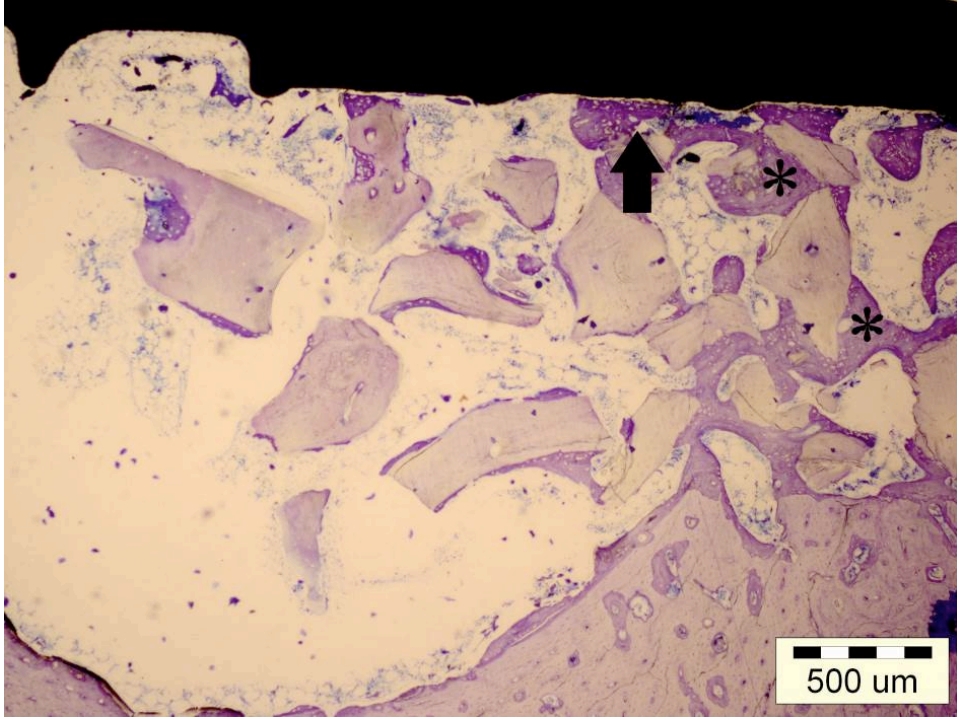
Bu gruba ait görüntü Şekil 4.4’de görülmektedir. Kesitlerde rejenerasyon aktivitesi yüksek olan yeni kemik alanları izlendi. Kontrol grubundan (Grup 1’den) daha iyi bir kemik oluşumu olmakla beraber, çoğu kesitte kemik defektinin dolmadığı görüldü.



Şekil 4.4 6. hafta Grup 2’ye ait preparatın histolojik görüntüsü (siyah ok cerrahi kemik sınırı; * boş cerrahi defekt alanı, beyaz ok rejenerasyon aktivitesinde olan yeni kemik alanı, Toludin mavisi, büyütme 4x)

6. Hafta Grup 3 (Greft uygulanan grup):

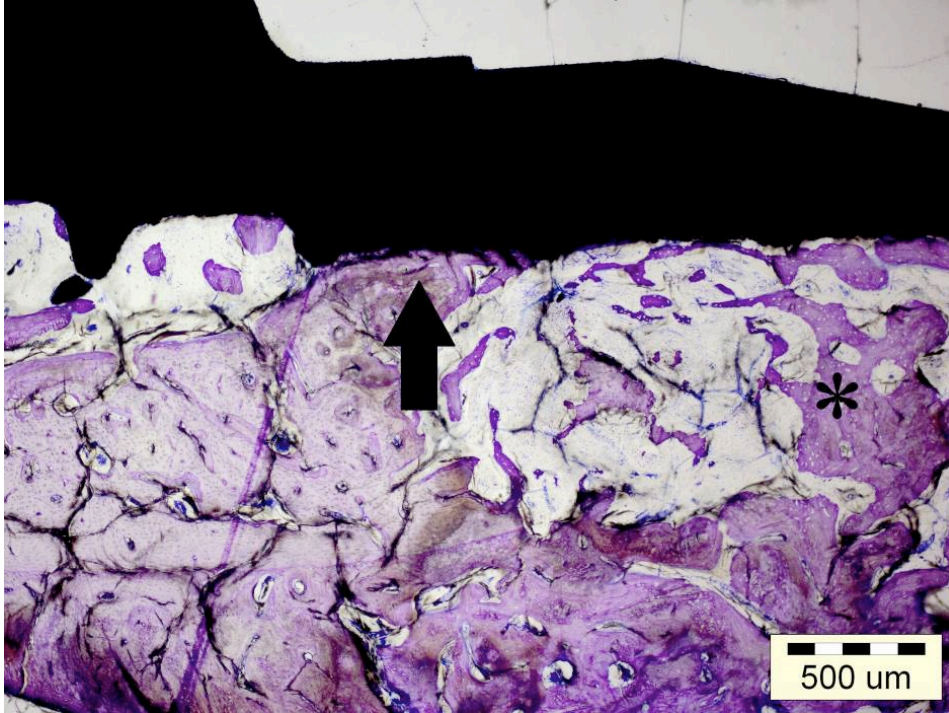
Bu gruba ait görüntü Şekil 4.5'te görülmektedir. İncelenen kesitlerde greft partikülleri çevresinde yeni kemik oluşum alanları toludin mavisi ile daha koyu boyanmış olarak izlendi. Peri-implant defektteki implant-kemik osseointegrasyonu 6 haftalık gruplar arasında en fazla bu grupta görüldü.



Şekil 4.5 6. hafta Grup 3 'e ait preparatın histolojik görüntüsü (siyah ok toludin mavisinin yoğun boyandığı osseointegrasyon alanı, * greft partikülleri çevresinde oluşan yeni kemik dokusu, Toludin mavisi, büyütme 4x)

6. Hafta Grup 4 (Alendronat uygulanan grup):

Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.6’da görülmektedir. Histolojik kesitlerde defekt alanını dolduran ve implant ile temasta olan yeni kemik rejenerasyonu alanları görüldü.

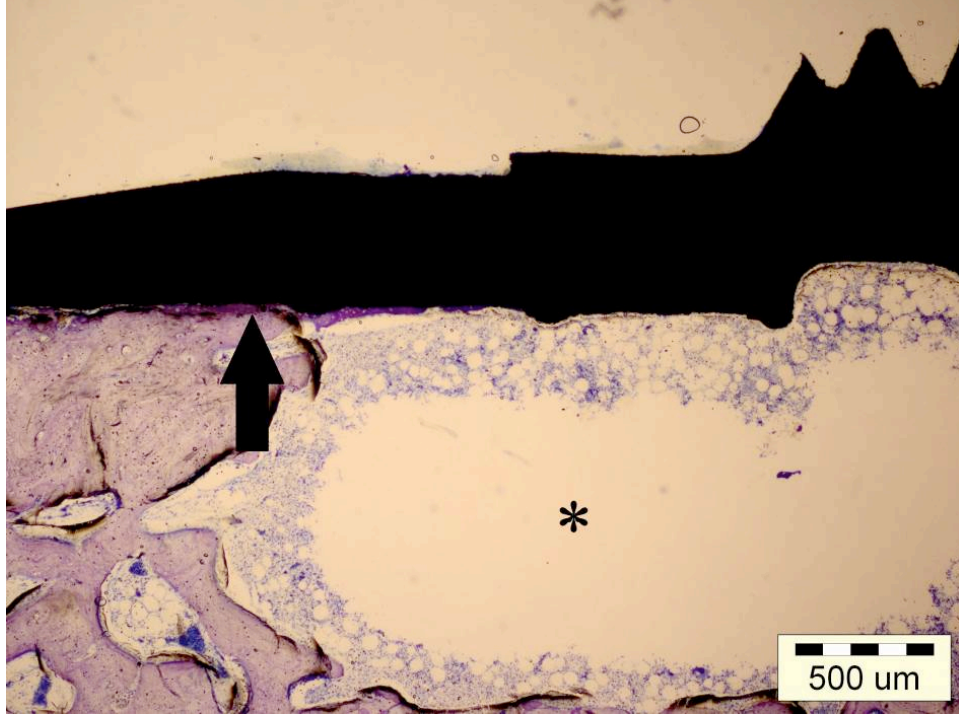


Şekil 4.6 6. hafta Grup 4’e ait preparatın histolojik görüntüsü (siyah ok osseointegrasyon alanı, * cerrahi defekti alanını dolduran yeni kemik dokusu, Toludin mavisi, büyüme 4x)

4.1.2. 12.Haftaya Ait Histolojik Bulgular

12. Hafta Grup 1 (Kontrol grubu):

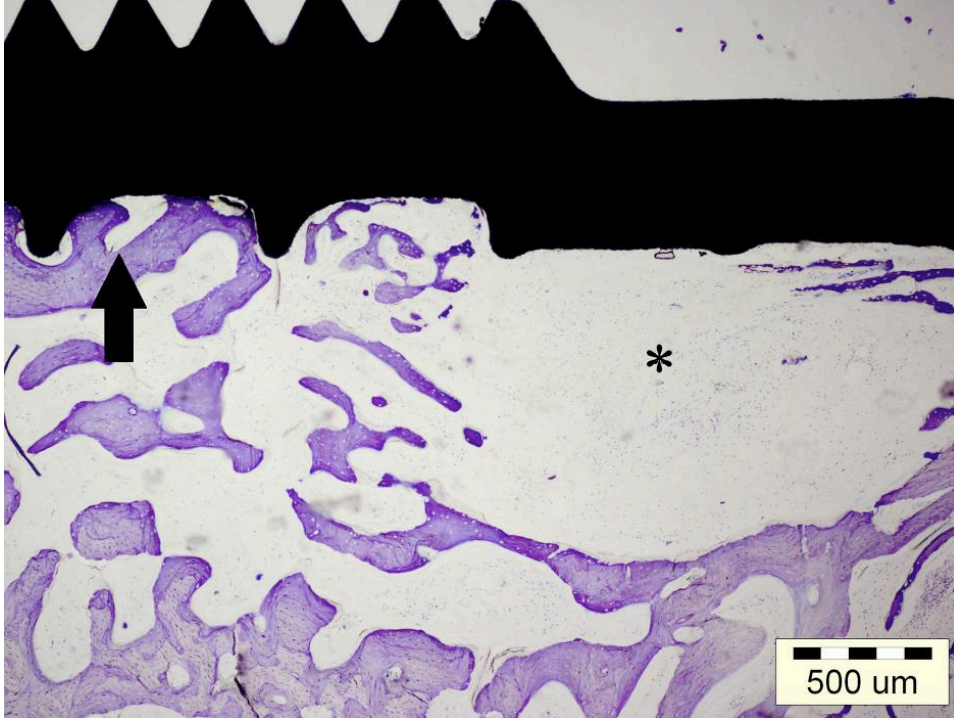
Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.7’de görülmektedir. İncelenen birçok kesitte implantların boyun kısmından osseointegrasyonun başladığı ancak defektin dolmadığı görüldü.



Şekil 4.7 12. hafta Grup 1’e ait preparatın histolojik görüntüsü (siyah ok implantın boyun kısmında osseointegrasyon gerçekleşen alan, * boş cerrahi defekt alanı, Toludin mavisi, büyütme 4x)

12. Hafta Grup 2 (TZF uygulanan grup):

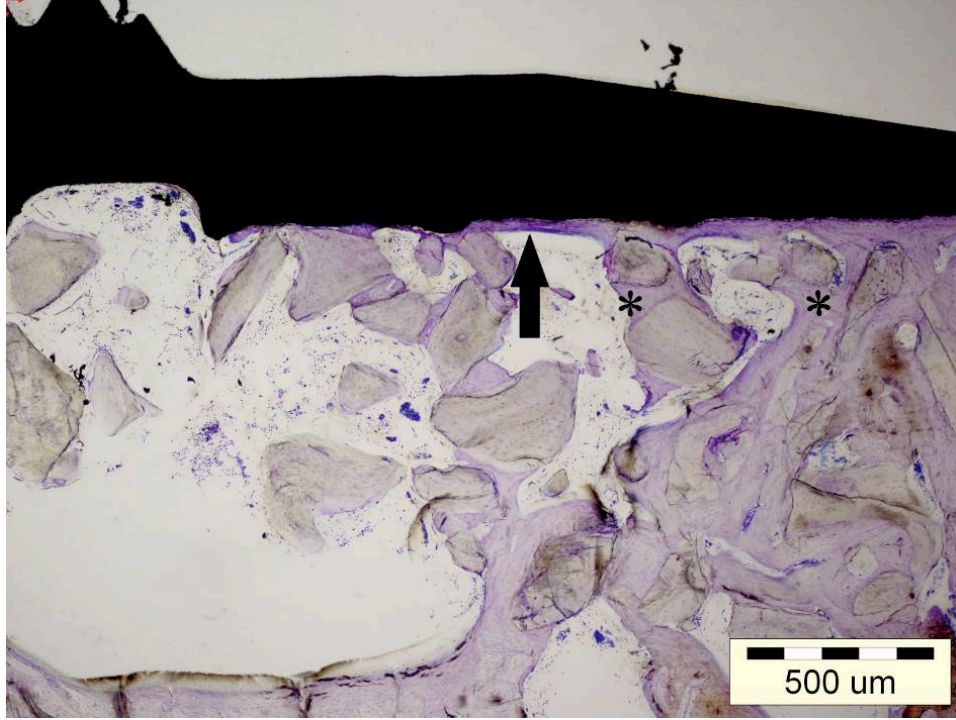
Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.8’de görülmektedir. İncelenen kesitlerde kontrol grubundan daha iyi bir kemik dolumu olmakla beraber, çoğu kesitte kemik defektinin dolmadığı görüldü.



Şekil 4.8 12. hafta Grup 2’ye ait preparatın histolojik görüntüsü (siyah ok implant osseointegrasyon alanı * implant boynunda boş cerrahi defekt alanı, Toludin mavisi, büyütme 4x)

12. Hafta Grup 3 (Greft uygulanan grup):

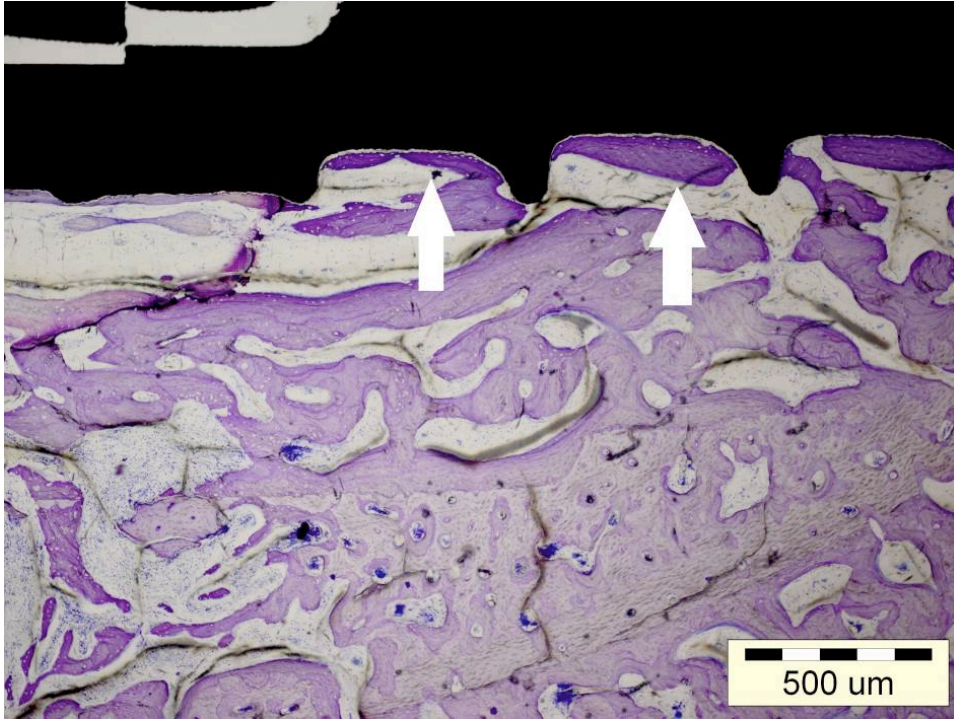
Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.9’da görülmektedir. İncelenen kesitlerde greft partikülleri çevresinde kemik maturasyonu çok yüksek olarak gözlemlendi.



Şekil 4.9 12. hafta Grup 3’e ait preparatın histolojik görüntüsü (siyah ok toludin mavisinin yoğun boyandığı osseointegrasyon alanı, * greft partikülleri çevresinde oluşan yeni kemik dokusu, Toludin mavisini, büyütme 4x)

12. Hafta Grup 4 (Alendronat uygulanan grup):

Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.10'da görülmektedir. İncelenen kesitlerinde defekt bölgesinin 6. ve 12. haftalarda incelenen tüm gruplardan daha fazla yeni oluşan kemik ile dolduğu, implant-kemik kontaklarının en yüksek düzeyde olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.10 12. hafta Grup 4'e ait preparatın histolojik görüntüsü (beyaz oklar rejenerasyonun yüksek olduğu osseointegrasyon alanı, Toluidin mavisi, büyütme 4x)

4.2. Histomorfometrik Bulgular

Yeni oluşan kemik alanının toplam alana oranlanmasıyla elde edilen yeni oluşan kemik alanlarının yüzdeleri Tablo 1 ve Şekil 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 1: Grupların histomorfometrik değerlendirilme sonuçları

	Histomorfometri		² p
	6. Hafta	12. Hafta	
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
Grup 1	13,18±8,32 (10,23)	18,73±13,43 (14,56)	0,345
Grup 2	16,24±12,23 (13,54)	24,2±19,98 (16,41)	0,529
Grup 3	30,24±8,24 (33,19)	31,99±8,42 (34,07)	0,600
Grup 4	27,34±11,5 (24)	50,49±10,26 (50,34)	0,005**
¹ p	0,009**	0,003**	

¹ Kruskal Wallis Testi

² Mann Whitney U Test

** p<0,01

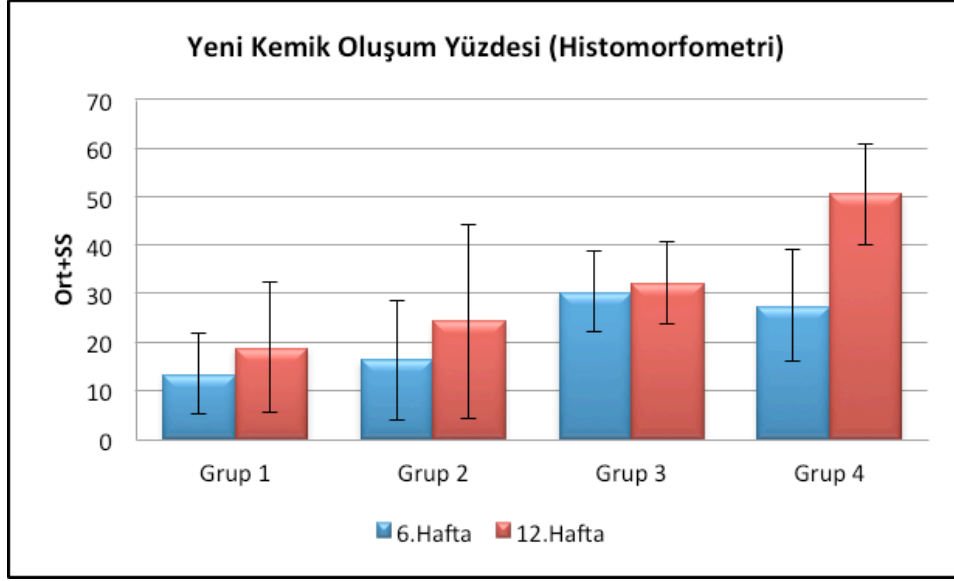
Ort=Ortalama, SS=Standart Sapma

Tablo 2: Grupların post hoc histomorfometri sonuçlarının değerlendirilmesi

	Histomorfometri	
	6. Hafta	12. Hafta
	p	p
1-2	0,600	0,916
1-3	0,005**	0,036*
1-4	0,021*	0,002**
2-3	0,027*	0,208
2-4	0,059	0,021*
3-4	0,401	0,005**

Conover Testi * p<0,05

** p<0,01



Şekil 4.11 Histomorfometrik inceleme sonuçlarına göre yeni oluşan kemik alanlarının yüzde cinsinden dağılımları (%)

Grupların 6. haftadaki histomorfometri sonuçlarına göre yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,01$) (Tablo 1). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan Conover Testi (ikili karşılaştırma) sonucunda; Grup 3'ün 6. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdesi, sırasıyla Grup 1 ($p = 0,005$) ve Grup 2'den ($p = 0,027$) anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla; $p < 0,01$, $p < 0,05$). Grup 4'ün 6. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdesi, Grup 1'den ($p = 0,021$) anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p < 0,05$). Diğer grupların 6. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$) (Tablo 2).

Grupların 12. haftadaki histomorfometri sonuçlarına göre yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,01$) (Tablo 1). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan Conover Testi (ikili karşılaştırma) sonucunda; Grup 4'ün 12. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdesi, sırasıyla Grup 1 ($p = 0,002$), Grup 2 ($p = 0,021$) ve Grup 3'den ($p = 0,005$) anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla; $p < 0,01$, $p < 0,05$, $p < 0,01$). Grup 3'ün 12. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdesi, Grup 1'den anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p < 0,05$). Diğer grupların 12. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$) (Tablo 2).

Grup 1'de; 6 haftalık ve 12 haftalık histomorfometri sonuçlarından elde edilen yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$).

Grup 2’de; 6 haftalık ve 12 haftalık histomorfometri sonuçlarından elde edilen yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Grup 3’de; 6 haftalık ve 12 haftalık histomorfometri sonuçlarından elde edilen yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Grup 4’de; 12 haftalık histomorfometri sonuçlarından elde edilen yeni kemik oluşum yüzdesi, 6 haftalık histomorfometri sonucundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,01$).

4.3. Radyolojik Bulgular

Yeni oluşan kemik hacimlerinin yüzdeleri Tablo 3 ve Şekil 4.12’de gösterilmiştir. Gruplara ait Mikro-BT görüntüleri Şekil 4.13’de gösterilmiştir.

Tablo 3: Mikro-BT analizinde hesaplanan yeni kemik hacminin yüzdesi

	Mikro-BT (%)		p ²
	6. hafta	12. hafta	
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
Grup 1	16,39±4,93 (17,24)	20,23±3,8 (20,14)	0,115
Grup 2	17,06±8,67 (17,44)	20,45±10,77 (16,93)	0,753
Grup 3	28,49±5,33 (29)	28,36±5,8 (28,75)	1,000
Grup 4	33,97±7,41 (33,36)	53,9±10,66 (59,01)	0,005**
p¹	0,001**	0,001**	

¹ Kruskal Wallis Testi

² Mann Whitney U Test

** $p<0,01$

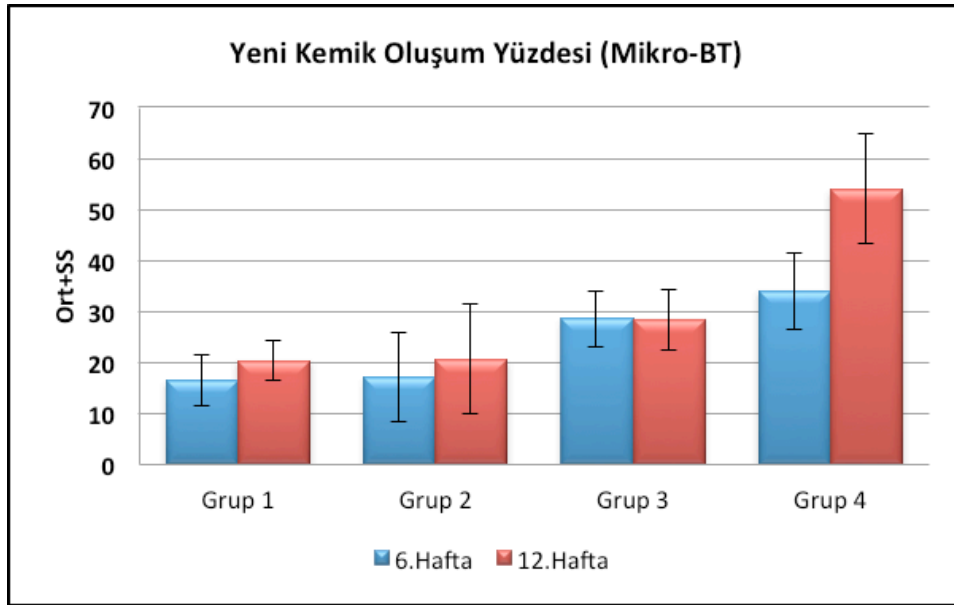
Ort= Ortalama, SS=Standart Sapma

Tablo 4: Grupların post hoc Mikro-BT sonuçlarının değerlendirilmesi

	Mikro-BT	
	6. hafta	12. hafta
	p	p
1-2	0,916	0,529
1-3	0,003**	0,009**
1-4	0,001**	0,001**
2-3	0,021*	0,093
2-4	0,005**	0,001**
3-4	0,115	0,002**

Connover Testi * $p < 0,05$

** $p < 0,01$



Şekil 4.12 Mikro-BT inceleme sonuçlarına göre yeni oluşan kemik alanlarının yüzde cinsinden dağılımları (%)

Grupların 6. haftadaki Mikro-BT sonuçlarına göre yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p=0.001$; $p<0,01$) (Tablo 3). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan Connover Testi (ikili karşılaştırma) sonucunda; Grup 4'ün 6. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdesi, Grup 1 ($p=0,001$) ve Grup 2'den ($p=0,005$) anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0,01$).

Grup 3'ün 6. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdesi, Grup 1'den ($p=0,003$) ve Grup 2'den ($p=0,021$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0,01$; $p<0,05$). Diğer grupların 6. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4).

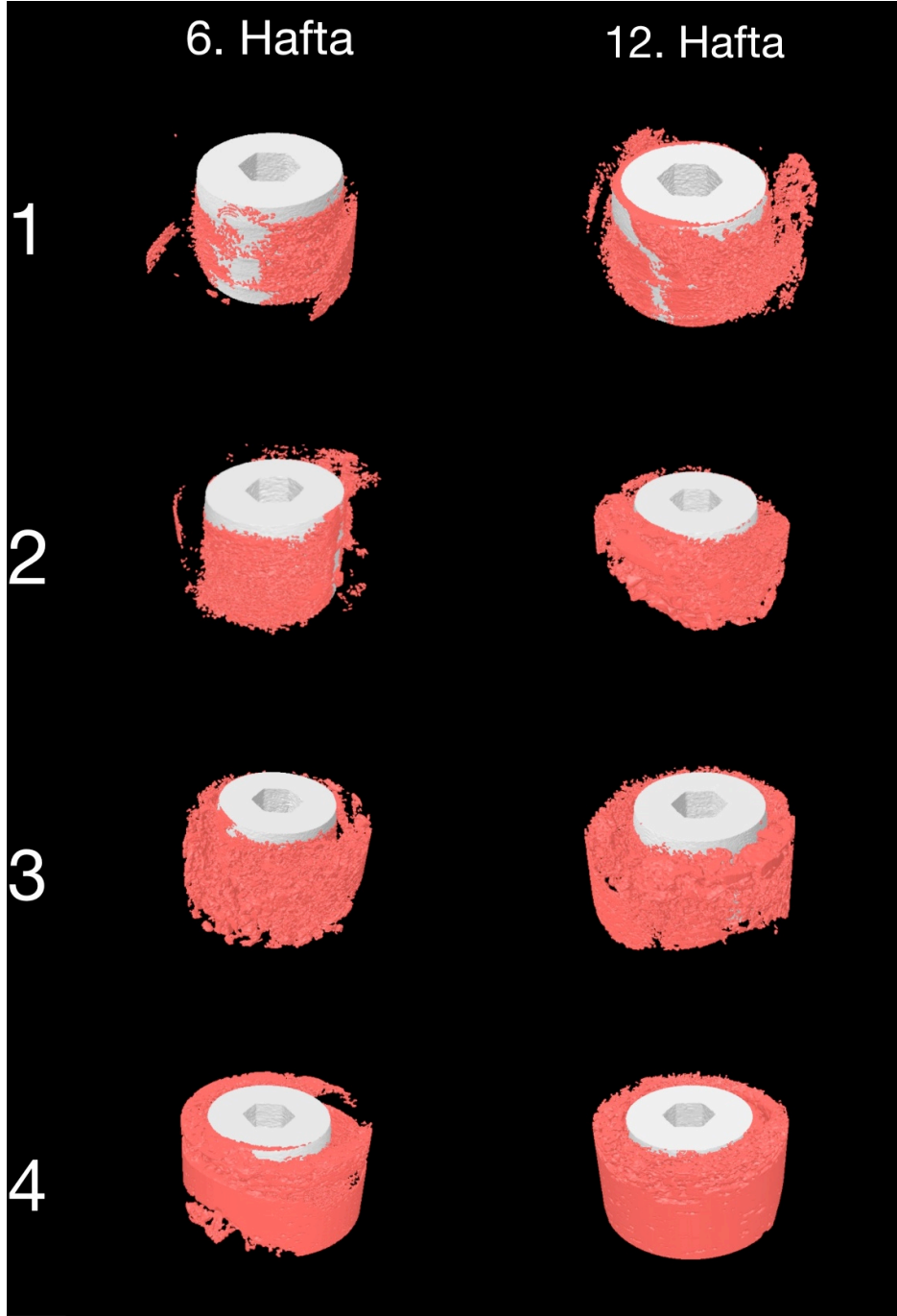
Grupların 12. haftadaki Mikro-BT sonuçlarına göre yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p=0,001$; $p<0,01$) (Tablo 3). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan Mann Whitney U Test sonucunda; Grup 4'ün 12. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdesi, Grup 1 ($p=0,001$), Grup 2 ($p=0,001$) ve Grup 3'den ($p=0,002$) anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0,01$). Grup 3'ün 12. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdesi, Grup 1'den ($p=0,009$) anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0,01$). Diğer grupların 12. haftadaki yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4).

Grup 1'de; 6. ve 12. haftadaki Mikro-BT sonuçlarından elde edilen yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Grup 2'de; 6. ve 12. haftadaki Mikro-BT sonuçlarından elde edilen yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Grup 3'de; 6. ve 12. haftadaki Mikro-BT sonuçlarından elde edilen yeni kemik oluşum yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Grup 4'de; 12. haftadaki Mikro-BT sonuçlarından elde edilen yeni kemik oluşum yüzdesi, 6. haftadaki Mikro-BT sonucundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,01$).



Şekil 4.13 Gruplara ait Mikro-BT görüntüsü.

5. TARTIŞMA

Oral ve maksillofasiyal cerrahi pratiğinde bazı vakalarda çeşitli tipteki kemik greftleri, bunların kombinasyonları, bariyer membranlar gibi biyomateryaller sıklıkla kullanılmaktadır. Bu vakalar;

- Tümör ve kist operasyonları sonrasında,
- İleri derecede rezorbsiyon gösteren dişsiz alveoler kretlerin varlığında,
- Posterior maksillada açık yada kapalı teknikle sinüs yükseltme operasyonlarında,
- Dental implant uygulamaları sırasında implant çevresinde defekt bulunduğu durumlardır (170-174).

Fizyolojik yara iyileşmesi mekanizmasıyla kapanması mümkün olmayan defektlerin rekonstrüksiyonunda genellikle ilk seçenek, altın standart olarak kabul edilen otojen kemik transplantasyonudur (175-177). Otojen kemik transplantasyonu ile; osteojenik kemik ve kemik iliği hücreleri, osteokondüktif kollajen ve mineral matriksi ve matriks proteinleri nakledilir (178).

Burwell 1960'lı yıllarda yaptığı çalışmalarda, otogreft uygulaması sonrası gelişen yeni kemik dokusunda primitif osteojenik hücrelerin nakil sonrası hayatta kalarak ileri dönemde osteoblastlara dönüştüğünü göstermiştir (179).

Ameliyat süresinin uzaması, istenilen biçim ve boyutlarda hazırlanabilme güçlüğü ve alıcı sahada skar kalması; hastalar ve klinisyenler açısından otojen kemik grefti kullanımının olumsuz yönleridir (180). Bu dezavantajı nedeniyle kemiğin rejeneratif tedavisinde otojen greftlerin yerine allogreftler, ksenogreftler, alloplastik materyaller, rejeneratif bariyer membranlar, kemik yapımını stimule edici bazı materyaller önem kazanmıştır (181).

Ksenogreftler oral cerrahide yaygın olarak kullanılmakta olup diğer kemik greftlerine iyi bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadırlar.

Ksenogreftlerle yapılan çok sayıda klinik ve deneysel çalışmada başarılı sonuçlar rapor edilmiştir. Kemik rejenerasyonunda osteokondüktif özellikleri birçok çalışmada gösterilmiştir (170-184).

Osteokondüktif etki gösteren bu greftler yapısal olarak sahip oldukları yüksek dayanıklılık nedeniyle özellikle dental implant operasyonlarında sık tercih edilmektedirler (185). Literatüre baktığımızda ksenogreftler ile ilgili olarak yapılmış birçok insan ve hayvan çalışması karşımıza çıkmaktadır (186-190). Sığır kaynaklı

ksenogreftler insan kemiğine morfolojik olarak benzediğinden tercih edilmektedirler. Ksenogreftler içinde sığır kaynaklı olan Bio-Oss® oral cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır (191-193). Yapılan hayvan çalışmalarında da deproteinize sığır kemik greftlerinin başarısı gösterilmiştir (194, 195). Çalışmamızda da tüm dünyada kabul gören ve başarılı bir ksenojen greft kabul edilen Bio-Oss® greft kullanıldı. 6 ve 12 haftalık iyileşme dönemlerinde birbirine yakın yeni kemik oluşum yüzdeleri bulundu (sırasıyla; %30,24-%31,99). İncelenen histolojik kesitlerde greft partikülleri çevresinde yoğun kemik maturasyonu gözlemlendi.

Kemik dokusunun histolojik, histomorfometrik ve biyomekanik açıdan incelenmesi amacıyla yapılan bütün çalışmalarda deney hayvanlarından yararlanılmaktadır (196).

Dental implant ve kemik araştırmalarında çeşitli hayvan modelleri kullanılmıştır. Pearce ve ark. (197) yaptığı bir literatür taramasında, dental implantlarla ilgili deneysel çalışmalarda kullanılan hayvan modellerinin koyun, keçi, köpek, domuz, ve tavşanlar olduğunu bildirmişlerdir. Yine bu literatür taramasında ratların tıbbi araştırmalarda en sık kullanılan türlerinden biri olmasına rağmen, kemik boyutlarının sebebiyle, aynı anda birden fazla implant yapılması ve test edilmesinin mümkün olmadığını belirtmiştir. Bu hayvan türlerinden tavşanın üretimi ve bakımı diğer türlere göre daha kolay olup ayrıca daha düşük maliyetlidir. Çalışma kolaylığı ve büyüklüğünün uygun olması nedeniyle de dental implant ve kemik çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Ayrıca standart bir dental implantın kullanılacağı bir çalışma modelinde tavşan biyolojik sınıflandırmada en alt basamakta yer almaktadır.

Yine tıbbi araştırmalarda yaygın olarak kullanılan bir diğer hayvan olan köpek ise tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de etik sorunlar nedeniyle son zamanlarda kullanım kısıtlılığı getirilmiştir. Ayrıca üretiminin zor ve bakım maliyetinin yüksek olması bir diğer dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır.

Tavşan, tıbbi araştırmalar için en yaygın olarak kullanılan hayvanlardan biridir ve kas-iskelet sistemi araştırmalarının yaklaşık %35 sıklıkla kullanılmaktadır (198).

Tavşanlar birden fazla implant değerlendirmesinde boyut kısıtlılığı sebebiyle dezavantajlı durumdadır. Medikal cihazların biyolojik değerlendirilmesi için uluslararası standartta tavşan başına maksimum 6 implant (3 test ve 3 kontrol implant) önerilmiştir (199). Bizim çalışmamızda da her bir hayvana 4 adet implant uygulanmıştır.

Yeni kemik oluşumu incelenecek hayvan modellerinde deney hayvanının yaşı önem arz etmektedir. Yeni Zelanda tavşanları 6 hafta gibi kısa bir sürede seksüel olgunluğa erişirler. Sonrasında kısa bir zaman içerisinde iskeletsel gelişimini tamamlar. Genç hayvanlarda kemik oluşum hızı erişkinlere göre daha hızlıdır (200). Bu bilgiler göz önüne alınarak çalışmamızda ortalama yaşları 7 ay olan 16 adet erkek beyaz Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır.

Bu çalışmada hayvan modelinin seçimi de şu temel hususlar dikkate alınarak yapılmıştır;

- Yeterli sayıda ve deney koşullarına uygun nitelikte denek elde edilebilmesi,
- Çalışılacak bölgede hayvanların yaşamsal önem taşıyan yapılarının bulunmaması,
- Cerrahi yöntem açısından kolay ulaşılabilmesi ve hayvana olabildiğince az travma verilerek yöntemin uygulanması.

Çalışmamızda implant iyileşme süresinin belirlenmesinde literatürde geçmişte yapılmış benzer çalışmalar dikkate alınmıştır. Literatürde dental implantolojide bifosfonatın etkisinin araştırılması üzerine yapılan tavşan modeli çalışma sayısı kısıtlı olmakla birlikte genel olarak osseoentegrasyon süresi olarak beklenen sürelerin 6-12 hafta arasında değiştiği görüldü (201-204).

Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda tavşan tibiasındaki implant çevresindeki defektlerde yeni kemik oluşumunun etkisinin görülebilmesi için 6 ve 12 haftalık sürelerin yeterli olabileceği düşünüldü.

Dental implantlar ile ilgili yapılan çalışmalarda; çıkarma tork testi, histomorfometri, immünohistokimya ve Mikro-BT gibi değerlendirme metodları kullanılmaktadır. Çıkarma tork testi uygulanan implantlarda implant çevresindeki dokulardaki kemik iyileşmesi incelenemeyeceğinden, çalışmamızda bu yöntem tercih edilmemiştir. Histomorfometrik analiz, kemik hücreleri ve aktivitelerini in situ olarak değerlendirebilen tek metod olduğundan, kemik değerlendirilmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir (205). Kemik metabolizmasını değerlendirmede diğer hiçbir metot histomorfometri kadar etkili değildir (206). Yaptığımız çalışmada yeni kemik oluşumunu ve implant çevresindeki bölgede iyileşme sırasında görülen hücreleri incelemek ve kemik implant temasını ölçmek için histolojik ve histomorfometrik değerlendirme metodları uygun görüldü.

Kemik defektlerinin iyileştirilmesi üzerine yapılan deneysel çalışmalarda kemik kalitesi, miktarı ve dayanıklılığının ölçülmesi, önemli bir konudur. Elde edilen

sonuçların analizinde klasik radyografi teknikleri iki boyutlu olarak defekt alanını görmemizi sağlayarak boşluğun kapanması ile ilgili bilgi edinmemize yardımcı olurlar. Radyografik alanındaki gelişmelerle beraber, mikro-BT (micro-CT, “microcomputed tomography”) uygulamaları numunenin üç boyutlu görüntüsü üzerinde çalışma imkanı sunmaktadır (207). Mikro-BT ilk olarak Feldkamp ve ark. (208) tarafından 1989’da tanıtılmıştır. O tarihten beri kullanımı giderek yaygınlaşmıştır. Mikro-BT trabeküler kemiğin üç boyutlu yapısını değerlendirmede altın standart olarak kabul edilmektedir (209). Yüksek çözünürlüklü görüntülerin yanı sıra diş, kemik ve implantın hem nitel hem de nicel analizi yapılabilmektedir (210).

Deneysel bir çalışmada uygulanacak metodun değerlendirilmesi için deney grubuyla beraber kontrol grubunu da ihtiyaç vardır.

Yine yapılan deneysel çalışmalarda, implant çevresindeki defektlerin boş bırakılan kontrol gruplarında çoğunlukla defekt kenarlarında hafifçe olmak üzere %5 ile %15 arasında kemikleşme gösterdiği ve daha çok fibröz bağ dokusu ile dolduğu bildirilmiştir (211-213). Çalışmamızdaki 6 haftalık kontrol grubunun sonucu %13,18 olarak bulundu ve bu bilgiler ile paralellik gösterdiği anlaşıldı.

Günümüze kadar YKR’da birçok materyal membran olarak denenmiştir. İlk olarak rezorbe olmayan materyaller kullanılmıştır. Kullanılan membranlar arasında en fazla bilimsel çalışma rezorbe olmayan ePTFE membranı ile yapılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak bu membranlarda yumuşak doku dehisensi olabilmektedir. Neticede membran ekspozu ile gelişen enfeksiyon sonucunda istenilen başarıya ulaşılamamaktadır. Ayrıca membranın görevini tamamladıktan sonra çıkarılması için ikinci bir cerrahiye gereksinim duyulmaktadır. Rezorbe olmayan membranların bu kısıtlamalarının üstesinden gelebilmek için biorezorbe olabilen membranlar kullanılmaya başlanılmıştır. Üstün doku integrasyonları ve mikrobiyal kolonizasyona daha dirençli olmaları ve ikinci bir cerrahi olmaksızın bölgeden kendiliğinden uzaklaşması önemli avantajlarındandır (214).

Sentetik ürünler immünojenite riski taşımadıkları gibi, rezorbsiyon zamanlarının kimyasal formüllerinin değiştirilmesi ile kontrol edilebilir olduğundan tercih edilmektedirler. Çalışmamızda kullandığımız membran sentetik materyal olan olan polilaktikasit ve poli eilen glikol karışımı ile özel olarak üretilmiştir. Rezorbe olabilen bu materyal membran özelliklerinin hepsini taşımaktadır. Üretim tekniği açısından rijit yapıda olması sebebiyle de uygulama sırasında ve sonrasında formunu koruyabilmektedir. Literatürdeki bazı çalışmalarda rezorbe olabilen membranlar

şekillerini stabil şekilde koruyamadıklarından rezorbe olmayan membranlara oranla daha az başarılı olduğu bildirilmiştir (215, 216). Çalışmamızda kullanılan sentetik biyopolimer olan PLA:PEG mebranının rijit bir yapıya sahip olması ve doku yapıştırıcısı ile kemiğe sabitlemesi sebebiyle uygulama sonrası uzun bir süre formunu koruduğunu düşünmekteyiz.

Bifosfonatlar tüm dünyada Paget hastalığında, osteoprozun tedavisinde ve metastatik kemik tümörü varlığında sıklıkla kullanılan ilaç grubudur. Temel olarak osteoklastik kemik yıkımını engelleme yoluyla etki gösteren bu ilaçların yeni kemik oluşumu üzerine etkinliği bildiren birçok çalışma mevcuttur (217-219). Son 10 yılda yapılan ortopedik çalışmalarda da kırık iyileşmesi, uzun kemik distraksiyonlarında kallus kalitesinin ve direncinin artırılması ve ortopedik implantlarda osteointegrasyon kalitesi üzerine bifosfonatların olumlu etkileri gösterilmiştir (220-224).

Son 10 yılda bifosfonat kullanımına ait majör komplikasyonlardan sayılan bifosfonatla ilişkili çene kemiği nekrozu (BRONJ) üzerinde bilimsel tartışmalar devam etmektedir. Osteonekroz vakaları büyük oranda intravenöz yolla uygulanan Pamidronat ve Zoledronik Asit gibi potent bifosfonatların kullanımı sonrasında geliştiği ve vakaların çoğunluğunun multipl miyelloma, meme ve prostat kanseri sebebiyle onkolojik endikasyonla ilacı kullandığı belirlenmiştir. Bifosfonatların oral kullanımıyla ilgili de ender olarak çenelerde gelişen osteonekroz vakaları bildirilmiştir (225, 226). Fakat bifosfonat kullanım süresine paralel olarak BRONJ riskinin arttığı bildirilmiştir (227-230).

Popülasyonda görülen BRONJ'larının sadece %4'ü ALN kullanımı ile ilişkilidir (231). ALN'tan 7 kat fazla BRONJ geliştirme kapasitesine sahip olan Pamidronat'ın ALN'a göre antirezorptif etkinliği 10 kat daha azdır (232). İntravenöz bifosfonat tedavisi gören kanser hastalarında osteonekroz oluşma riski %2 ile %13 arasındayken, oral tablet formunu kullanan hastalarda bu oran 100000-200000'de 1 gibi çok düşük bir oran olarak belirlenmiştir (233).

ALN'ın ilk kez lokal uygulaması Yaffe ve ark. (144) tarafından 1997 yılında yapılmıştır. Daha önceden sistemik olarak verilen ve alveol kemiğindeki rezorpsiyonu azalttığı belirtilen bir amino bifosfonat olan ALN'ın, lokal olarak sıçan mandibulasındaki mukoperiostal flap cerrahisi sonrasında alveolar kemik rezorpsiyonuna etkisini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda mukoperiostal flap cerrahisinde lokal ALN uygulamasının alveolar kemik rezorpsiyonunu önemli ölçüde azalttığı vurgulanmıştır.

Jakobsen ve ark. (234) yaptıkları bir köpek modelinde; hayvanların proksimal tibialarında siman kullanılmadan hidroksiapatit (HA) kaplanmış implantların kemik ile temasları değerlendirilmiştir. Çalışmanın kontrol grubunda kaviterler serum fizyolojik ile yıkanırken; deney grubunda her bir implant kavitesine 1 ml serum fizyolojik içerisinde çözülmüş 2 mg ALN (2 mg/ml) solüsyonu 60 sn. boyunca uygulanmış. Çalışma sonucundaki biyomekanik testlerde ALN uygulanan grupta kontrol grubuna göre 2,1 kat makaslama kuvveti ve 2,7 kat makaslama direnci fazla ölçülmüştür. Bu çalışmanın yöntemini bizim uygulayacağımız hayvan modeline daha uygun bulduğumuz için ALN'ın doz hesaplaması ve kaviteye uygulama yöntemi açısından örnek alındı.

Omi ve ark. (16) yapmış oldukları bir diğer çalışmada ise lokal ALN uygulamasının tavşan tibiasındaki distraksiyon osteogenezisi üzerine etkileri incelenmiştir. Bulgularda düşük doz lokal ALN uygulanmasının distraksiyon osteogenezisinde etkili bir farmakolojik araç olabileceğini belirtmişlerdir.

Meraw ve ark. (235) yaptıkları çalışmada; 6 köpek çenesinde toplam 4 gruptan oluşan bir implant modeli uygulamışlar. Makede işlenmiş titanyum implantlar ve hidroksiapatit (HA) kaplanmış implantlarda lokal ALN uygulamasının etkinliğini değerlendirmişler. Lokal ALN uygulanan implant gruplarından; makede işlenmiş titanyum implantlarda implant-kemik temas alanı %59,4 iken ALN uygulanmayan implantlarda implant-kemik temas alanı %30 olarak ölçülmüş. Sonuç olarak lokal tatbik edilen ALN'ın kemik formasyonunu arttırdığı vurgulanmış ve ALN'ın sisemik olarak uygulandığındaki oluşan yan etkilerinin de önüne geçilebileceği belirtilmiştir.

Bir diğer lokal ALN uygulanan çalışmada da Suthasiny Srisubut ve ark. (236) sıçan mandibulasında biyoaktif cam grefti ile beraber lokal ALN uygulamasının kemik oluşumunu artırıp arttırmadığını araştırmışlar. Sıçan mandibularında açılan defektlere ALN emdirilmiş biyoaktif cam grefti yerleştirilmiştir. 4 hafta sonunda osteoklast sayısı ve yeni kemik oluşum miktarı karşılaştırılmıştır. Deney grubunda anlamlı derecede yeni kemik oluşumu bulunmuştur. Sonuç olarak tek doz lokal ALN uygulamasının yeni kemik oluşumu üzerine arttırıcı etkileri olduğu vurgulanmıştır.

Çalışmamızda da bir amino bifosfonat olan ALN çözeltisinin tek doz lokal uygulamasının implant çevresindeki defektlere yeni kemik oluşumu üzerine radyolojik ve histolojik incelemelerde daha fazla yeni kemik oluşturduğu görüldü. Çalışmamızın makroskopik sonuçlarından gözlemlediğimiz bir diğer bulgu ise; ALN uygulanan grupların tümünde implant kavitesinin ve implantın üzerinin tamamen yeni oluşan kemik ile kaplanmış olmasıydı. Bu durumun sebebi olarak; ALN çözeltisinin kaviteden

taşıp çevredeki dokularda kemik rezorbsiyonunu önlediğini düşünmekteyiz. İnceleme alanının implantın $\frac{1}{3}$ 'lük boyun bölgesinde bulunması nedeniyle, implantın üzerindeki ve apikal $\frac{2}{3}$ 'deki yeni kemik oluşum alanları çalışma sonuçlarına dâhil edilmedi. Bu bulgular göz önünde bulundurulduğunda; ALN'ın yeni kemik oluşumundaki etkinliğinin TZF'ye ve ksenojen grefte oranla çok daha yüksek olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışma şartlarının sınırları dâhilinde aşağıdaki sonuçlara varıldı:

1- İmplant çevresindeki defektlerde rezorbe olabilen membran ile birlikte lokal ALN uygulamasının 12 haftalık dönemde klinik kullanım açısından yeni kemik oluşumunu arttırmak için kullanılabilecek bir seçenek olabileceği sonucuna varıldı.

2- 12 haftalık iyileşme periyodunda tamamen rezorbe olduğu görülen rijit PLA:PEG membranın ksenogreft, TZF ve lokal ALN ile beraber kullanımı, tek başına kullanımından daha üstün sonuçlar verdiği görüldü.

3- Peri implant defektlerde lokal ALN kullanımı greft materyallerine bir alternatif olabilir.

4- Denek sayısı artırılarak farklı iyileşme dönemlerindeki histomorfometrik ve radyolojik sonuçlar incelenebilir. ALN farklı dozlarda uygulanarak, kemik rejenerasyonuna etkisi açısından doz karşılaştırması yapılabilir. Lokal uygulama açısından ALN çeşitli greft materyalleri ile birlikte kullanılarak kemik rejenerasyonundaki etkinliği karşılaştırılabilir.

KAYNAKLAR

1. Jung, G.U., Pang, E.K., Park, C.J. (2014). Anterior maxillary defect reconstruction with a staged bilateral rotated palatal graft. *J Periodontal Implant Sci.*, 44(3), 147-155.
2. Thronson, R.R., Johnson, J.M. (2013) Spontaneous regeneration of bone after resection of central giant cell lesion: a case report. *Tex Dent J.*, 130(12), 1201-1209.
3. Moest, T., Koehler, F., Pechtl, C., Schmitt, C., Watzek, G., Schlegel, K.A. (2014). Bone formation in peri-implant defects grafted with microparticles: a pilot animal experimental study. *J Clin Periodontol.*, 41(10), 990-998.
4. Sullivan, J.P. (2013). Implant placement in the aesthetic zone following an autogenous bone graft from an intraoral site: a case study. *Prim Dent J.*, 2(4), 49-55.
5. Lopez Mde, A., Olate, S., Lanata-Flores, A., Pozzer, L., Cavalieri-Pereira, L., Cantín, M., Vásquez, B., de Albergaria-Barbosa, J. (2013). New bone formation in a bone defect associated to dental implant using absorbable or non-absorbable membrane in a dog model. *Int J Clin Exp Pathol.*, 15;6(11), 2292-2299.
6. Al-Nawas, B., Schiegnitz, E. (2014). Augmentation procedures using bone substitute materials or autogenous bone - a systematic review and meta-analysis. *Eur J Oral Implantol.*, 7(2), 219-234.
7. Finkemeier, C.G. (2002). Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am.*, 84-A(3) 454-464.
8. Tomford, W.W. (2000). Bone allografts: past, present and future. *Cell Tissue Bank.*, 1(2), 105-109.
9. Misch, C.E, Dietsh, F. (1993) Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent.*, 2(3), 158-167.
10. Tovar, N., Jimbo, R., Gangolli, R., Perez, L., Manne, L., Yoo, D., Lorenzoni, F., Witek, L., Coelho, P.G. (2014). Evaluation of bone response to various

- anorganic bovine bone xenografts: an experimental calvaria defect study. *Int J Oral Maxillofac Surg.*, 43(2), 251-260.
11. de Mello e Oliveira, R., Pelegrine, A.A., Aloise, A.C., Ferreira, L.M. (2014). Xenograft impregnated with bone marrow mononuclear fraction for appositional bone regeneration in rabbit calvaria: a clinical and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants*; 29(4),962-968.
 12. Plazas Bonilla, C.E., Trujillo, S., Demirdögen, B., Perilla, J.E., Murat Elcin, Y., Gómez Ribelles, J.L. (2014). New porous polycaprolactone-silica composites for bone regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.*; 40,418-426.
 13. Garcia, V.G., da Conceição, J.M., Fernandes, L.A., de Almeida, J.M., Nagata, M.J., Bosco, A.F., Theodoro, L.H. (2013). Effects of LLLT in combination with bisphosphonate on bone healing in critical size defects: a histological and histometric study in rat calvaria. *Lasers Med Sci.*; 28(2):407-414.
 14. Niu, S., Cao, X., Zhang, Y., Zhu, Q., Zhu, J., Zhen P. (2012). Peri-implant and systemic effects of high-/low-affinity bisphosphonate-hydroxyapatite composite coatings in a rabbit model with peri-implant high bone turnover. *BMC Musculoskelet Disord.*; 13, 97.
 15. Miao, G., Chen, X., Dong, H., Fang, L., Mao, C., Li, Y., Li, Z., Hu, Q. (2013). Investigation of emulsified, acid and acid-alkali catalyzed mesoporous bioactive glass microspheres for bone regeneration and drug delivery. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.*; 33(7), 4236-4243.
 16. Omi, H., Kusumi, T., Kijima, H., Toh, S. (2007). Locally administered low-dose alendronate increases bone mineral density during distraction osteogenesis in a rabbit model. *J Bone Joint Surg Br.*, 89(7), 984-988.
 17. Bernard, G.W. (1991). Healing and repair of osseus defects. *Dent Clin North Am.*, 35, 469-477.
 18. Doblare, M., Garcia, J.M., Gomez, M.J. (2004). Modelling bone tissue fracture healing: a reiew. *Engineering Fracture Mechanics.*, 71, 1809-1840.
 19. Sikavitsasi V.I., Temenoff, J.S., Mikos, A.G. (2001). Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials.*, 22, 2581-2593.

20. Şirin, S.Y. (2005). Deneysel olarak meydana getirilen kemik defektlerine yerleştirilen farklı tipteki yapay kaynaklı greft materyallerinin kemikleşmesinde hiperbarik oksijen uygulamasının etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.
21. Açıkalın, A.E., Bayçu, C., Gürer, F., Aral, E. (1995). *Histoloji*, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No: 894, 124.
22. Roberts, W.E., Hartsfield, J.K. Jr. (2004). Bone development and function: genetic and environmental mechanisms. *Semin Orthod.*, 10, 100-122.
23. Ashammakhi, N., Ferretti, P. (2003). *Topics in tissue engineering. Volume I* (Electronic book), Chapter 7, 1-46.
24. Eroschenko, V.P. (2008). *Cartilage And Bone. In: Di Fiore's atlas of histology with functional correlations. 11th ed.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 79-91.
25. Ross, M.H., Wojciech, P. (2011). *Bone. In: Histology a test and atlas, with correlated cell and molecular biology. 6th ed.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 218-252.
26. Baron, R. (1999). *Anatomy and ultrastructure of bone., in Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism., M. Favus, Editor.* Lippincott Williams & Wilkins: Philedelphia, PA., 3-10.
27. Erdoğan, D., Hatipoğlu, M., Görgün, M., Ilgaz, C.(1999). *Genel Histoloji.* Ankara: Hatipoğlu Yayın Evi
28. Junqueira, L.C. and Carneiro, J. (2006). *Temel Histoloji* (Çeviri: Aytakin, Y., Solakoğlu, S.), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 141-152.
29. Sağlam, M., Aştı, R.N., Özer, A. (2001). *Genel Histoloji* (Genişletilmiş 6. Baskı) Ankara: Yorum Matbaacılık
30. Tuskan, C., Yaltırık, M. (2002). Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan Biyomateryaller. Bölüm I,II. İ.Ü. *İstanbul: Dişhekimliği Fakültesi Yayınları.*
31. Gürkan, T. (2005). *Jinekolojik Yönden Osteoporozu Yaklaşım*, Ed: Gökçe-Kutsal Y, Osteoporoz, 2. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara: 213-230.

32. Levison, D.A., Reid, R., Burt, A.D., Harrison, D.J., Fleming, S. (2008). *The locomotor system. In: Muir's testbook of pathology. 14th ed.* London: Bookpower, 330-333.
33. Kumar, A., Mitchell, F. (2007). The musculoskeletal system. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N (Eds.). *Robbins basic pathology. 8th ed.* Philadelphia: Elsevier, 787-795.
34. Moore, W.R., Graves, S.E., Bain, G.I. (2001). Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg*, 71(6), 354-361.
35. Bauer, T.W., Muschler, G.F. (2000). Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop.*, 371, 10-27.
36. Simsek, A., Çakmak, G., Cila, E., (2004). Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. *TOTBD (türk ortopedi ve travmatoloji birliği derneği dergisi)*, 3, 3-4.
37. Kruger, G.O. (1984). *Text Book of Oral and Maksillofacial Surgery.* The C V Mosby Company.
38. Peterson, L.J., İndresano, A.T., Marciani, R.D., Rose, S.M. (1992). *Principles of Oral and Maxillofacial Surgery Vol II . J.B.Lippincott Company.*
39. Kökden, A, Türker, M. (1999). Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateryaller, *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 2(2), 134-140.
40. Buck, B.E., Malinin, T.I. (1994). Human bone and tissue allografts. Preparation and safety. *Clin Orthop Relat Res.*, 303, 8-17.
41. Boyan, B.D., Ranly, D.M., McMillan, J., Sunwoo, M., Roche, K., Schwartz, Z. (2006). Osteoinductive ability of human allograft formulations. *J Periodontol.*, 77(9), 1555-1563.
42. Alfaro, F.H. (2006). *Bone grafting in oral implantology.* Techniques and clinical applications, Spain: Quintessence Books.
43. Kruger, G.O. (1984). *Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery, 6th Ed.*, St. Louis: The C V Mosby Company.

44. Belgin, G., Behçet, E., Yılmaz, F., Atay, Ç. (1997). Sentetik bir Kemik Alloplastı ile Ksenojenik Bir Kemik Greftinin Osteogenezis Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak Araştırılması. *Türk Oral ve Maks. Cerrahi Derg.*, 1, 1-2.
45. Dohan, D. M., J. Choukroun, Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (TZF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 101(3), 37-44.
46. Dohan, D. M., J. Choukroun, Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (TZF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 101(3), 45-50.
47. Eppley, B. L., W. S. Pietrzak, Blanton, M. (2006). Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg.*, 118(6), 147-159.
48. Ashby, B., Daniel, J.L., Smith, B. (1990). Mechanisms of platelet activation and inhibition. *Hemat Oncol Clin North Amer.*, 4, 1-26.
49. Dohan Ehrenfest, D.M., Del Corso, M., Diss, A., Mouhyi, J., Charrier, J.B. (2010). Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol.*, 81(4), 546-555.
50. Diss, A., Dohan Ehrenfest, D.M., Mouhyi, J., Mahler, P. (2008). Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: a 1-year prospective pilot study with microthreaded implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 105(5), 572-579.
51. Gassling, V., Douglas, T., Warnke, P.H., Açil, Y., Wiltfang, J., Becker, S.T. (2010). Platelet-rich fibrin membranes as scaffolds for periosteal tissue engineering. *Clin Oral Implants Res.*, 21(5), 543-549.
52. Mazor, Z., Horowitz, R.A., Del Corso, M., Prasad, H.S., Rohrer, M.D., Dohan Ehrenfest, D.M. (2009). Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. *J Periodontol.*, 80(12), 2056-2064.

53. Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M.O., Schoeffler, C., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Dohan, D.M. (2006). Platelet-rich fibrin (TZF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 101(3), 56-60.
54. Lundquist, R., M.H. Dziegiel, (2008). Bioactivity and stability of endogenous fibrogenic factors in platelet-rich fibrin. *Wound Repair Regen.*, 16(3), 356-363.
55. Jang, E.S., Park, J.W., Kweon, H., Lee, K.G., Kang, S.W., Baek, D.H., Choi, J.Y., Kim, S.G. (2010). Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 109(6), 831-836.
56. Dohan Ehrenfest, D.M., Doglioli, P., de Peppo, G.M., Del Corso, M., Charrier, J.B. (2010). Choukroun's platelet-rich fibrin (TZF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Archives of Oral Biology.*, 55(3), 185-194.
57. Branemark, P.I. (1983). Osseointegration and its experimental background. *The Journal of Prosthetic Dentistry* , 50(3), 399-410.
58. Güzel, K.D., Meşe, A., Dündar, B. (2006). Tür, Form ve Materyal Açısından Günümüz Dental İmplantların Tarihçesi. *Türkiye Klinikleri J Med Ethics.*, 14, 41- 46.
59. Brånemark, P.I., Hansson, B.O., Adell, R., Breine, U., Lindström, J., Hallén, O., Öhman, A. (1977). Osseointegrated titanium implants in the treatment of the edentulous jaw. *Scand J Plast Reconstr Surg.*, 11 (16), 1–175.
60. Albrektsson, T., Brånemark, P.I., Hansson, H.A., Lindström, J. (1981). Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone anchorage in man. *Acta Orthop Scand.*, 52, 155–170.
61. Albrektsson, T., Johansson, C. (2001). Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J.*, 2, 96-101.
62. Linder, L., Albrektsson, T., Branemark, P.I., Hansson, H.A., Ivarsson, B., Jonsson, U., Lundström, I. (1983). Electron microscopic analysis of the bone-titanium interface. *Acta Orthopaedica.*, 54(1), 45-52.

63. Albrektsson, T., Hansson, H.A. (1986). An ultrastructural characterization of the interface between bone and sputtered titanium or stainless steel surfaces. *Biomaterials*, 7(3), 201-205.
64. He, F.M., Shan, H.Q., Shen, J.W., Jiang, Q.H. (2013). Bone formation at porous titanium implants coated with multiple layers of recombinant human bone morphogenetic protein-2 cDNA plasmid in the posterior mandible in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants.*, 28(6), 1648-1654.
65. Calvo Guirado, J.L., Satorres Nieto, M., Aguilar Salvatierra, A., Delgado Ruiz, R.A., Maté Sánchez de Val J.E., Gargallo Albiol J., Gómez Moreno G., Romanos G.E. (2014). Influence of surface treatment on osseointegration of dental implants: histological, histomorphometric and radiological analysis in vivo. *Clin Oral Investig.*
66. Souza, F.Á., Queiroz, T.P., Sonoda, C.K., Okamoto, R., Margonar, R., Guastaldi, A.C., Nishioka, R.S., Garcia Júnior, I.R. (2014). Histometric analysis and topographic characterization of *cp Ti* implants with surfaces modified by laser with and without silica deposition. *J Biomed Mater Res.*
67. Misch, C.E., Perel, M.L., Wang, H.L., Sammartino, G., Galindo-Moreno, P., Trisi, P., Steigmann, M., Rebaudi, A., Palti, A., Pikos, M.A., Schwartz-Arad, D., Choukroun, J., Gutierrez-Perez, J.L., Marenzi, G., Valavanis, D.K. (2008). Implant success, survival, and failure: the International Congress of Oral Implantologists (ICOI) Pisa Consensus Conference. *Implant Dent.*, 17(1), 5-15.
68. Steigenga, J.T., al-Shammari, K.F., Nociti, F.H., Misch, C.E., Wang, H.L. (2003). Dental implant design and its relationship to long-term implant success. *Implant Dent.*, 12(4), 306-317.
69. Zarb, G.A., Albrektsson, T. (1998). Consensus report: towards optimized treatment outcomes for dental implants. *J Prosthet Dent.*, 80(6), 641.
70. Stanford, C.M., Brand, R.A. (1999). Toward an understanding of implant occlusion and strain adaptive bone modeling and remodeling. *J Prosthet Dent.*, 81(5), 553-561.
71. Misch, C.E. (1998). The implant quality scale: a clinical assessment of the health-- disease continuum. *Oral Health.*, 88(7), 15-20.

72. Sennerby, L., Roos, J. (1998). Surgical determinants of clinical success of osseointegrated oral implants: a review of the literature. *Int J Prosthodont.*, 11(5), 408-420.
73. Smith, D.E., Zarb, G.A. (1989). Criteria for success of osseointegrated endosseous implants. *J Prosthet Dent.*, 62(5), 567-572.
74. Szmukler-Moncler, S., Piattelli, A., Favero, G.A., Dubruille, J.H. (2000). Considerations preliminary to the application of early and immediate loading protocols in dental implantology. *Clin Oral Implants Res.*, 11(1), 12-25.
75. Tinsley, O., Walson, C.J., Ogden, A.R. (1999). A survey of U.K. centers on implant failures. *Journal of Oral Rehabilitation*, 26, 14-18.
76. Tonetti, M.S. (1999). Determination of the success and failure of root-form osseointegrated dental implants. *Adv Dent Res.*, 13, 173-180.
77. Park, J.B. (2010). Restoration of resorbed mandible using resorbable membrane and bone graft material with simultaneous implant placement: report of two cases. *Quintessence Int.*, 41(1), 21-25.
78. Linde, A., Thorén, C., Dahlin, C., Sandberg, E. (1993). Creation of new bone by an osteopromotive membrane technique: an experimental study in rats. *J Oral Maxillofac Surg.*, 51 (8), 892-897.
79. Shulman, J. (1998). A previously unreported surgical technique utilizing five different grafting materials to successfully achieve simultaneous alveolar regeneration and closure of a large oronasal defect. *J Oral Implantol.*, 24(4), 206-213.
80. MacNeill, S.R., Cobb, C.M., Rapley, J.W., Glaros, A.G., Spencer, P. (1999). In vivo comparison of synthetic osseous graft materials. A preliminary study. *J Clin Periodontol.*, 26(4), 239-245.
81. Drosse, I., Volkmer, E., Capanna, R., De Biase, P., Mutschler, W., Schieker, M. (2008). Tissue engineering for bone defect healing: an update on a multi-component approach. *Injury*, 39 (2), 9-20.
82. Dahlin, C., Linde, A., Gottlow, J., Nyman, S. (1988). Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Recensir Surg.*, 81, 672- 676.

83. Dahlin, C., Sennerby, L., Lekholm, U., Linde, A., Nyman, S. (1989). Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: An experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 4, 19–25.
84. Dahlin, C., Gottlow, J., Linde, A., Nyman, S. (1990). Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique. An experimental study in monkeys. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.*, 24, 13-19.
85. Alberius, P., Dahlin, C., Linde, A. (1992). Role of osteopromotion in experimental bone grafting to the skull: A study in adult rats using a membrane technique. *Oral Maxillofac Surg.*, 50, 829-834.
86. Dahlin, C., Alberius, P., Linde, A. (1991). Osteopromotion for cranioplasty. An experimental study in rats using a membrane technique. *J Neurosurg.*, 74, 487-491.
87. Dahlin, C., Linde, A. (1993). Tissue dynamics during new bone formation by the osteopromotion membrane technique. *Scand J Dent Res.*, in press.
88. Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. (2003). *Clinical Periodontology and Implant dentistry. 4th ed.* Denmark: Blackwell Munksgaard.
89. Retzepi, M., Donos, N. (2010). Guided bone regeneration: biological principle and therapeutic applications. *Clin Oral Impl Res.*, 21, 567-576.
90. Chiapasco, M., Casentini, P., Zaniboni, M. (2009). Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 24, 237-259.
91. Caffesse, R.G., Quinones, C.R. (1992). Guided tissue regeneration: biologic rationale, surgical technique, and clinical results. *Compendium.*, 13(3), 166-168.
92. Becker, W., Becker, B.E., Handelsman, M., Ochsenein, C., Albrektsson, T. (1991). Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets: a study in dogs. *J Periodontol.*, 62(11), 703-709.
93. Dahlin, C., Lekholm, U., Linde, A. (1991). Membrane induced bone augmentation at titanium implants. A report of 10 fixtures followed from 1 to 3 years after loading. *Int J Periodontics Restorative Dent.*; 11, 273-281.

94. Alberius, P., Johnell, O. (1991). Repair of intra-membranous bone fractures and defects in rats. Immunolocalization of bone and cartilage proteins and proteoglycans. *J Craniomaxillofac Surg.*, 19(1), 15-20.
95. Aukhil, I., Pettersson, E., Suggs, C. (1986). Guided tissue regeneration: an experimental procedure in beagle dogs. *J Periodontol.*, 57, 727-734.
96. Hämmerle, C.H.F., Lang, NP. (2001). Single stage surgery combining transmucosal implant placement with guided bone regeneration and bioresorbable materials. *Clin Oral Impl Res.*, 12, 9-18.
97. Juodzbaly, G., Raustia, A.M., Kubilius, R. (2007). 5-year follow-up study on one-stage implants inserted concomitantly with localized alveolar ridge augmentation. *Journal of Oral Rehabilitation*, 34, 781-789.
98. Wang, H.L., Boyapati, L. (2006). "PASS" principles for predictable bone regeneration. *Implant Dent.*, 15, 8-17.
99. Saçak, M. (2004). *Polimer kimyası*. Gazi Kitapevi, Ankara, 2-3.
100. Chandra, R., Rustgi, R. (1998). Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Scienc.*, 23(7), 1273-1335.
101. Amass, W., Amass, A., Tighe, B. (1998). A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. *Polym. Int.*, 47, 89-144.
102. Ikada, Y., Tsuji, H. (2000). Biodegradable polyesters for medical and ecological applications. *Macromol. Rapid Commun.*, 21, 117-132.
103. Mehta, R., Kumar, V., Bhunia, H., Upadhyay, S. N. (2005). Synthesis of Poly (Lactic Acid): A Review. *Journal of Macromolecular Science*, 45, 325-349.
104. Brady, J.M., Cutright, D.E., Miller, R.A., Battistone, G.C. (1973). Resorption rate, route of elimination and ultrastructure of the implant site of polylactic acid in the abdominal wall of the rat. *J.Biomed. Mater. Res.*, 7, 155-166.
105. Hollinger, J.O., Battistone, G.C. (1973). Biodegradable bone materials. *Synthetic Polymers and Ceramics Clin. Orthop.*, 207, 290-305.

106. Kulkarni, R.K., Pani, K.C., Neuman, C., Leonard, F. (1966). Polylactic acid for surgical implants. *Arch. Surg.*, 93, 839–843.
107. Pistner, H., Gutwald, R., Ordnung, R., Reuther, J., Muhling, J. (1993). Poly(L-lactide): A long term degradation study in vivo: Biological results. *Biomaterials*, 14, 671-677.
108. Avital, S., Bollinger, T.J., Wilkinson, J.D., Marchetti, F., Hellinger, M., Sands, L.R. (2005). Preventing intra-abdominal adhesions with polylactic acid films: An animal study. *Dis. Colon. Rectum.*, 48, 153–157.
109. Kaplan, D.L., Mayer, J.M., Ball, D., McCassie, J., Allen, A.L., Stenhouse, P., (1993). *Fundamentals of biodegradable polymers, in: Biodegradable polymers and packaging*. Technomic Publishing Company, Inc., Basel, 1-42.
110. Bergsma, J.E., De Bruijn, W.C., Rozema, F.R., Bos, R.P., Boering, G. (1995). Late degradation tissue response to poly(L-lactide) bone plates and screws. *Biomaterials*, 16, 25–31.
111. Bessho, K., Lizuka, T., Murakami, K. (1997). A bioabsorbable poly(L-lactide) miniplate and screw system for osteosynthesis in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofacial Surgery*, 55, 941–945.
112. Coonts, B.A., Whitman, S.L., O'Donnell, M., Polson, A.M., Bogle, G., Garret, S., Swanbom, D.D., Fulfs, J.C., Rodgers, P.W., Suthard, G.L., Dunn, R.L. (1998). Biodegradation and biocompatibility of a guided tissue regeneration barrier membrane formed from a liqued polymer material. *J. Biomed Mater. Res.*, 42, 303–311.
113. Cordewener, F.W., Rozema, F.R., Bos, P.R.M., Grijpma, D.W., Boering, G., Pennigs, A.J. (1995). Material properties and tissue reaction during degradation of poly (96L/4D-lactide) . A study in vitro and in rats. *J. Mater Sci.*, 6, 211–217.
114. Gopferich, A., Peter, S.J., Lucke, A Lu, L., Mikos, A.G. (1999). Modulation of marrow stromal cell function using poly (D,L-lactic acid)– block-poly (ethylene glycol)-monomethyl ether surfaces. *J. Biomed Mater Res.*; 46, 390.
115. Mainil-Varlet, P., Rahn, B., Gogolewski, S. (1997). Longterm in vivo degradation and bone rection to various polylactides. *Biomaterials*, 18, 257.

116. Matsuzaka, K., Walboomers, XF., Rujiter, JE., Jansen, JA. (1999). The effect of poly-L-lactic acid with parallel surface micro groove on osteoblast-like cells in vitro. *Biomaterials*, 20, 1293.
117. Levy Fe Hollinger, JO., Szachowicz, EH. (1994). Effects of a bioresorbable film on regeneration of cranial bone. *Plast Reconstr Surg.*, 93, 307.
118. Yamada, K. Miyamoto, S., Nagata, I., Kiruki, H., Ikada, Y., Iwata, H., Yamamoto, K. (1997). Development of a dural substitute from synthetic bioabsorbable polymers. *J Neurosurg.*, 86, 1012–1017.
119. Stroman, PW. Dorvil, JC., Marois, Y., Poddevin, N., Guidoin, R. (1999). In vivo time course studies of the tissue responses to resorbable polylactic acid implants by means of MRI. *Magn Reson Med.*, 42, 210.
120. Viljanen, J., Kinnunen, J., Bondestam, S., Majola, A., Rokkanen, P., Tormala, P. (1999). Bone changes after experimental osteotomies fixed with absorbable self-reinforced poly-L-lactide screws or metallic screws studied by plain radiographs, quantitative computed tomography and magnetic resonance imaging. *Biomaterials*, 16, 474.
121. Haris, J.M., Chess, R.B. (2003). Effect of pegylation on pharmaceuticals. *Nature Reviews*, 2, 214- 221.
122. Bayındır, Z.S., Yüksel, N. (2007). Pegilasyon: PEG konjugatlarının hazırlanması ve uygulamaları. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 36(4), 249-266.
123. Yang, D.J., Xiong, C.D., Govender, T., Wang, Y.Z. (2009). Preparation and drug-delivery potential of metronidazole-loaded PELA tri-block co-polymeric electrospun membranes. *J Biomater Sci Polym Ed.*, 20(9), 1321-1334.
124. Kissel, T., Li, Y., Unger, F. (2002). ABA-triblock copolymers from biodegradable polyester A-blocks and hydrophilic poly(ethylene oxide) B-blocks as a candidate for in situ forming hydrogel delivery systems for proteins. *Adv Drug Deliv Rev.*, 54(1), 99-134.
125. Salem, A.K., Cannizzaro, S.M., Davies, M.C., Tendler, S.J., Roberts, C.J., Williams, P.M., Shakesheff, K.M. (2001). Synthesis and characterisation of a degradable poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol) copolymer with biotinylated end groups. *Biomacromolecules*, 2(2), 575-580.

126. Fleisch, H. (2000). *Bisphosphonates in Bone Disease*. California: A Harcourt Science and Technology Company.
127. Fleisch, H. Bisphosphonates: mechanisms of action. (1998). *Endocr Rev.*, 19(1), 80-100.
128. Fleisch, H., Russell, R.G., Francis, M.D. (1969). Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science*, 165, 1262-1264.
129. Russell, R.G., Mühlbauer, R.C., Bisaz, S., Williams, D.A., Fleisch, H. (1970). The influence of pyrophosphate, condensed phosphates, phosphonates and other phosphate compounds on the dissolution of hydroxyapatite in vitro and on bone resorption induced by parathyroid hormone in tissue culture and in thyroparathyroidectomised rats. *Calcif Tissue Res.*, 6(3), 183-96.
130. Russell, R.G., Xia, Z., Dunford, J.E., Oppermann, U., Kwaasi, A., Hulley, P.A., Kavanagh, K.L., Triffitt, J.T., Lundy, M.W., Phipps, R.J., Barnett, B.L., Coxon, F.P., Rogers, M.J., Watts, N.B., Ebetino, F.H. (2007). Bisphosphonates: an update on mechanisms of action and how these relate to clinical efficacy. *Ann N Y Acad Sci.*, 1117, 209-257.
131. Smith, R., Russell, R.G., Bishop, M. (1971) Diphosphonates and Page's disease of bone. *Lancet*, 8;1(7706), 945-947.
132. Bassett, C.A., Donath, A., Macagno, F., Preisig, R., Fleisch, H., Francis, M.D. (1969). Diphosphonates in the treatment of myositis ossificans. *Lancet*, 18, 2(7625), 845.
133. Cremers, S., Papapoulos, S. (2011). Pharmacology of bisphosphonates. *Bone*, 49 (1), 42-49.
134. Papapoulos, S.E. (2006). Bisphosphonate actions: physical chemistry revisited. *Bone*, 38, 613-616.
135. Sarasquete, M.E., Gonzalez, M., San Miguel, J.F., Garcia-Sanz, R. (2009). Bisphosphonate-related osteonecrosis: genetic and acquired risk factors. *Oral Dis.*, 15(6), 382-387.
136. Watts, N.B. (1998). Treatment of osteoporosis with bisphosphonates. *Endocrinol Metab Clin North Am.*, 27(2), 419-439.

137. Giuliani, N., Pedrazzoni, M., Passeri, G., Girasole, G. (1998). Bisphosphonates inhibit IL-6 production by human osteoblast-like cells. *Scand J Rheumatol.*, 27, 38-41.
138. Şenocak, O., Oncel, S. (2002). Osteoporozda medikal tedavi. *Fiziksel Tip ve Rehabilitasyon*, 2(1), 58.
139. Onur, Ö.D., Kurtuluş, B., Çevik, P. (2009). Bifosfonat kullanan hastalarda oral cerrahi uygulamalarda karşılaşılabilecek sorunlar ve tedavisi. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 43, (3-4),113-122.
140. Sato, M., Grasser, W., Endo, N., Akins, R., Simmons, H., Thompson, D.D., Golub, E., Rodan, G.A. (1991). Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest.*, 88(6), 2095-2105.
141. Rogers, M.J., Gordon, S., Benford, H.L., Coxon, F.P., Luckman, S.P., Monkkonen, J., Frith, J.C. (2000). Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer*, 15; 88(12), 2961-2978.
142. Rodan, G.A. (1997). Bone mass homeostasis and bisphosphonate action. *Bone*, 20(1), 1-4.
143. Hernandez, C.J., Beaupré, G.S., Marcus, R., Carter, D.R. (2001). A theoretical analysis of the contributions of remodeling space, mineralization, and bone balance to changes in bone mineral density during alendronate treatment. *Bone*, 29(6), 511-516.
144. Yaffe, A., Izkovich, M., Earon, Y., Alt, I., Lilov, R., Binderman, I. (1997). Local delivery of an amino bisphosphonate prevents the resorptive phase of alveolar bone following muco-periosteal flap surgery in rats. *J Periodontol.*, 68, 884-889.
145. Omi, H., Kusumi, T., Kijima, H., Toh, S. (2007). Locally administered low-dose alendronate increases bone mineral density during distraction osteogenesis in a rabbit model. *J Bone Joint Surg Br.*, 89(7), 984-988.
146. Küçük, D., Ay, S., Kara, M.I., Avunduk, M.C., Gümüş, C. (2011). Comparison of local and systemic alendronate on distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg.*, 40(12), 1395-1400

147. Jeffcoat, M.K., Cizza, G., Shih, W.J., Genco, R., Lombardi, A. (2007) Efficacy of bisphosphonates for the control of alveolar bone loss in periodontitis. *J Int Acad Periodontol.*, 9, 70-76.
148. El-Shinnawi, U.M., El-Tantawy, S.I. (2003) The effect of alendronate sodium on alveolar bone loss in periodontitis (clinical trial). *J Int Acad Periodontol.*, 5, 5-10.
149. Lane, N., Armitage, G.C., Loomer, P., Hsieh, S., Majumdar, S., Wang, H.Y., Jeffcoat, M., Munoz, T. (2005). Bisphosphonate therapy improves the outcome of conventional periodontal treatment: results of a 12-month, randomized, placebo-controlled study. *J Periodontol.*, 76(7), 1113-1122.
150. Menezes, A.M., Rocha, F.A., Chaves, H.V., Carvalho, C.B., Ribeiro, R.A., Brito, G.A. (2005). Effect of sodium alendronate on alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.*, 76, 1901-1909.
151. Reddy, M.S., Weatherford, T.W., Smith, C.A., West, B.D., Jeffcoat, M.K., Jacks, T.M. (1995). Alendronate treatment of naturally-occurring periodontitis in beagle dogs. *J Periodontol.*, 66, 211-217.
152. Weinreb, M., Quartuccio, H., Seedor, J.G., Aufdemorte, T.B., Brunsvold, M., Chaves, E., Kornman, K.S., Rodan, G.A. (1994). Histomorphometrical analysis of the effects of the bisphosphonate alendronate on bone loss caused by experimental periodontitis in monkeys. *J Periodontol.*, 29, 35-40.
153. Yaffe, A., Fine, N., Alt, I., Binderman, I. (1995). The effect of bisphosphonate on alveolar bone resorption following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats. *J Periodontol.*, 66, 999-1003.
154. Yaffe, A., Fine, N., Binderman, I. (1994). Regional accelerated phenomenon in the mandible following mucoperiosteal flap surgery. *J Periodontol.*, 65, 79-83.
155. Reddy, G.T., Kumar, T.M., Veena, K.M. (2005). Formulation and evaluation of alendronate sodium gel for the treatment of bone resorptive lesions in periodontitis. *Drug Deliv.*, 12, 217-222.
156. Binderman, I., Adut, M., Yaffe, A. (2000). Effectiveness of local delivery of alendronate in reducing alveolar bone loss following periodontal surgery in rats. *J Periodontol.*, 71, 1236-1240.

157. Marx, R.E. (2007). Oral & Intravenous Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaws. History, Etiology, Prevention, and Treatment. Illinois: Quintessence.
158. Neville-Webbe, H.L., Gnant, M., Coleman, R.E. (2010). Potential anticancer properties of bisphosphonates. *Seminars in oncology*, 37(1), 53-65.
159. Boissier, S., Magonetto, S., Frappart, L., Cuzin, B., Ebetino, F.H., Delmas, P.D., Clezardin, P. (1997). Bisphosphonates inhibit prostate and breast carcinoma cell adhesion to unmineralized and mineralized bone extracellular matrices. *Cancer Res.*, 15;57(18), 3890-3894.
160. Boissier, S., Ferreras, M., Peyruchaud, O., Magonetto, S., Ebetino, F.H., Colombel, M. (2000). Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *Cancer Res.*, 60, 2949-2954.
161. Kurt, A.K., Drake, M.T. (2009). *Adverse Effects of Bisphosphonates: Implications for Osteoporosis Management* Mayo Clinic Proceedings., 84(7), 632-638.
162. Woo, S.B., Hellstein, J.W.(2006). Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med.*, 144(10), 753-761.
163. Spanou, A., Lyritis, G.P., Chronopoulos, E., Tournis, S. (2015). Management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. A literature review. *Oral Dis*.
164. Vidal-Real, C., Pérez-Sayáns, M., Suárez-Peñaranda, J.M., Gándara-Rey, J.M., García-García, A.(2015). Osteonecrosis of the jaws in 194 patients who have undergone intravenous bisphosphonate therapy in Spain. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*.
165. Katz, J., Ordoveza, P.A.(2014). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) associated with a once-yearly IV infusion of zoledronic acid (Reclast) 5 mg: two cases and review of the literature. *Quintessence Int.*, 45(8), 685-690.
166. Cheng, A., Mavrokokki, A., Carter, G., Stein, B., Fazzalari, N.L., Wilson, D.F Goss, A.N. (2005). The Dental implications of Bisphosphonates and Bone Disease. *Aust Dent J.*, 50(4), 4-13.

167. Şenel, F.Ç., Baltacıoğlu, E., Basmacı, F.Ç., Bağış, B., Özkaynak, Ö., Tosun, E. (2007). Bisphosphonat Related Jaw Necrosis and Dental Management. *ADO Journal of Clinical Sciences*, 1, 4.
168. Schwartz, H.C. (2005). Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg.*, 63, 1555-1558.
169. Schuster, M.W., Dymek, J.M. (2004). Oral cavity avascular bone necrosis: a newly recognized complication of intravenous (IV) bisphosphonate therapy in cancer patients; *Blood*, 104(11), (abstract 4905).
170. Baslé, M.F., Grizon, F., Pascaretti, C., Lesourd, M., Chappard, D. (1998). Shape and orientation of osteoblast-like cells (Saos-2) are influenced by collagen fibers in xenogenic bone biomaterial. *J Biomed Mater Res.*, 40, 350-357.
171. Hallman, M., Lundgren, S., Sennerby, L. (2001). Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue. *Clin Implant Dent Relat Res.*, 3(2), 87-96.
172. Buser, D., Hoffmann, B., Bernard, J.P., Lussi, A., Mettler, D., Schenk, R.K. (1998). Evaluation of filling materials in membrane-protected bone defects. *Clin Oral Impl Res.*, 9, 137-150.
173. Pretorius, J.A., Melsen, B., Nel, J.C., Germishuys, P.J. (2005). A histomorphometric evaluation of factors influencing the healing of bony defects surrounding implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 20, 387-398.
174. Geurs, N.C., Korostoff, J.M., Vassilopoulos, P.J., Kang, T.H., Jeffcoat, M., Kellar, R., Reddy, M.S. (2008). Clinical and histologic assessment of lateral alveolar ridge augmentation using a synthetic long-term bioabsorbable membrane and an allograft. *J Periodontol.*, 79, 1133-1140.
175. Iturriaga, M. (2004). Maxillary Sinus Reconstruction With Calvarium Bone Grafts And Endosseous Implants. *J Oral Maxillofac Surg.*, 62, 344-347.
176. Nkenke, E., Schultze-Mosgau, S., Radespiel-Tröger, M., Kloss, F., Neukam, F.W. (2001). Morbidity of harvesting of chin grafts: a prospective study. *Clin Oral Impl Res.*, 12, 495– 502.

177. Schultze-Mosgau, S., Keweloh, M., Wiltfang, J., Kessler, P., Neukam, F.W. (2001). Histomorphometric and densitometric changes in bone volume and structure following avascular bone grafting in the extremely atrophic maxilla. *Br J Oral Maxillofac Surg.*, 39(6), 439-447.
178. Smiler, D., Soltan, M. (2006). The bone-grafting decision tree: a systematic methodology for achieving new bone. *Implant Dent.*, 15(2), 122-128.
179. Burwell, R.G. (1964). Studies in the transplantation of bone. VII. The fresh composite homograft autograft of cancellous bone. An analysis of factors leading to osteogenesis in marrow transplants and in marrow-containing bone grafts. *J Bone Joint Surg Br.*, 46-B, 110-140.
180. Finkemeier, C.G. (2002). Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am.*, 84-A(3), 454-464
181. Tomford, W.W., Thongphasuk, J., Mankin, H.J., Ferraro, M.J. (1990). Frozen musculoskeletal allografts. A study of the clinical incidence and causes of infection associated with their use. *J Bone Joint Surg Am.*, 72(8), 1137-1143.
182. Ashammakhi, N., Ferretti, P. (2003). *Topics in tissue engineering. Volume I (Electronic book)*, Chapter 7, 1-46.
183. Boyne, P.J., Peetz, M. (1997). *Osseous Reconstruction of the Maxilla and the Mandible Surgical Techniques Using Titanium Mesh & Bone Mineral*, Michigan: Quintessence Publishing., 87-100.
184. Becker, W. (2003). Treatment of small defects adjacent to oral implants with various biomaterials. *Periodontology 2000*, 33, 26-35.
185. Gupta, R., Pandit, N., Malik, R., Sood, S. (2007). Clinical and radiological evaluation of an osseous xenograft for the treatment of infrabony defects. *J Can Dent Assoc.*, 73(6), 513.
186. Yuan, Z., Zhao, L., Hu, Y.Y., Liu, J., Sun, L., Li, D., Lian, K., Lu, R. (2003). Anti-infective reconstituted bone xenograft used for primary bone grafting to repair contaminated defect in the radius in dogs. *Chin J Traumatol.*, 6(2), 86-90.
187. Kim do, K., Lee, S.J., Cho, T.H., Hui, P., Kwon, M.S., Hwang, S.J. (2010). Comparison of a synthetic bone substitute composed of carbonated apatite with

- an anorganic bovine xenograft in particulate forms in a canine maxillary augmentation model. *Clin Oral Implants Res.*, 21(12), 1334-1344.
188. Testori, T., Wallace, S.S., Trisi, P., Capelli, M., Zuffetti, F., Del Fabbro, M. (2013). Effect of xenograft (ABBM) particle size on vital bone formation following maxillary sinus augmentation: a multicenter, randomized, controlled, clinical histomorphometric trial. *Int J Periodontics Restorative Dent.*, 33(4), 467-475.
189. Rodriguez, A., Anastassov, G.E., Lee, H., Buchbinder, D., Wettan, H. (2003). Maxillary sinus augmentation with deproteinated bovine bone and platelet rich plasma with simultaneous insertion of endosseous implants. *J Oral Maxillofac Surg.*, 61(2), 157-163.
190. Kim, Y.K., Yun, P.Y., Kim, S.G., Kim, B.S., Ong, J.L. (2009). Evaluation of sinus bone resorption and marginal bone loss after sinus bone grafting and implant placement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 107(2), 21-28.
191. Pang, C., Ding, Y., Zhou, H., Qin, R., Hou, R., Zhang, G., Hu, K. (2014). Alveolar ridge preservation with deproteinized bovine bone graft and collagen membrane and delayed implants. *J Craniofac Surg.*, 25(5), 1698-1702.
192. Schmitt, C.M., Moest, T., Lutz, R., Neukam, F.W., Schlegel, K.A. (2014) Anorganic bovine bone (ABB) vs. autologous bone (AB) plus ABB in maxillary sinus grafting. A prospective non-randomized clinical and histomorphometrical trial. *Clin Oral Implants Res.*
193. Rickert, D., Vissink, A., Slot, W.J., Sauerbier, S., Meijer, H.J., Raghoobar, G.M. (2014). Maxillary sinus floor elevation surgery with BioOss[®] mixed with a bone marrow concentrate or autogenous bone: test of principle on implant survival and clinical performance. *Int J Oral Maxillofac Surg.*, 43(2), 243-247.
194. Liu, H.Y., Zheng, H., Hou, X.P., Zhong, W.J., Ying, X.X., Chai, S.L., Ma, G.W. (2014). Bio-Oss(®) for delayed osseointegration of implants in dogs: a histological study. *Br J Oral Maxillofac Surg.*, 52(8), 729-734.

195. Beltrán, V., Engelke, W., Dias, F.J., Leiva, C., Fuentes, R., Borie, E. (2014). Occlusive barriers in combination with particulate Bio-Oss® graft: a pilot study on rabbit calvaria. *Int J Clin Exp Med.*, 7(7), 1714-1720.
196. Sevil, F., Kara, M.E. (2010). The effects of ovariectomy on bone mineral density, geometrical, and biomechanical characteristics in the rabbit femur. *Vet Comp Orthop Traumatol.*, 23(1), 31-36.
197. Pearce, A.I., Richards, R.G., Milz, S., Schneider, E., Pearce, S.G. (2007). Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater.*, 13, 1-10.
198. Neyt, J.G., Buckwalter, J.A., Carroll, N.C. (1998). Use of animal models in musculoskeletal research. *Iowa Orthop J.*, 18, 118-123.
199. International ISO Standard 10993-6:2007. Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation, http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=44789
200. Gilsanz, V., Roe, T.F., Gibbens, D.T., Schulz, E.E., Carlson, M.E., Gonzalez, O., Boechat, M.I. (1988). Effect of sex steroids on peak bone density of growing rabbits. *Am J Physiol.*, 255, 416-421.
201. Tsetsenekou, E., Papadopoulos, T., Kalyvas, D., Papaioannou, N., Tangl, S., Watzek, G. (2012). The influence of alendronate on osseointegration of nanotreated dental implants in New Zealand rabbits. *Clin Oral Implants Res.*, 23(6), 659-666.
202. Mustafa, A., Lung, C.Y., Mustafa, N.S., Mustafa, B.A., Kashmoola, M.A., Zwahlen, R.A., Matinlinna, J.P. (2014). EPA-coated titanium implants promote osteoconduction in white New Zealand rabbits. *Clin Oral Implants Res.*
203. Elkarargy, A. (2014). Biological functionalization of dental implants with fibronectin: a scanning electron microscopic study. *Int J Health Sci (Qassim).*, 8(1), 57-66.
204. Cai, W.X., Ma, L., Zheng, L.W., Kruse-Gujer, A., Stübinger, S., Lang, N.P., Zwahlen, R.A. (2014). Influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on osseointegration of dental implants in rabbit calvaria. *Clin Oral Implants Res.*

205. Iwaniec, U.T., Wronski, T.J., Turner, R.T. (2008). Histological analysis of bone. *Methods Mol Biol.*, 447, 325-341.
206. Kulak, C.A., Dempster, D.W. (2010). Bone histomorphometry: a concise review for endocrinologists and clinicians. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*, 54(2), 87-98.
207. Hsu, J.T., Chen, Y.J., Ho, J.T., Huang, H.L., Wang, S.P., Cheng, F.C., Wu, J., Tsai, M.T. (2014). A comparison of micro-CT and dental CT in assessing cortical bone morphology and trabecular bone microarchitecture. *PLoS One.*, 16, 9(9).
208. Feldkamp, L.A., Goldstein, S.A., Parfitt, A.M., Jesion, G., Kleerekoper, M. (1989). The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *J Bone Miner Res.*, 4(1), 3-11.
209. Britz, H.M., Jokihaara, J., Leppänen, O.V., Järvinen, T., Cooper, D.M. (2010). 3D visualization and quantification of rat cortical bone porosity using a desktop micro-CT system: a case study in the tibia. *J Microsc.*, 240(1), 32-37.
210. Swain, M.V., Xue, J. (2009). State of the art of Micro-CT applications in dental research. *Int J Oral Sci.*, 1(4), 177-188.
211. Jang, E.S., Park, J.W., Kweon, H., Lee, K.G., Kang, S.W., Baek, D.H., Choi, J.Y., Kim, S.G. (2010). Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 109(6), 831-836.
212. Lee, J.W., Kim, S.G., Kim, J.Y., Lee, Y.C., Choi, J.Y., Dragos, R., Rotaru, H. (2012). Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.*, 113(4), 459-463.
213. Zhang, R., An, Y., Toth, C.A., Draughn, R.A., Dimaano, N.M., Hawkins, M.V. (2004). Osteogenic protein-1 enhances osseointegration of titanium implants coated with peri-apatite in rabbit femoral defect. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.*, 71(2), 408-413.
214. Wang, H.L. (1998). Principles in guided bone regeneration. *Dent Implantol Update.*, 9(5), 33-37.

215. Pretorius, J.A., Melsen, B., Nel, J.C., Germishuys, P.J. (2005). A histomorphometric evaluation of factors influencing the healing of bony defects surrounding implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 20(3), 387-398.
216. Shin, S.I., Herr, Y., Kwon, Y.H., Chung, J.H. (2013). Effect of a collagen membrane combined with a porous titanium membrane on exophytic new bone formation in a rabbit calvarial model. *J Periodontol.*, 84(1), 110-116.
217. Altman, A., de Bakker, C.M., Tseng, W.J., Chandra, A., Qin, L., Liu, X. (2014). Enhanced Individual Trabecular Repair and Its Mechanical Implications in PTH and Alendronate Treated Rat Tibial Bone. *J Biomech Eng.*
218. Tarafder, S., Bose, S. (2014). Polycaprolactone-coated 3D printed tricalcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering: in vitro alendronate release behavior and local delivery effect on in vivo osteogenesis. *ACS Appl Mater Interfaces.*, 6(13), 9955-9965.
219. Patntirapong, S., Singhatanadgit, W., Arphavasin, S. (2014). Alendronate-induced atypical bone fracture: evidence that the drug inhibits osteogenesis. *J Clin Pharm Ther.*, 39(4), 349-353.
220. Boby, J.D., Hacking, S.A., Krygier, J.J., Harvey, E.J., Little, D.G., Tanzer, M. (2005). Zoledronic acid causes enhancement of bone growth into porous implants. *J Bone Joint Surg Br.*, 87 (3), 416-420.
221. von Knoch, M., Wedemeyer, C., Pingsmann, A., von Knoch, F., Hilken, G., Sprecher, C., Henschke, F., Barden, B., Löer, F. (2005). The decrease of particle-induced osteolysis after a single dose of bisphosphonate. *Biomaterials.*, 26(14), 1803-1808.
222. Harmankaya, N., Karlsson, J., Palmquist, A., Halvarsson, M., Igawa, K., Andersson, M., Tengvall, P. (2013). Raloxifene and alendronate containing thin mesoporous titanium oxide films improve implant fixation to bone. *Acta Biomater.*, 9(6), 7064-7073.
223. Rao, S.K., Rao, A.P. (2014). A literature review and case series of accelerating fracture healing in postmenopausal osteoporotic working women. *J Orthop.* 18,11(3), 150-152.

224. Ross, R.D., Hamilton, J.L., Wilson, B.M., Sumner, D.R., Viridi, A.S. (2014). Pharmacologic augmentation of implant fixation in osteopenic bone. *Curr Osteoporos Rep.*, 12(1), 55-64.
225. Fernández, A.A., Herion, F., Rompen, E., Reginster, J.Y., Magremanne, M., Lambert, F. (2014). Dramatic osteonecrosis of the jaw associated with oral bisphosphonates, periodontitis and dental implant removal. *J Clin Periodontol.*
226. Kharazmi, M., Hallberg, P., Warfvinge, G., Michaëlsson, K. (2014). Risk of atypical femoral fractures and osteonecrosis of the jaw associated with alendronate use compared with other oral bisphosphonates. *Rheumatology (Oxford)*, 53(10), 1911-1913.
227. Bamias, A., Kastritis, E., Bamia, C., Moulopoulos, L.A., Melakopoulos, I., Bozas, G., Koutsoukou, V., Gika, D., Anagnostopoulos, A., Papadimitriou, C., Terpos, E., Dimopoulos, M.A. (2005). Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *J Clin Oncol.*, 23, 8580-8587.
228. Ruggiero, S.L., Mehrotra, B., Rosenberg, T.J., Engroff, S.L. (2004). Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg.*, 62(5), 527-534.
229. Markiewicz, M.R., Margarone, J.E. 3rd, Campbell, J.H., Aguirre, A. (2005). Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a review of current knowledge. *J Am Dent Assoc.*, 136(12), 1669-1674.
230. Tabari, E., Sikavi, C. (2014). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: what we have learned. *Alpha Omegan.*, 107(2), 8-15.
231. Reid, I.R. (2009). Osteonecrosis of the jaw — Who gets it, and why? *Bone.*, 44, 4–10.
232. Fan, T.M. (2009). Intravenous aminobisphosphonates for managing complications of malignant osteolysis in companion animals. *Top Companion Anim Med.*, 24, 151-156.
233. Manfredi, M., Merigo, E., Guidotti, R., Meleti, M., Vescovi, P. (2011). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a case series of 25 patients affected by osteoporosis. *Int J Oral Maxillofac Surg.*, 40, 277-284.

234. Jakobsen, T., Baas, J., Kold, S., Bechtold, J.E., Elmengaard, B., Søballe, K. (2009) Local bisphosphonate treatment increases fixation of hydroxyapatite-coated implants inserted with bone compaction. *J Orthop Res.*,27(2), 189-194.
235. Meraw, S.J., Reeve, C.M., Wollan, P.C. (1999). Use of alendronate in peri-implant defect regeneration. *J Periodontol.*, 70(2), 151-158.
236. Srisubut, S., Teerakapong, A., Vattraphodes, T., Taweechaisupapong, S. (2007). Effect of local delivery of alendronate on bone formation in bioactive glass grafting in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 104(4), 11-16.

EKLER

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Orhan GEÇÖR
Doğum Yeri ve Tarihi: Kilis-1984
Medeni Hali: Evli
Yabancı Dil: İngilizce
İletişim Adresi: İnönü Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 44280-Malatya
E-posta Adresi: ogecor@yahoo.com

Eğitim ve Akademik Durumu

İlköğretim: İstanbul Fındıkzade İlköğretim Okulu
1991-1999
Orta Öğretim: İstanbul Bahçelievler Dede Korkut Anadolu Lisesi
1999-2003
Lisans ve Yüksek Lisans: İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
2003-2008
Doktora: İnönü Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı ve Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi ortak doktora programı 2010-2015
İş Tecrübesi: Yedek Subay Olarak Askerlik Görevi
2008-2009
İnönü Üniversitesi Araştırma Görevlisi
2012-2015

EK.2: Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 29-07-2013
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2013/A-66
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Tavşan
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyu : Yeni Zelanda Tavşanı
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 20 Adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : Ortalama 12ay/2.5kg

Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Serkan POLAT'ın yürütücüsü olduğu "PERİ İMPLANT DEFEKTLERDE REZORBE OLABİLEN MEMBRAN İLE BİRLİKTE KULLANILAN FARKLI MATERYALLERİN YENİ KEMİK OLUŞUMUNDAKİ ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI" isimli 2013/A-66 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ Başkan	Doç. Dr. Yılmaz ÇİGREMİŞ Üye	Doç. Dr. Abdurrahman KARAMAN Üye
Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ Üye	Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
Salih AVCI Sivil Üye	Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye	