

T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**KEMİK DEFİKTLERİNDE ABM/P-15 İLE LOKAL
ALENDRONATIN KOMBİNE KULLANIMININ HİSTOPATOLOJİK
OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ
Dt. Ceren ALİKAYA

Ankara, 2006

T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Periodontoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19/01/2006

**Kemik Defektlerinde ABM/P-15 ile Lokal Alendronatın Kombine Kullanımının
Histopatolojik Olarak İncelenmesi**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Şule Bulut

Tez Jürisi Üyeleri:

Doç. Dr. Şule Bulut

Prof. Dr. Dilek Şengün

Prof. Dr. İ. Sina Uçkan

Doç. Dr. Beyazıt Bağcı

Doç. Dr. Handan Özdemir

İmzası

.....

.....

.....

.....

.....

ONAY:

Bu tez Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri

üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu'nun / /

Tarihi ve SBE/ / sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**KEMİK DEFİKTLERİNDE ABM/P-15 İLE LOKAL
ALENDRONATIN KOMBİNE KULLANIMININ HİSTOPATOLOJİK
OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ
Dt. Ceren ALİKAYA

TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. Şule BULUT

Proje numarası
D-DA03/01

Ankara, 2006

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince ve özellikle bu tez çalışmasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, sevgi ve hoşgörüsü ile daima her konuda bana destek olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Şule BULUT,

Bilgi ve tecrübelerini paylaşarak biz öğrencilerine ayrıcalık kazandıran değerli hocam Sayın Doç. Dr. Bayazıt BAĞCI'ya,

Bilgisi ve sabrıyla desteğini hiç bir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Emine ALAADDİNOĞLU'na,

Tez çalışmam süresince fikirleri ile yol gösteren, bilgisi ve sabrıyla her zaman yardımcı olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Engin BULUT'a

Tez çalışmamın gelişiminde ve patolojik değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Handan ÖZDEMİR'e,

Tez çalışmamın istatistiksel değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd.Doç. Dr. Ersin ÖĞÜŞ'e,

Öğrenim hayatım boyunca bilgi ve sevgilerini benimle paylaşan tüm hocalarıma,

Bu çalışmanın deney aşamasında ve zorlandığım birçok anda içtenlikle yardım eden dönem arkadaşım Dr. Kıvanç SAVAŞAN'a,

Keyifli anları paylaştığım ve zor zamanlarda hep yanımda olan canım arkadaşım Dr. Emel ÖNAY'a,

Sevgileri ve yardımları her zaman benimle olan tüm arkadaşlarıma,

çok teşekkür ederim.

Tüm yaşamım boyunca olduğu gibi doktora eğitimim sırasında da sonsuz sevgileri ile yanımda olan, her açıdan örnek aldığım ve gurur duyduğum, canım anneme ve babama,

ithaf ediyorum.

ÖZET

Periodontitis ve periimplantitis sonucu diş ve dental implantların etrafındaki kemik dokusunda yıkım olmakta ve bu yıkım ile doğru orantılı olarak diş veya dental implantlarda kayıplar söz konusu olmaktadır. Klasik tedavilerle hastalığın ilerlemesini durdurmak söz konusu olsa da kayıp dokuların yeniden kazandırılması için rejeneratif tedaviler uygulanmaktadır. Rejeneratif tedavilerde rutin olarak kullanılan kemik greftleri ile başarılı sonuçlar elde edilse de etkilerini artırmak amaçlı kombine tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada kemik greftinin başarısını artırmak amaçlı lokal olarak bifosfonat grubu ilaçlardan biri olan alendronat sodyum kullanılmıştır. Bifosfonatlar kemik metabolizmasını etkileyerek kemik yıkımını önlemekte ve birçok hastalığın tedavisinde sistemik olarak kullanılmaktadır. Bu çalışma, alendronat sodyumun, lokal olarak greftle beraber kullanımının kemik oluşumuna ve inflamasyona olan etkisinin incelenmesi için planlanmıştır. Bu amaçla 30 adet ratta, 3 mm çaplı deneysel kemik defektleri oluşturulmuş ve sağ mandibuladaki defekt bölgesine alendronat emdirilmiş ABM/P-15 kemik grefti, sol mandibuladaki defekt bölgesine ise sadece salinle nemlendirilmiş ABM/P-15 kemik grefti yerleştirilmiştir. Ratlar, işlemden sonraki 2., 4. ve 6. haftalarda sakrifiye edilmiştir. Örneklerden elde edilen kesitler, hematoxilen ve eozin ile boyanarak iltihabi hücre infiltrasyonu, osteoklast ve osteoblast yoğunluğu açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca immunohistokimyasal çalışma ile iltihabi hücreler, osteoblastlar ve epitel hücreleri cox-2 boyanması açısından incelenmiştir. Sonuçlarda, kemik grefti ile beraber lokal uygulanan alendronat sodyumun osteoklast sayısını artırdığı, osteoblast sayısını azalttığı ve cox-2 ekspresyonunu baskıladığı gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Alendronat, ABM/P-15, siklooksijenaz-2

ABSTRACT

As a result of periodontitis and periimplantitis, destruction occurs in the bone tissue around dental implants and this destruction causes loss of teeth or dental implants. Although it is possible to stop the disease in traditional treatments, regenerative treatments are applied to gain the lost tissues back. Successful results are obtained with usual bone grafts, still, combined treatments are necessary to increase the effects of the treatment. In this study, alendronate sodium, one of the medicines of the bisphosphonate group, is used locally to increase the success of the bone grafts. Bisphosphonates prevent destruction of bones by affecting the bone metabolism and are used in the treatment of a number of diseases systematically. This study aims to investigate the effects of local use of alendronate sodium together with grafts, on bone formation and inflammation. With this purpose, experimental bone defects of 30 mm diameter are formed in 30 rats. ABM/P- 15 bone grafts saturated with alondronate are placed in the defective region in the right mandibula, and ABM/P- 15 bone grafts damped with only saline are placed in the left mandibula. The rats are sacrificed in the 2nd, 4th and 6th weeks. The sections obtained from the samples are dyed with hematoxiline and eosine, and evaluated for inflammatory cell infiltration, and osteoclast and osteoblast density. In addition, with an immunohistochemical research, inflammatory cells, osteoblasts and epithelial cells are studied by cox-2 dying. The results obtained indicated that the local application of alendronate sodium along with bone grafts increased the number of osteoclasts, decreased the number of osteoblasts and supressed cox-2 expressions.

Key words: Alendronate, ABM/P-15, cyclooxygenase-2

İÇİNDEKİLER

İç kapak

Kabul ve onay

Teşekkür.....iii

Özet.....v

Abstract.....vi

İçindekiler.....vii

Kısaltmalar ve Simgeler.....ix

Şekiller.....x

Tablolar.....xii

1. GİRİŞ ve AMAÇ.....1

2. GENEL BİLGİLER.....3

2.1 Periodontitis ve Periimplantitis.....3

2.2 Kemik Dokusu.....8

2.3 Kemik Grefti ve Kullanımı.....12

2.4 Bifosfonatlar.....16

3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	22
3.1 Çalışma Grupları.....	22
3.2 Cerrahi İşlem.....	23
3.3 Alendronat Emdirilmiş ABM/P-15 Greft Materyalinin Hazırlanması.....	27
3.4 Hayvanların Bakımı.....	27
3.5 Doku Takibi ve Değerlendirilmesi.....	27
3.6 İstatistiksel Değerlendirmeler.....	29
4. BULGULAR.....	30
4.1 Histopatolojik Sonuçlar.....	30
4.2 İstatistiksel Sonuçlar.....	38
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇLAR.....	67
7. KAYNAKLAR.....	68

KISALTMALAR ve SİMGELER

PMN: Polimorfonükleer lökosit

PG: Prostaglandin

MMP: Matriks metalloproteinaz

IL: İnterleukin

TNF: Tumour nekrosis faktör

COX: Siklooksijenaz

NSAID: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç

SRP: Diştaşı temizliğ ve kök yüzeyi düzeltmesi

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 2.1.1. Araşidonik asit metabolizması.....	5
Şekil 2.2.2. Siklooksijenaz yolu.....	6
Şekil 2.4.1. Pirofosfat ve bifosfonatların kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.4.1.1. Alendronatın kimyasal yapısı.....	19
Şekil 3.2.1. Ekstraoral yapılan insizyon.....	24
Şekil 3.2.2. Korpus mandibula.....	24
Şekil 3.2.3. 3 mm çapındaki kemik defektinin hazırlanması.....	25
Şekil 3.2.4. Kemik defekti.....	25
Şekil 3.2.5. Kemik grefti yerleştirilmesi.....	26
Şekil 3.2.6. Kemik defektinin kapatılması.....	26
Şekil 4.1.1. 4. hafta kontrol grubuna ait bu örnekte az sayıda (derece1) osteoklast izlenmektedir (H&E).....	36
Şekil 4.1.2. 4. hafta deney grubuna ait bu örnekte çok sayıda (derece3) osteoklast izlenmektedir (H&E).....	36
Şekil 4.1.3. 6. hafta kontrol grubuna ait bu örnekte az sayıda (derece1/ince ok) osteoklast ve çok sayıda (derece3) osteoblast izlenmektedir (H&E).....	36

Şekil 4.1.4. 6. hafta deney grubuna ait bu örnekte az sayıda (derece1) osteoblast izlenmektedir (H&E).....	36
Şekil 4.1.5. 2. hafta kontrol grubuna ait bu örnekte cox-2 ile osteoblastlarda belirgin boyanma izlenmektedir.....	37
Şekil 4.1.6. 2. hafta kontrol grubuna ait bu örnekte cox-2 ile inflamatuvar hücrelerde (yıldız) ve çok sayıda izlenen osteoblastlarda belirgin boyanma izlenmektedir.....	37
Şekil 4.1.7. 2. hafta deney grubuna ait bu örnekte cox-2 ile sayıca orta derecede olan osteoblastlarda boyanma izlenmektedir.....	37
Şekil 4.1.8. 4. hafta deney grubuna ait bu örnekte cox-2 ile sayıca az derecede olan osteoblastlarda boyanma izlenmektedir.....	37

TABLolar

	Sayfa No
Tablo 4.1.1. Osteoblast yoğunluğunun derecelenmesi.....	33
Tablo 4.1.2. Osteoklast yoğunluğunun derecelenmesi.....	33
Tablo 4.1.3. Stomada izlenen iltihabi hücre infiltrasyonunun derecelenmesi.....	34
Tablo 4.1.4. Cox-2 ile boyanma gösteren osteoblastların değerlendirilmesi	34
Tablo 4.1.5. Cox-2 ile boyanma gösteren iltihabi hücrelerin değerlendirilmesi.....	35
Tablo 4.1.6. Döşeyici epitelde cox-2 boyanma değerlendirilmesi.....	35

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Periodontitis ve periimplantitis periodontolojide tedavisi amaçlanan ve sıkça görülen iki çeşit hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Periodontitis, konak inflamatuvar ve immünolojik reaksiyonların, bir veya birçok patojene karşı oluşmasıyla başlayan, bağ dokusu ataçmanı ve kemik kaybı ile karakterize diş destek dokuları hastalığıdır (Newman ve ark., 2002 p.: 62).

Periodontitisin tedavisi, hastalığın primer etkeni olduğu düşünülen patojen mikroorganizmaların azaltılması veya eliminasyonu yönünde olmaktadır (Newman ve ark., 2002 p.: 507). Ancak hastalık durdurulsa da kaybedilen dokuların yeniden oluşturulması oldukça zordur. Periimplantitis ise periodontitise benzer şekilde implant etrafında gelişen yumuşak doku inflamasyonu ile beraber kemik doku kaybının gözlendiği bir hastalıktır (Newman ve ark., 2002 p.: 931).

Diş ve dental implantların etrafındaki sert dokuyu oluşturan kemik dokusu, mineralize olmuş ekstrasellüler matriks ile hücrelerin bir bütün oluşturduğu özelleşmiş bir bağ dokusudur (Jungueira ve ark., 1992 p.: 170). Periodontitis ve periimplantitis sonucu diş ve dental implantların etrafındaki kemik dokusunda yıkım olmakta ve bu yıkım ile doğru orantılı olarak diş veya dental implantlarda kayıplar söz konusu olmaktadır (Khoury ve Buchmann, 2001; Al-Shammari ve ark., 2005).

Kayıp kemik dokusunun, yeniden kazandırılması ve kemik oluşumunun hızlandırılması periodontoloji ve implantoloji için tedavi sürecinin en önemli parçalarını oluşturmaktadır. Bu amaçla kemik rejenerasyonunda çeşitli tedavi teknikler kullanılmaktadır (Khoury ve Buchmann, 2001; Simonpietri-C ve ark., 2000; Cortellini ve Tonetti, 2004).

Rejeneratif tedavilerin başarı oranını yükseltmek amacıyla yeni ve kombine teknikler araştırılmaktadır (Blunmethal ve ark., 2002; Cochran ve ark., 2003; Walters ve ark., 2003). Bu noktada osteoporoz, Paget hastalığı, kortikosteroidle bağlı kemik kaybı ve metastatik kemik hastalıklarında başarıyla kullanılan bifosfonatlar dişhekimliğinde dikkat çekmekte ve kemik metabolizmasını değiştirebilen bu ilaçlar, yeni bir tedavi yaklaşımı olarak görülmektedir (Meraw ve ark., 1999; Binderman ve ark., 2000; Lane ve ark., 2005).

Bifosfonatların, dişhekimliğinde lokal kullanımına yönelik az sayıda araştırmanın sonuçları rapor edilmiştir. Ancak, bifosfonatların dişhekimliğinde lokal kullanımının rutin bir yapı kazanabilmesi için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır (Yaffe ve ark., 1997; Binderman ve ark., 2000; Kaynak ve ark., 2000).

Yapılan bu araştırmada bifosfonat grubu ilaçlardan biri olan alendronat, sentetik kollajen ve hidroksiapatit kombinasyonundan meydana gelen alloplastik bir greft materyaline emdirilerek; oluşturulan kemik defekti içerisine lokal olarak uygulanmıştır. Bu uygulamanın amacı, iyileşme süresince alendronatın kemik hücreleri ve bölgedeki inflamasyon üzerine olan etkisini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontitis ve Periimplantitis

Periodontitis, konak inflamatuvar ve immünolojik reaksiyonların, bir veya birçok patojene karşı oluşmasıyla başlayan, bağ dokusu ataçmanı ve kemik kaybı ile karakterize diş destek dokuları hastalığıdır. Ataçman ve kemik kaybının şiddeti, kişiden kişiye, aynı kişinin farklı bölgelerinde ve aynı bölgedeki farklı zamanlarda değişiklik gösterebilmektedir. Genel olarak kabul edilen, periodontitisin oluşması için hastalık oluşturan mikroorganizmaların varlığının gerekmesidir (Newman ve ark., 2002 p.: 62)

Hastalığın başlangıcında patojen mikroorganizmalar ve ürünleri doku yıkımında etkilidirler. Daha sonra ise patojen bakterilerin varlığı ile çeşitli şekillerdeki konağa bağlı doku yıkımı başlamaktadır. Polimorfonükleer lökositler (PMNs) normalde koruma fonksiyonunu sağlarken bu aşamada kollajenin yıkımına neden olan enzimler salgılamaya başlamaktadır. Diğer konak hücreleri de (monosit, lenfosit, fibroblast vb.), bakteri lipopolisakkaritlerinin stimülasyonu ile araziidonik asit metabolitlerinden olan prostaglandin E₂ (PGE₂) gibi katabolik sitokinleri ve inflamatuvar medyatörleri salgılamaktadırlar. Bu sitokinler ve inflamatuvar medyatörler ise, matriks metalloproteinazlar (MMPs) gibi ekstrasellüler matriks ve kemiği, yıkıma uğratan doku enzimlerinin salınımına neden olmaktadır. Bütün bu sitokin ve medyatörler arasında periodontitiste en etkili olanları arasında interleukin-1(IL-1), IL-6, IL-8, tumour nekrosis faktör (TNF- α) ve PGE₂ sayılmaktadır (The American Academy of Periodontology, 1999).

Periodontal hastalık sonucu oluşan doku yıkımına bakıldığında mikroorganizmaların stimülasyonu ile lökosit ve endotelial hücreler aktive olarak gingival inflamasyonun ilk belirtisi olan damarsal değişikliklerin başladığı

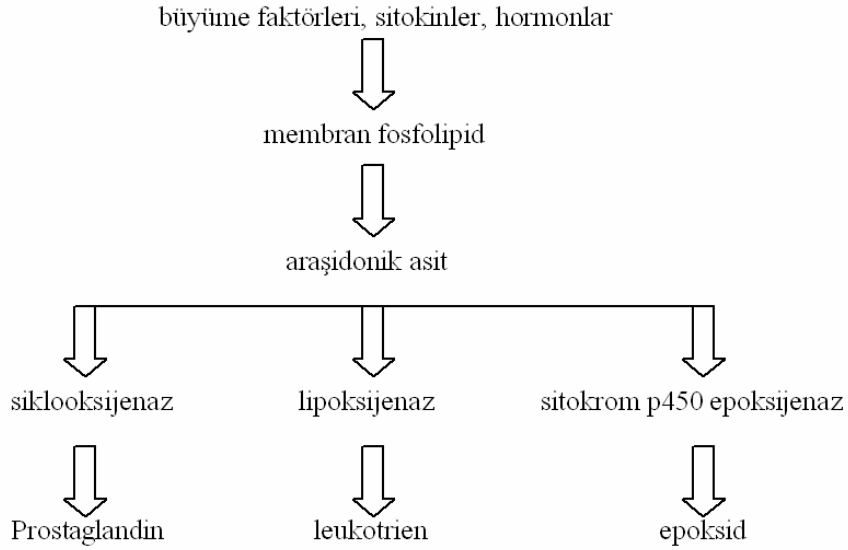
görülmektedir. Sonrasında kollajen yıkımı ve sırasıyla lökosit, lenfosit ve plazma hücresi artışı izlenmektedir. Marjinal dişetindeki inflamasyonun periodontal dokulara doğru genişlemesine bağlı olarak kemik yıkımı gözlenmektedir. Periodontal hastalıktaki kemik rezorpsiyonu bir nekroz süreci değil, yaşayan kemik boyunca görülen hücre aktivitesini içeren bir süreçtir. Gingival inflamasyon, gevşek yumuşak doku içersinde, kollajen lifler arasından kan damarlarını takip ederek alveoler kemiğe ulaşır ve kemik iliğine yayılır. Multinükleer osteoklastlar ve mononükleer fagositler sayıca artar, ve kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış çukurlarda (Howship's lacunae) sıralanırlar. Burada kemik progenitör hücrelerinin osteoklastlara farklılaşmasına, bakteri ve bakteri ürünleri, direkt veya dolaylı olarak mediyatörlerin salınımıyla neden olmaktadır. Ayrıca bu plak ürünleri ve inflamatuvar mediyatörler osteoblastların aktivitesini inhibe etmekte, sayılarını azaltmaktadır (Newman ve ark., 2002 p.: 354-359)

Periodontal hastalığın patogeneğinde konak cevabı en önemli rolü oynamaktadır. Bakteriyel enfeksiyonda, başlangıç doku cevabı olarak nötrofil ve makrofajlarda sayı artışı ve aktivasyon görülmektedir. Bu hücreler, biofilm için antagonistik etkiye sahip reaktif oksijen türlerini (ör. Nitrik oksit) salgılamaktadır. Bu salınımlar sonucu inflamatuvar değişikliklerde başlatılmaktadır. Bununla beraber biofilm varlığı hücrelerin çeşitli proinflamatuvar sitokinleri salgılamasına neden olur ki bunlardan bazıları (ör. İnterleukin-1) doku yıkımını başlatmaktadır. Periodontal hastalığın ilerleyişini engellemek için bu sitokinlerin inhibisyonu incelenmiş ve IL-1/TNF blokörlerinin hastalık ilerleyişini kısmen azalttığı gösterilmiştir (Delima ve ark., 2001).

İnflamasyonun devamında matriks metalloproteinazlar; nötrofil, makrofaj, fibroblast, osteoblast gibi birçok hücreden salgılanarak doku yıkımına neden olmaktadır. MMP'ler çinko ve kalsiyuma bağımlı endopeptitazlardır. Mikroorganizmaların ürettiği enzimlerde mevcuttur ancak bunların etkisi dokunun

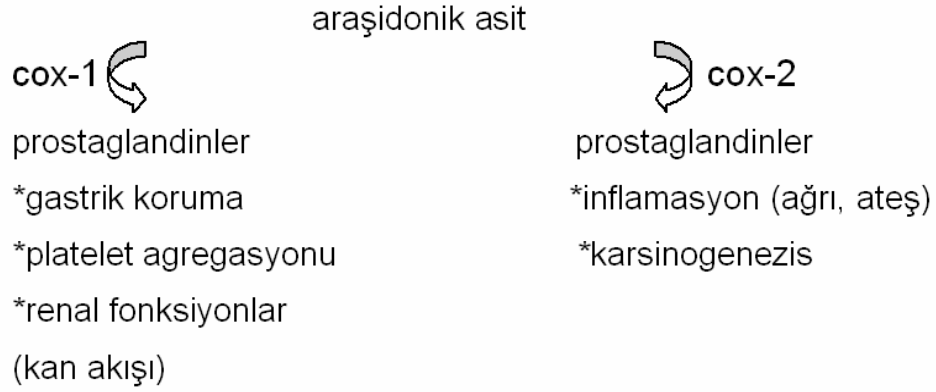
kendi enzimlerinin yanında oldukça azdır (The American Academy of Periodontology, 1999). Bu enzimlerin inhibisyonunun periodontal yıkımı azalttığı ve tedavi edici olabileceği düşünülebilmektedir. Lee ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları bir klinik çalışmada, detartraj ve kök yüzeyi düzeltmesinin yanında verilen subantimikrobiyal dozda doksisisiklinin, MMP'leri azalttığı ve klinik başarıyı artırdığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2004).

Periodontal hastalık patogenezinde etkili bir diğer yol araşidonik asit metabolitlerinin periodontal dokulara salınımıdır. Dokuda yaralanmalar başlayınca hücre membranı fosfolipazlardan etkilenir ve ürün olarak serbest araşidonik asit oluşur (The American Academy of Periodontology, 1999). Araşidonik asit siklooksijenaz (cox), lipoksijenaz ve epoksijenaz tarafından üç ayrı yolla metabolize olur (Şekil 2.1.1.) (Expert Reviews in Molecular Medicine, 2003 Cambridge University Press).



Şekil 2.1.1. Araşidonik asit metabolizması

Araşidonik asiti metabolize eden yollardan birinin enzimi olan siklooksijenazın bilinen en az iki tipi vardır; Siklooksijenaz-1 (cox-1)'in, fizyolojik olarak açığa çıkararak platelet agregasyonu, gastrik mukoza ve böbrekler için önem taşıdığı, siklooksijenaz-2 (cox-2)'nin ise tam bilinmemekle beraber patolojik olarak inflamasyonda görüldüğü ve proinflamatuvar sitokinler aracılığıyla kontrol edildiği düşünülmektedir. Siklooksijenaz yolunun ürünü olarak prostaglandinler (PGs) açığa çıkmaktadır (Şekil 2.1.2.) (Warner ve ark., 2004).



Şekil 2.1.2. Siklooksijenaz yolu

Siklooksijenaz yolunun ürünlerinden olan prostaglandinlerin alveoler kemik yıkımındaki etkileri gösterilmiştir. McCauley ve Nohutçu hazırladıkları derlemede, ataçman kaybı ve kemik yıkımının olduğu periodontitis çalışmalarının sonucu olarak, PGE₂'nin cep sıvısındaki seviyesinin, hastalıkta anlamlı olarak arttığını belirtmişlerdir. Ayrıca PGE₂ seviyesinin, hastalık aktivitesinin teşhisinde ve gelecekteki tahmini kemik yıkımının değerlendirilmesinde kullanılabileceğini ama bunun zor bir teknik olduğunu söylemişlerdir (McCauley ve Nohutçu, 2002).

Periodontitisin tedavisi, hastalığın primer etkeni olduğu düşünölen patojen mikroorganizmaların azaltılması veya eliminasyonu yönünde olmaktadır. Bu amaçla çoğu çalışma diştaşı temizliği ve kök yüzeyi düzeltmesi, oral hijyen alışkanlıklarının geliştirilmesi gibi mekanik yaklaşımların başarısını konu almıştır (Preshaw ve ark.,1999; The American Academy of Periodontology, 2001).

Diğer bazı çalışmalarda ise, bozulmuş kemik anatomisini düzeltmek ve temizlenebilir yüzeyler oluşturabilmek amaçlı periodontal cerrahi tedavilerin başarısı incelenmiştir (The American Academy of Periodontology, 2001; Harrel ve ark., 2001) . Bunlara ek olarak patojen mikroorganizmaların azaltılmasına ve/veya eliminasyonuna yönelik sistemik veya topikal antimikrobiyal ajanların destekleyici olarak kullanımı gündeme gelmiştir (Herrera ve ark., 2002; Walker ve Karpinia, 2002).

Ancak hastalık durdurulsada kaybedilen dokuların yeniden oluşturulması oldukça zordur. Bu amaçla kaybedilen dokuların yapısal ve fonksiyonel olarak yeniden kazanılmasını sağlayan, çeşitli rejeneratif tedaviler günümüzde uygulanmaktadır (Simonpietry-C ve ark., 2000; Cortellini ve ark., 2004). Rejeneratif tedavilerde; membranlar (Aslan ve ark., 2004), kemik greftleri (Yukna ve ark., 1998), kök yüzeyini biyomodifiye eden ajanlar (Lekovich ve ark., 2001), mine matriks proteinleri (Cochran ve ark.,2003), kemik morfojenik proteinleri (Blumethal ve ark., 2002), büyüme faktörleri (Rossa ve ark., 2000) ve kombine teknikler (Walters ve ark., 2003) kullanılmaktadır.

Son yıllarda periodontitisin tedavisinde konağın modölyasyonunun yararlı olabileceğine yönelik bulgular artmaktadır. Özellikle; konağa bağlı iltihabi cevapların modifikasyonu (ör. Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç/NSAID kullanımıyla prostoglandinlerin inhibisyonu), yıkıcı enzimlerin düzenlenmesi (MMP'ların inhibisyonu) ve alveoler kemik yıkımının inhibisyonu (ör. Osteoklastlar aracılığıyla)

oldukça önem kazanmıştır (Paquette ve ark., 2000; The American Academy of Periodontology; 2002).

Periimplantitis ise periodontitise benzer şekilde gelişen ve kemik kaybı ile karakterize bir hastalıktır. Araştırmacılar periimplantitisin tedavisinde kemik yıkımını önlemenin en önemli amaç olduğunu vurgulamaktadırlar. Periodontitis tedavisinden farklı olarak periimplantitiste destekleyici antimikrobiale yaklaşımlara her zaman ihtiyaç duyulmaktadır (Sanchez-Garces ve Gay-Escoda, 2004).

2.2. Kemik Dokusu

Kemik doku, yetişkin iskeletin en önemli yapı taşıdır. Yumuşak dokuları destekler, organları korur, hücrelerin yapıldığı kemik iliğine yataklık yapar ve vücut sıvılarındaki kalsiyum, fosfat gibi iyonların kontrollü olarak serbest hale getirilebilmelerini veya depolanabilmelerini sağlar. Kemik dokunun %70'i inorganik, %30'u organik yapıdadır. Organik kısım çoğunlukla tip 1 kollajenden ve daha az oranda glikoproteinler ve glikozaminoglikanlardan oluşmaktadır. İnorganik kısım ise kalsiyum ve fosfat çoğunlukta olmak üzere, bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyumdan oluşmaktadır. Kemik mineralleri kristaller halinde (hydroxyapatite = $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$) bulunmaktadır (Jungueira ve ark., 1992 p.: 173).

Kemik doku, mezenkimal (osteoblast) ve hematopoetik (osteoklast) kökenli hücrelere sahiptir. Kemik hücreleri; osteoblast, osteoklast ve osteosit hücrelerden oluşmaktadır. Osteoklastlar mineralize kemik matriksini rezorbe ederken osteoblastlar üretimini yapar ve hayat boyu işlevlerini devam ettirerek dengeli bir bütün oluşturmaktadırlar (Manolagas, 2000).

2.2.1. Osteoblastlar, Kemik Yapımı ve Mineralizasyonu

Osteoblastlar, kemik iliğinin temel mezenkimal kök hücrelerinden türemekte ve ekstrasellüler organik matriksin sentezini yapmaktadırlar. Osteoblastların salgıladığı organik matriksin %90-95'i tip I kollajen, geri kalanı ise kollajen olmayan proteinlerden oluşmaktadır. Matriks sentezi sırasında osteoblastlar aktif protein sentezi yapan ve salgılayan hücreler haline gelirler. Osteoblastların hücre membran yüzeyinde paratiroid hormon ve östrojen için spesifik reseptörleri vardır (Strewler, 2001). Dolayısıyla bu hormonlar ve diğer endojen etkin maddeler (büyüme faktörleri, vitamin-D, fiziksel aktivite gibi) kemik metabolizmasını osteoblastlar üzerinden etkileyebilmektedir. Osteoblastların ürettiği kollajenler organize şekilde birikerek olgun kemiği oluştururlar. Daha sonra osteoblastlar mineralize matriks içinde gömülü kalararak osteositlere dönüşürler. (Jungueira ve ark., p.: 171).

Yeni fakat henüz kalsifiye olmamış matriks, osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında yer alır, zamanla kalsiyum tuzlarının çökmesiyle kemik appozisyonu tamamlanmaktadır. Osteonektin gibi kalsiyuma bağlanma afinitesi yüksek glikoproteinler ve proteoglikanlar aracılığıyla kalsiyum tuzları kollajen fibriller üzerine çöker ve kalsifikasyon başlamış olur. Osteoblastların ömürleri 3 aydır, sonrasında kemik matriksinin içine sıkışmış osteositlere dönüşürler (Manolagas, 2000).

2.2.2. Osteoklastlar ve Kemik Yıkımı

Kalsifiye kemik matriksinin rezorbsiyonundan sorumlu osteoklastların prekürsörleri, farklılaşarak sadece osteoklast fonksiyonlarını yerine getirebilecek monosit-makrofaj soyunun hematopoetik hücreleridir. Osteoklast oluşum süreci olan osteoklastogenezisin, desteklenmesi için osteoblastik hücrelere ihtiyaç vardır. Osteoblastik hücreler; reseptörleri ve ürettikleri çeşitli büyüme faktörleri ve

sitokinler ile osteoklastogenezisde etkili olmaktadırlar. Hematopoetik hücrelerden türev alan osteoklastlar yıkım bölgesine kan yoluyla ulaşmaktadırlar (Jungueira ve ark., p.: 172; Manolagas, 2000).

Osteoklastların ömürleri 2 hafta kadardır ve apoptosis ile ölürler. Osteoklastlar, osteoklastik enzimleri, 3 veya daha fazla sayıda olan hücre çekirdekleri, dalgalı membran yapılarıyla karakterizedirler. Osteoklastlar, “Howship’s lacunae” denilen alanlarda uzanırlar ve kemik yıkımı sırasında yıkım yüzeylerine yapışırlar. Kemik matriksine tutunduktan sonra dalgalı membran yapısındaki proton pompasıyla ortamı asidik hale getirirler. Hidroklorik asit salınımıyla matriksin mineral kısmının yıkımı sağlanmakta MMP, cathepsin K gibi enzimlerlede kemiğin organik kısmı yıkıma uğratılmaktadır (Jungueira ve ark., p.: 172; Manolagas, 2000).

Osteoblastlar ve osteoklastlar sürekli etkileşim halindedirler. Osteoblastik hücre reseptörleri olan CSF-1 (macrophage colony-stimulating factor / M-CSF) ve RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand), çeşitli uyarımlarla aktive olur ve bu iki molekülde osteoklastlardaki yüzey reseptörlerinin (C-FMS, RANK) aktivasyonunu sağlamaktadır (Reddy, 2004; Phan ve ark., 2004).

Kemik yıkım ve yapım süreçleri, dönemsel olarak birbirinden bağımsız olarak gelişebilse de genelde birbirlerine eşlik etmektedir. Kemik yıkımını takip eden kemik oluşumu temel yenilenme birimi (basic remodeling unit/BMU) olarak bilinmektedir. Kemikte osteoklastların yıkıma uğrattığı bölgelere, sinyaller aracılığıyla osteoblastlar gelir ve yeniden kemik oluştururlar. Kemiğin yeniden yapılanma döneminde, 3-4 hafta süren osteoklastik kemik yıkımı ve bunu takip eden 3-4 aylık osteoblastik kemik oluşumu izlenmektedir (Manolagas, 2000).

2.2.3. Kemik İyileşmesi, İnflamatuar Hücreler ve Siklooksijenaz-2

Yaralanan dokunun iyileşmesi tamir ve rejenerasyon olmak üzere iki şekilde olmaktadır. Tamirde yaralanan doku bir diğeri ile yer değiştirir. Rejenerasyonda ise yaralanan doku yapısal ve fonksiyonel olarak yeniden oluşmaktadır. İyileşmede inflamasyon ve dolayısıyla inflamatuvar hücreler etkilidir. Çene kemiğinde yaralanma sonrası iyileşme 4 aşamada değerlendirilebilir (Lindhe ve ark., 2003);

Kan pıhtısının oluşumu; İlk olarak, yaralanan damar ve hücrelerin proteinleri ile fibrin ağı oluşur. Plateletler ve fibrin ağı pıhtıyı oluşturarak kanamayı durdurur. Bu pıhtı hücre hareketleri için fiziksel koruma oluşturur. İçeriğiyle de mezenkimal ve inflamatuvar hücreleri etkiler (Lindhe ve ark., 2003).

Yaranın temizlenmesi; Nötrofil (polimorfonükleer lökosit) ve makrofajlar (mononükleer fagositler) bölgeye gelerek bakterileri ve yaralı dokuları fagosite eder. Bununla beraber mezenkimal hücre diferansiyasyonunu ve proliferasyonunu sağlayan sitokinleri salgırlar. Bu sırada yaralanan kemik dokunun bir kısmı nekroz olur ve osteoklastik aktiviteyle bölgeden uzaklaştırılır (Lindhe ve ark., 2003).

Doku oluşumu; Mezenkimal, fibroblast benzeri hücreler ekstrasellüler matriks komponentlerini oluşturmaya başlar (fibroplazi) ve artık pıhtı granülasyon dokusuyla yer değiştirir. Bu noktada granülasyon dokusu erken ve geç granülasyon dokusu olarak değerlendirilebilir. Erken granülasyon dokusunda çokça makrofaj, az sayıda mezenkimal hücre, bir miktar kollajen lifler ve olgunlaşmamış kan damarları bulunurken geç granülasyon dokusunda az sayıda makrofaj, çok sayıda fibroblast benzeri hücreler ve yeni kan damarları (anjiogenezis) bağ dokusu matriksi içersinde bulunmaktadır. Burada fibroblast benzeri hücreler büyüme faktörlerini salgırlar ve hücre proliferasyonunu sağlar. Bu aşamada oluşan geçici bağ dokusu osteoprogenitörlerin migrasyonu ve diferansiyasyonu ile yerini kemik dokuya bırakmaya başlar (Lindhe ve ark., 2003).

Doku şekillenmesi; Bu aşamada olgunlaşmamış kemik doku yerini mineralize olgun kemik dokusuna bırakmakta ve kemik oluşumu tamamlanmaktadır (Lindhe ve ark., 2003).

İyileşmede, diğer bir etken olarak siklooksijenazlar karşımıza çıkmaktadır. Siklooksijenaz (cox-1/2) yolunun ürünü olan prostaglandinler kemik metabolizmasında osteoblast ve osteoklast aracılığıyla rol oynamaktadır. PGs içindende özellikle PGE₂ kemik yapımında ve yıkımında rol almaktadır. Cox-1 normal kemikte etkili olurken cox-2 iyileşmenin başlarında, inflamasyonda veya neoplastik koşullarda etkili olmaktadır. Araştırmacılar kırık kemiğin iyileşmesi sırasında cox-2 inhibisyonunun iyileşmeyi geciktirdiğini göstermişlerdir. Cox-2 inhibisyonunun kemik iyileşmesi için gerekli başlangıç inflamatuvar değişiklikleri ortadan kaldırdığı ileri sürülmektedir. Ancak seçici cox-2 inhibisyonuna yönelik kullanılan ilaçlar dahi tam anlamıyla cox-2 inhibisyonunu sağlayamamaktadır (Simon ve ark., 2002; Warner ve ark.,2004; Radi ve Khan, 2005).

2.3. Kemik Grefti ve Kullanımı

Kemiğin yerini alması için kullanılan kemik benzeri yapılara kemik grefti denir. Kemik greftlerini etki mekanizmalarına ve kaynaklarına göre sınıflamak mümkündür (Stevenson, 1999; Newman ve ark., 2002 p.: 812-820).

Kaynaklarına göre sınıflama şöyledir;

- A) Otojen greftler: Bireyin bir bölgesinden alınıp başka bir bölgesine yerleştirilen, canlı osteoblast ve osteoprogenitör hücreleri içeren greft tipidir.
- B) Homojen greftler (Allogreft): Aynı türün farklı genetik yapıdaki bireylerinden elde edilir. İzogreft; genetik olarak aynı özellikleri taşıyan (ikizler) bir bireyden diğerine taşınan greft tipidir.

- C) Heterojen greftler (ksenogreft): Farklı türdeki canlının dokularından elde edilen greft tipidir.
- D) Alloplastik greftler: Canlı doku içersine yerleştirilen sentetik materyallerdir.

Greft materyallerini etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması şöyledir;

- A) Osteojenik etki; bu etki otojen kemik greftlerinde olduğu gibi canlı osteoblastlar kemik greftinin bir kısmını oluşturuyorsa gerçekleşir. Yeterli kan desteğinin varlığında, bu canlı osteoblastlar uygulandıkları bölgede greft içerisinde yeni ossifikasyon alanları oluşturmaktadırlar.
- B) Osteoindüktif etki; bu etki greft materyalinin defekt bölgesindeki osteoprogenitörleri uyararak yeni kemik oluşmasıyla gerçekleşmektedir. Örnekler kemik büyüme faktörleri (BMP), plateletten türeyen büyüme faktörleri (PDGF).
- C) Osteokondüktif etki; bu etki yeni kemiğin greftin bulunduğu defekt etrafındaki osteoblastlar tarafından oluşturulmasıyla gerçekleşmektedir. Greft materyali kemik oluşumu sırasında çatı görevi görmektedir. Burada greft materyali kemik oluşumunu uyarmamakta veya engellememektedir. Örnekler; Allogreftler, hidroksiapatit.

2.3.1. Sentetik Kemik Grefti {Anorganic Bovine - Derived Hydroxyapatite Matrix / Cell Binding Peptide-15 (ABM/P-15)}

Bu çalışmada kullanılan ABM/P-15 kemik grefti, 1996 yılında Qian ve Bhatnagar tarafından geliştirilmiştir. Bu materyalin organik kısmı olan P-15 (Cell Binding Peptide), 15 aminoasitten oluşan tip1 kollajenin sentetik kopyasıdır. İnorganik kısım ise P-15'i taşımak üzere hazırlanmış doğal, anorganik kemik

mineralidir (Anorganic Bovine - Derived Hydroxyapatite Matrix) (Barboza ve ark., 2002).

ABM/P-15 kemik grefti, kemik dokuya yerleştirildiğinde aynen otojen kemik grefti gibi hücrelere, özellikle fibroblast ve osteoblastlara bağlanmaktadır. Hücre bağlanması gerçekleştiğinden sonra biyomekanik sinyallerle kemik morfojenik proteinleri, büyüme faktörleri gibi uyarıların hücrelerden salınımı başlatılmaktadır. Böylece hücreler kemik oluşturmak üzere diferansiye olmaktadır. Ayrıca P-15 fibroblastların ve preosteoblastların yaşanabilirliğini artırıp apoptozisi azaltarak, rejenerasyon için gerekli hücrelerin hayatta kalmasını sağlamaktadır (Hanks ve Atkinson, 2004). Bu özellikleri sayesinde ABM/P-15 kemik grefti, otojen greftten sonra en ideal materyal olarak görülen demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftinden, daha başarılı olarak bulunmuştur. (Yukna ve ark., 1998). Buna ek olarak, Kübler ve arkadaşları yaptıkları bir in vitro çalışmada insan osteoblastlarının, ABM/P-15 kemik grefti üzerine diğer greft materyallerine göre daha fazla proliferasyon olduğunu göstermişlerdir (Kubler ve ark., 2004; Turhani ve ark., 2005).

ABM/P-15 greft materyalinin kemik oluşumundaki başarısı birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu yöndeki çalışmalardan biri, Barboza ve arkadaşlarının, köpekler üzerinde deneysel alveolar kemik defekti oluşturarak yaptığı çalışmadır. Biyomateryal uygulanmayan bir kontrol grubu ile P-15/ABM uygulanan test grubu karşılaştırılmıştır. Histolojik ve klinik olarak yapılan değerlendirmeler sonucunda test grubunda 12 hafta sonunda, kret yükseltmesinin sağlandığını gözlemlemişlerdir (Barboza ve ark., 2002).

ABM/P-15 greft materyalinin kemik oluşumundaki başarısını Capri ve arkadaşları, materyali kombine tedavi teknikleri içerisinde kullanarak farklı bir açıdan göstermişlerdir. Bu araştırmacılar, ileri derecede periodontal hastalık sonucu kemik kaybı fazla olan ve estetik bölgede protetik açıdan sorun oluşturan

vakalara yönelik kombine tedavi tekniği oluşturmuştur. Burada ortodontik kuvvetler ve cerrahi kret yükseltmesi birlikte kullanılmıştır. Cerrahi kret yükseltmesinde ABM/P-15 kemik grefti kullanılmış, yeterli kret yüksekliği sağlanmış ve estetik açıdan tatmin edici bir sonuç elde edilmiştir (Capri ve ark., 2003).

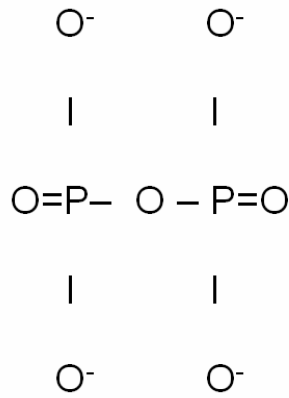
Tehemar ve arkadaşları ABM/P-15 kemik grefti immediyat yerleştirilen ve kemik defekti olan implantlar etrafında kullanmış ve bu uygulamanın osseointegrasyonu hızlandırdığını göstermiştir (Tehemar ve ark., 2003). İmplantolojide, ayrıca önemli bir konu olarak karşımıza çıkan sinus tabanı yükseltme işleminde de ABM/P-15 kemik grefti kullanan araştırmacılar olmuştur. Bu araştırmacılar, sinus yükseltmesinde ABM/P-15 kemik grefti uygulamasını, kemik oluşumu açısından yeni ve kolay bir teknik olarak ortaya koymuşlardır (Valentin ve ark., 2004; Yeung, 2005).

Yukna, Kubler, Turhani, Barboza gibi araştırmacılar tarafından başarısı gösterilmiş ABM/P-15 kemik grefti, yapılan bu çalışmada test edilen ilaç (alendronate) ile kombine olarak uygulanmıştır. Kemik greftinin etkinliğini artırmak ve kemik oluşumu üzerinde kombine kullanımın etkisini incelemek hedef alınmıştır.

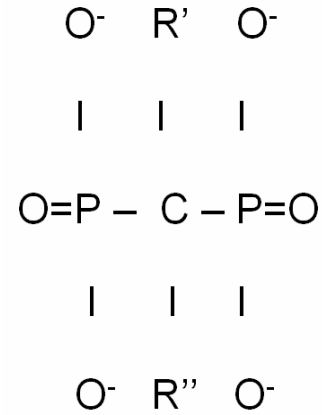
2.4. Bifosfonatlar

Bifosfonatların tanımı;

Bu ilaç grubu, insan metabolizmasının normal bir ürünü olan pirofosfatların, karbon analogu olup fosfat-karbon-fosfat (P-C-P) yapısıyla karakterize inorganiklerdir. Pirofosfat molekülündeki bağlayıcı oksijen atomunun yerine karbon atomu geçerse bifosfonat oluşmuş olur (Şekil 2.4.1.). Pirofosfatlar serum ve idrarda bulunur ve kalsiyum ile şelasyon yapma özellikleri vardır. Pirofosfatlar in vitro ve in vivo olarak hidroksiapatit kristallerine bağlanırlar ancak in vivo olarak çok stabil bir molekül değillerdir, pirofosfataz ve alkalin fosfotaz aktivitesi sonucunda hızlı hidrolize olurlar. Pirofosfatların aksine bifosfonatlar P-C-P bağı sayesinde enzimatik hidrolizlere karşı dirençlidirler. Bifosfonatlar, hem in vitro hem de in vivo koşullarda kalsiyum fosfatlara güçlü afinite göstermektedirler (Sirtori ve ark.,2000; Lacy ve ark.,2003).



Pirofosfatların kimyasal yapısı



Bifosfonatların kimyasal yapısı

Şekil 2.4.1. Pirofosfat ve bifosfonatların kimyasal yapısı

Bifosfonatlar, pirofosforlara benzer şekilde kemiğin hidroksiapatit kristallerine bağlanırlar ve çözümlerini önlerler. Kemik minerallerine bağlanma R1 yan zincirinde hidroksil grubunun bulunmasıyla kolaylaşmaktadır. R2 yan zincirinin yapısı ve üç boyutlu yapılanması bifosfonatların hücresel etkilerini ve kemik rezorpsiyonunu inhibe etme etkinliklerini belirler (Sirtori ve ark.,2000; Lacy ve ark.,2003).

Tüm bifosfonatların kendi aktivite özellikleri vardır ve bu etki, yan zincirlerle belirlenir. R1 ve R2 bölgelerinde hidrojen için farklı yan zincirlerin meydana gelmesi bileşenin in vitro ve in vivo etkinliğini ve yan etkilerini değiştirir. Alkil yapıdaki yan zincirler (ör. Etidronat) birinci jenerasyon bifosfonatları oluşturur. İkinci nesil bifosfonatların amino-terminal grupları vardır; aminobifosfonatları oluştururlar (ör. Alendronat). Üçüncü nesil bifosfonatların siklik yan zincirleri vardır (ör. Risedronat). İlaç jenerasyonları arasında bifosfonatların antirezorptif özellikleri katlanarak artmaktadır (Sirtori ve ark.,2000; Lacy ve ark.,2003).

Bifosfonatların farmakokinetik etkisi;

Oral olarak alınan bifosfonatların bağırsaktan emilimi dozun %0.6 - %5'i arasındaki oldukça az olan bir miktardır. Bu miktar, ilaç kalsiyum içerikli gıdalarla beraber tüketildiğinde daha da azalır. Bifosfonatların yarı ömürlerinin plazmadaki eliminasyonu 0.3-2 saat gibi kısa bir sürede meydana gelir. İlacın %20 - %60'lık kısmı kemik tarafından emilir ve geri kalanıda olduğu gibi idrar ile vücuttan atılır. İskelet sisteminden bu ilacın eliminasyonu çok yavaş bir şekilde aktif kemik rezorpsiyonu sırasında gerçekleşmektedir (Sirtori ve ark.,2000; Lacy ve ark.,2003).

Bifosfonatların yan etkileri;

Genel olarak sistemik kullanılan bu ilaçlar vücut tarafından iyi tolere edilebilmektedir. En sık karın ağrısı, bulantı, hazımsızlık, isal gibi gastrointestinal semptomlara sebep olurlar. Ayrıca bu ilaçlar, kısa süreli tad alma bozukluğu ve serum kalsiyum seviyesinde düşüş, nadir olarak da hipersensitivite reaksiyonlarına

neden olurlar. Bifosfonatların hipersensitivite gösteren bireylerde, hipokalsemide, böbrek yetmezliğinde, ileri derecede gastrointestinal sistem rahatsızlığı olan bireylerde kullanımı kontrendikedir (Sirtori ve ark.,2000; Lacy ve ark.,2003).

Bunların dışında dişhekimiği açısından direkt önemi olan yan etkiler gözlenmektedir. Bunlardan birtanesi oral kavitede ülserasyonlar ki muhtemelen bu ülserasyonlar ilacın oral kavitede fazla kalması nedeniyle gelişebilmektedir (Gonzalez-Moles ve Bogan-Sebastian, 2000). Bir diğeri ise kronik bifosfonat tedavileri sonucunda çene kemiğinde osteonekrozis gelişebilmesidir (Ruggiero ve ark., 2004).

Bifosfonatların etki mekanizmaları;

Son 30 yılda kemik ve kalsiyum metabolizmasının çeşitli hastalıklarının tanı ve tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen bu ilaçlar in vivo ve in vitro olarak kemik rezorpsiyonunu güçlü bir şekilde engellemektedirler. Hidroksiapatit kristallerine bağlanırlar ve uzun süre inorganik yapıda kalırlar. Kemik rezorpsiyonu sırasında ortam ph'sının düşmesi ile lokal olarak serbestleşirler ve osteoklastlar tarafından tutulurlar (Cengiz, 2003).

Bu ilaç grubunun ana etkisi, osteoklast aracılığıyla oluşan kemik rezorpsiyonunu inhibe etmektir. Osteoklastlar bifosfonat içeren kemik kristallerini fagosite ettiklerinde, metabolik aktiviteleri inhibe olur ve kalan kemiği abzorbe edemezler. Genel olarak bifosfonatların oluşturduğu bu inhibisyon çeşitli yollar aracılığıyla oluşmaktadır. Bu yollar ilacın etkili olduğu osteoklastlar, osteoblastlar ve inflamasyon üzerinden direkt veya dolaylı olarak oluşturulmaktadır (Van Beek ve ark., 1997; Rogers ve ark., 2000; Im ve ark., 2004; Yu ve ark., 2005).

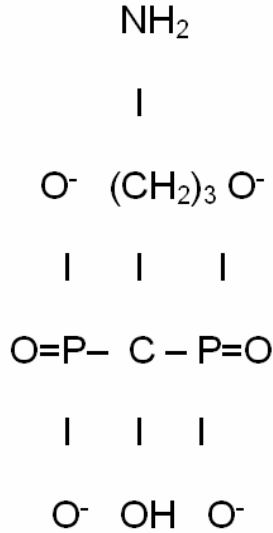
Çeşitli çalışmalarda bifosfonatların etki mekanizmaları açısından iki grupta düşünülmesi gerektiği gösterilmiştir. Birinci grup etidronat, klondronat, tiludronat gibi nitrojen içermeyen bifosfonatlardan (nonaminobifosfonatlar) oluşurken ikinci

grup ise alendronat, risedronat gibi nitrojen içeren bifosfonatlardan (N-BPs)/(aminobifosfonatlar) oluşmaktadır. Aminobifosfonatların, rezorptif etkileri nonaminobifosfonatlara göre çok daha kuvvetlidir. Kesin mekanizma bilinmese de iki grubun osteoklastik aktiviteyi farklı moleküler aktivitelerle inhibe ettiği düşünülmektedir. Diğer bir farkları ise inflamasyon üzerine olan etki mekanizmaları ile ilgilidir (Rogers ve ark., 2000; Halasy-Nagy ve ark., 2001; Yu ve ark., 2005).

Bifosfonatların kullanım alanları;

Osteoporoz , Paget hastalığı ve metastatik hastalıklar başta olmak üzere kemik dokuyla ilişkili çeşitli hastalıkların tedavisinde, kemik metabolizmasını değiştirebilen bu ilaç grubu kullanılmaktadır (Khan ve ark., 1997; Ross ve ark., 2003, Mathoo ve ark., 2004).

2.4.1. Alendronat Sodyum (4-amino-1-hydroxybutylidene 1,1-diphosphate)



Şekil 2.4.1.1. Alendronatın kimyasal yapısı

İkinci nesil aminobifosfonat olan alendronat kemik yıkımını önleyen güçlü etkisiyle sık kullanılan bir ilaçtır. Alendronatın etki mekanizmasıyla ilgili olarak ilk kez 1991 yılında yapılan bir çalışmada bazı detaylar ortaya konulabilmiştir. Sato ve arkadaşları bu in vitro çalışmalarında alendronatın kemikteki rezorpsiyon yüzeylerine bağlandığını ve asidifikasyon sırasında lokal olarak açığa çıktığını ve burada konsantrasyon artışına bağlı olarak osteoklastların dalgali membran yapılarını bozduğunu göstermişlerdir (Sato ve ark., 1991).

İlerleyen yıllarda, Sato ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer şekilde çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan birtanesi, bifosfonat grubundaki diğer ilaçlardan farklı olarak alendronatın kemik iliğinde oluşan osteoklast prekürsörlerinin osteoklastojenik potensiyellerini etkilemediğini ve etkinin olgunlaşmış osteoklastlar üzerinden olduğunu gösteren ve 1997 yılında yapılan bir çalışmadır (Van Beek ve ark., 1997). Aynı yıl alendronatın osteoklast hücre fonksiyonlarının yerine getirilmesinde önemi olan protein-tirozin-fosfataz enzim grubunun direkt olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu etki doza ve süreye bağlı olarak hücre içinde alendronatın konsantrasyonunun artışıyla gözlemlenmiştir (Opas ve ark., 1997).

Alendronatın kemik inhibisyonundaki bir diğer etki mekanizması, alendronatın osteoklastlardaki kolesterol sentez yolunu (mevalonate yolu) engellemesiyle olmaktadır. Bu yolun oluşturduğu çeşitli enzimler hücre fonksiyonlarında rol almaktadır (Rogers ve ark., 2000)

Bazı açılardan alendronat kendi grubundaki ilaçlardan daha iyi olarak görülürken bazı açılardan da dezavantajları olduğu söylenmektedir. Öncelikle çok güçlü bir etkiye sahip olması ve kemik kalitesini artırması alendronatı üstün duruma getirmektedir. Alendronat kemik turnoverını yavaşlatır ve bu özelliği sayesinde mineralizasyonu süresi artmaktadır. Dolayısıyla kemik yoğunluğu da artmaktadır. Alendronat tedavisi gören kemik doku biyomekanik anlamda direnç kazanmaktadır (Roschger ve ark.,1997; Rodan,1997; Hernandez ve ark., 2001).

Alendronatın sistemik kullanımında ateş, akut faz proteinlerinin artışı gibi inflamasyonu artışı, gastrointestinal rahatsızlıklar ve oftalmik inflamasyon oluşumu gibi istenmeyen yan etkiler karşımıza çıkmaktadır (Gonzeles-Moles ve Bagon-Sebastian, 2000; Dobrucalia ve ark., 2002; Yu ve ark., 2005; Funayama ve ark., 2005; Sener ve ark., 2005).

Dışhekimliğinde, alendronatın kullanımı yeni bir tedavi yaklaşımı olabileceği için bu çalışma planlanmıştır. İstenmeyen yan etkileri düşünülerek ilacın lokal kullanımı tercih edilmiştir. Daha önceden değişik yöntemler ile alendronat dışhekimliğinde lokal olarak kullanılmıştır. Yaffe ve arkadaşları, hayvan çalışmalarında, 0.025 ml alendronat solusyonuna batırılmış pamuk ruloyu mukoperiosteal flebin kaldırılmasından sonra kemik yüzeyine sürmüş ve alendronatın lokal uygulamasının kemik rezorpsiyonunu engellediğini ilk olarak göstermişlerdir (Yaffe ve ark., 1997).

Alendronatın lokal uygulamasının etkinliğini gösteren bir diğer çalışma Meraw ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu araştırmacılar implant yüzeylerini alendronatla kaplamışlar ve bu implantları köpeklere çekim sonrası hemen yerleştirmişlerdir. 28 gün sonra sakrifiye edilen hayvanlardan elde edilen histolojik kesitlerde alendronatın dental implantlar etrafında erken kemik oluşumunu hızlandırdığını göstermişlerdir (Meraw ve ark., 1999).

Daha sonraki yıllarda yukardaki araştırmacıların tekniklerinin aynı olmasada benzer teknikler kullanarak diğer araştırmacılarda, alendronatı lokal uygulamış ve kemik doku üzerindeki etkinliğini göstermiştir (Denissen ve ark., 2000; Kaynak ve ark., 2000; Binderman ve ark.,2000). Bu çalışmada ise alendronat kemik grefti ile beraber olarak lokal uygulanmıştır ve maksimum etkinlik hedeflenmiştir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızın deney aşaması Başkent Üniversitesi Deneysel Hayvan Üretim ve Araştırma Merkezi'nin Araştırma Ünitesi'nde ratlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Gelişmiş uyum gücü ve dayanıklılıkları nedeniyle ratlar birçok deney için uygun hayvan modeli olarak görülmektedirler. Günümüzde hayvan deneylerinin %20'sinde ratlar kullanılmaktadır. Fizyolojik olarak insana büyük benzerlik göstermektedirler (Cengiz, 2003).

Araştırmada ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen genç (3-5 aylık) 30 adet Wistar albino rat kullanılmıştır. Dişi ratlarda kontrolü mümkün olmayan hormonal değişikliklerin sert doku rezorpsiyon mekanizmaları üzerindeki etkileri düşünülerek, yalnız erkek ratlarda çalışılmıştır (Kaynak ve ark., 2000). Çalışmaya başlamadan önce Başkent Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

3.1. Çalışma Grupları

2. hafta deney grubu: 10 adet hayvanın sağ karpus mandibuladaki defekt bölgelerine alendronat emdirilmiş kemik grefti yerleştirildi ve deney tarihinden itibaren 14. günde/2 haftalık sakrifiye edildi.

2. hafta kontrol grubu: 10 adet hayvanın sol karpus mandibuladaki defekt bölgelerine alendronat emdirilmemiş kemik grefti yerleştirildi ve deney tarihinden itibaren 14. günde/2 haftalık sakrifiye edildi.

4. hafta deney grubu: 10 adet hayvanın sağ karpus mandibuladaki defekt bölgelerine alendronat emdirilmiş kemik grefti yerleştirildi ve deney tarihinden itibaren 28. günde/4 haftalık sakrifiye edildi.

4. hafta kontrol grubu: 10 adet hayvanın sol korpus mandibuladaki defekt bölgelerine alendronat emdirilmemiş kemik grefti yerleştirildi ve deney tarihinden itibaren 28. günde/4 haftalık sakrifiye edildi.

6. hafta deney grubu: 10 adet hayvanın sağ korpus mandibuladaki defekt bölgelerine alendronat emdirilmiş kemik grefti yerleştirildi ve deney tarihinden itibaren 42. günde/6 haftalık sakrifiye edildi.

6. hafta kontrol grubu: 10 adet hayvanın sol korpus mandibuladaki defekt bölgelerine alendronat emdirilmemiş kemik grefti yerleştirildi ve deney tarihinden itibaren 42. günde/6 haftalık sakrifiye edildi.

3.2. Cerrahi İşlem

Çalışma gruplarının hepsinde hayvanlara aynı işlemler uygulandı. Ratlara, işlem öncesi ketamin 50 mg/kg ve xylasin 10 mg/kg IP verilerek genel anestezi yapıldı. Ratların ramus mandibulaya yakın bölgelerinden ekstraoral insizyon yapılarak korpus mandibulaları açığa çıkartıldı.

Piyasemen ve 3 mm çapındaki çelik rond frez kullanılarak bol irrigasyon altında kemik defektleri oluşturuldu. Sağ mandibuladaki defekt bölgesine alendronat emdirilmiş ABM/P-15 kemik grefti, sol mandibuladaki defekt bölgesine sadece salinle nemlendirilmiş ABM/P-15 kemik grefti yerleştirildi.



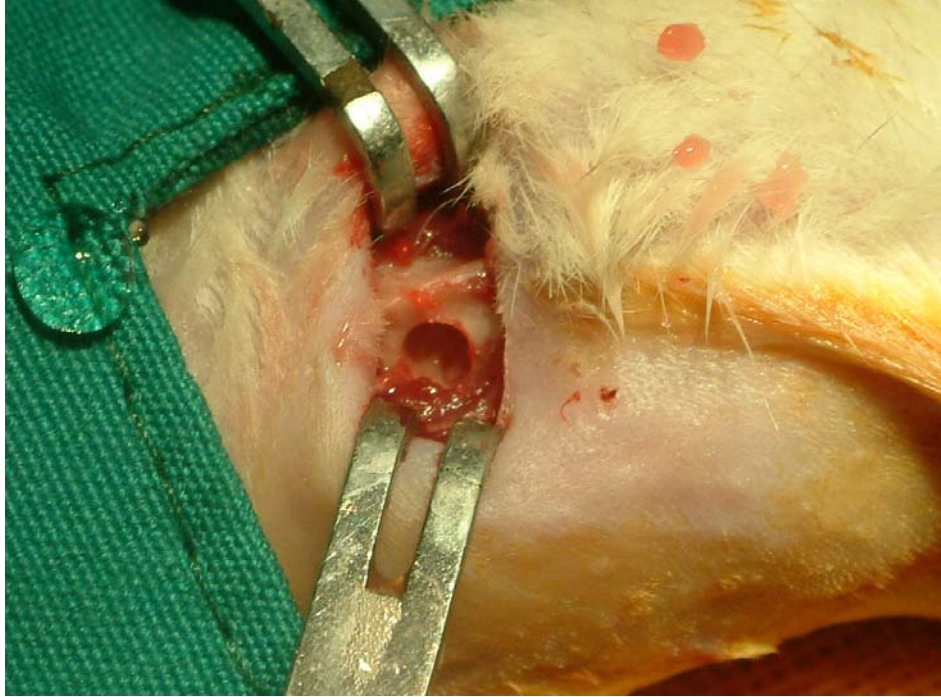
Şekil 3.2.1. Ekstraoral yapılan insizyon



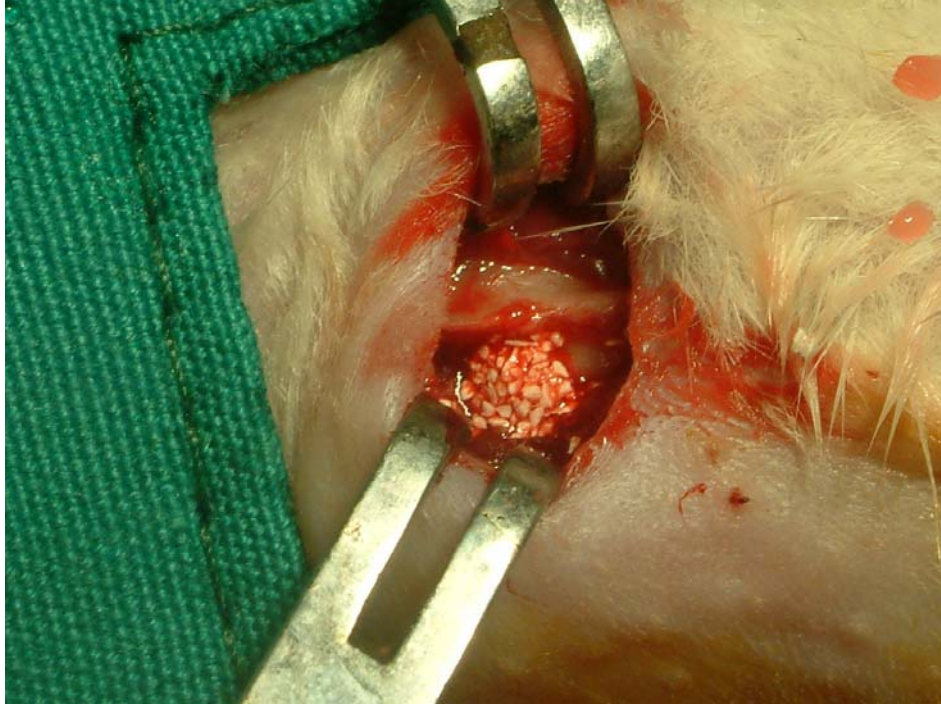
Şekil 3.2.2. Korpus mandibula



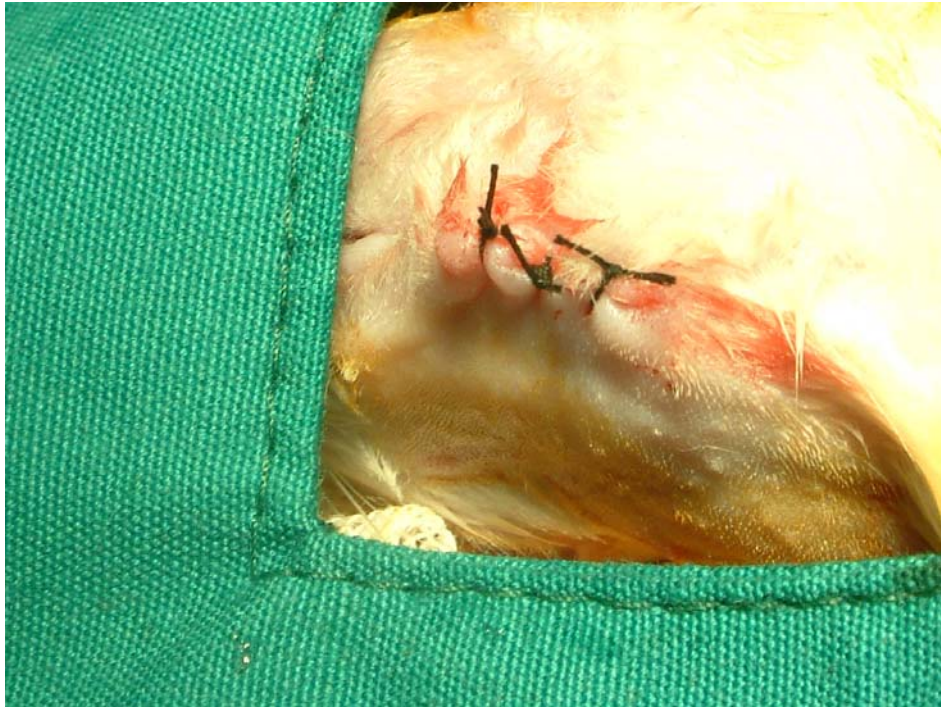
Şekil 3.2.3. 3 mm çapındaki kemik defektinin hazırlanması



Şekil 3.2.4. Kemik defekti



Şekil 3.2.5. Kemik grefti yerleştirilmesi



Şekil 3.2.6. Kemik defektinin kapatılması

3.3. Alendronat Emdirilmiş ABM/P-15 Greft Materyalinin Hazırlanması

10 mg'lık etkin maddesi alendronat sodyum olan fosamax tablet içinde 10 ml distile su bulunan steril kapaklı cam şişe içine konuldu, çözünene kadar çalkalandı ve çözünme işlemi tamamlandıktan sonra 0.2 µm porlu filtreden geçirilerek gode içersine akıtıldı. ABM/P-15 greft materyali bu alendronat solusyonunda (1 mg/ml) 10 dakikalığına bekletildi. 10 dakikanın sonunda alendronat solusyonunun suyu akıtıldı ve kalan ABM/P-15 greft materyali 1 dakika distile suyla yıkandı (Aspenberg ve Astrand, 2002).

3.4. Hayvanların Bakımı

Hayvanlara, cerrahi sonrası 5 gün süreyle, infeksiyon kontrolüne yönelik antibiyotik (Bay K, 2x1) ve ağrı kontrolüne yönelik antiinflamatuvar etkisi olmayan bir opioid analjezik (Fentanil 0.07 µg/kg, 2x1) subkutan verildi. 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık perioduyla polikarbon kafeslerde istenilen süre boyunca yaşatıldı. Sıcaklık 20±2 °C tutuldu ve % 50±10 nemli ortam sağlandı. Standart purina marka yem ad-libitum verildi.

3.5. Doku Takibi ve Değerlendirmesi

Ratlar cerrahi işlem sonrası 14., 28. ve 42. günde 150 mg/kg tiyopentalsodyum IP verilerek kurban edildi ve mandibulaları çıkartıldı. Bu işlemden sonra örnekler alt gruplara ayrıldı. Gruplandırılan dokular eksize edildikten hemen sonra %10 tamponlanmış formaldehite alındı. Tespit olan bu dokulardan kesit alındı, rutin takip işlemi yapıldı ve parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan hazırlanan 4µ incelikteki kesitler hematoxilen-eozin boyası ile boyandı. Hematoxilen ve eozin ile boyanan kesitler stromal iltihabi hücre infiltrasyonu, osteoklast ve osteoblast yoğunluğu açısından değerlendirildi. Her bir hücresel infiltrasyon grubu 0-3 arası skala ile ayrı ayrı derecelendirildi.

Stromada izlenen iltihabi hücre infiltrasyonu derecelenmesi;

(0):İltihabi hücre infiltrasyonu mevcut değil.

(1): Biyopsinin %20'sinden azını infiltre eden iltihabi hücre infiltrasyonu mevcut

(2): Biyopsinin %20-40'ını infiltre eden iltihabi hücre infiltrasyonu mevcut

(3): Biyopsinin %40'ından fazlasını infiltre eden iltihabi hücre infiltrasyonu mevcut

Osteoblast yoğunluğunun derecelenmesi;

(1): Kontrol grubundan %10 daha fazla osteoblast proliferasyonunun olması

(2): Kontrol grubundan %20 daha fazla osteoblast proliferasyonunun olması

(3): Kontrol grubundan %30 daha fazla osteoblast proliferasyonunun olması

Osteoklast yoğunluğunun derecelenmesi;

(1): Kemik trabekülleri etrafında ortalama 3 ve altında osteoklast izlenmesi

(2): Kemik trabekülleri etrafında ortalama 3 ve 6 arasında osteoklast izlenmesi

(3): Kemik trabekülleri etrafında ortalama 6'dan fazla osteoklast izlenmesi

İmmünohistokimyasal çalışma için parafin bloklardan hazırlanan 3µ incelikteki kesitler poly-L-lysin ile kaplanmış lamlara alındıktan sonra mikrodalga fırında her biri 15 dakika olmak üzere üç siklus halinde 700 watt güç ile ısıtılmıştır. Daha sonra avidin-biotin kompleks method kullanılarak kesitler polyclonal PSA (Prostat-spesifik antijen (PSA), clone ER-PR8, [Dako, USA]), 1:200 dilüsyonla ve primer antikorda 4 saat oda ısısında inkübe edilmiştir. Son olarak da kromojen 3,3-diamino-benzidine-tetrahydrochlordide ile reaksiyon ile görünür hale getirilmiştir. Stromada infiltrasyon gösteren iltihabi hücreler, osteoblastlar ve epitel hücreleri ayrı ayrı olarak COX-2 boyanması açısından değerlendirildi. Değerlendirme şu şekilde yapıldı;

COX-2 ile boyanma gösteren iltihabi hücrelerin değerlendirilmesi;

(0): İltihab hücrelerinde COX-2 ile boyanma %5'den az

(1): İltihab hücrelerinin %5'inden fazlasında COX-2 ile boyanma mevcut

Döşeyici epitelde COX-2 boyanma değerlendirilmesi;

(0): COX-2 ile epitel hücrelerinde boyanma %5'den az

(1): COX-2 ile epitel hücrelerinde boyanma %5'den fazla

COX-2 ile boyanma gösteren osteoblastların değerlendirilmesi;

(0): COX-2 ile osteoblastlarda boyanma mevcut değil

(1): COX-2 ile osteoblastlarda boyanma mevcut

3.6. İstatistiksel Değerlendirmeler

İstatistiksel değerlendirmelerde SPSS (statistical package for social sciences) paket programı kullanıldı. Osteoblast, osteoklast ve inflamatuvar hücre sayıları ile osteoblast, inflamatuvar hücre ve yüzeyel mukozadaki epitelde bulunan keratonistlerin siklooksijenaz-2 enzim ekspresyonlarının dahil olduğu veriler değerlendirildi. Veriler, nonparametrik olduğu için Wilcoxon Signed Ranks testi ve Kruskal-Wallis testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Sonuçlar

Histopatolojik olarak kesitlerde osteoblast, osteoklast ve inflamatuvar hücre sayısına bakılmıştır. Ayrıca osteoblast, inflamatuvar hücre ve yüzeysel mukozadaki epitelde bulunan keratonistlerin, siklooksijenaz enziminin ekspresyonlarına bakılmıştır. Gruplara göre elde edilen değerler şöyledir;

2. hafta deney grubunun osteoblast sayısı: 5 adet örnekte derece 1, 5 adet örnekte derece 2' dir (Tablo 4.1). 2. hafta deney grubunun osteoklast sayısı: 4 adet örnekte derece 1, 3 adet örnekte derece 2, 3 adet örnekte derece 3'dür (Tablo 4.2). 2. hafta deney grubunun inflamatuvar hücre sayısı: 4 adet örnekte derece 0, 4 adet örnekte derece 1, 2 adet örnekte derece 2'dir (Tablo 4.3).

2. hafta deney grubunun osteoblastlarının cox-2 ekspresyonu: 6 adet örnekte (1), 4 adet örnekte (0) dır (Tablo 4.4). 2. hafta deney grubunun inflamatuvar hücrelerinin cox-2 ekspresyonu: 3 adet örnekte (1), 7 adet örnekte (0) dır (Tablo 4.5). 2. hafta deney grubunun döşeyici epitelinin cox-2 ekspresyonu: 3 adet örnekte (1), 7 adet örnekte (0) dır (Tablo 4.6).

2. hafta kontrol grubunun osteoblast sayısı: 2 adet örnekte derece 1, 4 adet örnekte derece 2, 4 adet örnekte derece 3'dür (Tablo 4.1). 2. hafta kontrol grubunun osteoklast sayısı: 8 adet örnekte derece 1, 2 adet örnekte derece 2'dir (Tablo 4.2). 2. hafta kontrol grubunun inflamatuvar hücre sayısı: 4 adet örnekte derece 0, 4 adet örnekte derece 1, 2 adet örnekte derece 2'dir (Tablo 4.3).

2. hafta kontrol grubunun osteoblastlarının cox-2 ekspresyonu: 5 adet örnekte (1), 5 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.4). 2. hafta kontrol grubunun inflamatuvar hücrelerinin cox-2 ekspresyonu: 8 adet örnekte (1), 2 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.5). 2. hafta kontrol grubunun döşeyici epitelinin cox-2 ekspresyonu: 5 adet örnekte (1), 5 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.6).

4. hafta deney grubunun osteoblast sayısı: 8 adet örnekte derece 1, 2 adet örnekte derece 2' dir (Tablo 4.1). 4. hafta deney grubunun osteoklast sayısı: 4 adet örnekte derece 1, 3 adet örnekte derece 2, 3 adet örnekte derece 3'dür (Tablo 4.2). 4. hafta deney grubunun inflamatuvar hücre sayısı: 4 adet örnekte derece 0, 4 adet örnekte derece 1, 2 adet örnekte derece 2'dir (Tablo 4.3).

4. hafta deney grubunun osteoblastlarının cox-2 ekspresyonu: 10 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.4). 4. hafta deney grubunun inflamatuvar hücrelerinin cox-2 ekspresyonu: 2 adet örnekte (1), 8 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.5). 4. hafta deney grubunun döşeyici epitelinin cox-2 ekspresyonu: 10 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.6).

4. hafta kontrol grubunun osteoblast sayısı: 5 adet örnekte derece 1, 2 adet örnekte derece 2, 3 adet örnekte derece 3'dür (Tablo 4.1). 4. hafta kontrol grubunun osteoklast sayısı: 10 adet örnekte derece 1'dir (Tablo 4.2). 4. hafta kontrol grubunun inflamatuvar hücre sayısı: 2 adet örnekte derece 0, 5 adet örnekte derece 1, 3 adet örnekte derece 2'dir (Tablo 4.3).

4. hafta kontrol grubunun osteoblastlarının cox-2 ekspresyonu: 3 adet örnekte (1), 7 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.4). 4. hafta kontrol grubunun inflamatuvar hücrelerinin cox-2 ekspresyonu: 3 adet örnekte (1), 7 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.5). 4. hafta kontrol grubunun döşeyici epitelinin cox-2 ekspresyonu: 2 adet örnekte (1), 8 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.6).

6. hafta deney grubunun osteoblast sayısı: 4 adet örnekte derece 1, 6 adet örnekte derece 2' dir (Tablo 4.1). 6. hafta deney grubunun osteoklast sayısı: 4 adet örnekte derece 1, 2 adet örnekte derece 2, 4 adet örnekte derece 3'dür (Tablo 4.2). 6. hafta deney grubunun inflamatuvar hücre sayısı: 5 adet örnekte derece 1, 5 adet örnekte derece 2'dir (Tablo 4.3).

6. hafta deney grubunun osteoblastlarının cox-2 ekspresyonu: 1 adet örnekte (1), 9 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.4). 6. hafta deney grubunun inflamatuvar hücrelerinin cox-2 ekspresyonu: 1 adet örnekte (1), 9 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.5). 6. hafta deney grubunun döşeyici epitelinin cox-2 ekspresyonu: 10 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.6).

6. hafta kontrol grubunun osteoblast sayısı: 5 adet örnekte derece 1, 2 adet örnekte derece 2, 3 adet örnekte derece 3'dür (Tablo 4.1). 6. hafta kontrol grubunun osteoklast sayısı : 1 adet örnekte derece 1, 9 adet örnekte derece 2'dir (Tablo 4.2). 6. hafta kontrol grubunun inflamatuvar hücre sayısı: 4 adet örnekte derece 0, 6 adet örnekte derece 1'dir (Tablo 4.3).

6. hafta kontrol grubunun osteoblastlarının cox-2 ekspresyonu: 4 adet örnekte (1), 6 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.4). 6. hafta kontrol grubunun inflamatuvar hücrelerinin cox-2 ekspresyonu: 5 adet örnekte (1), 5 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.5). 6. hafta kontrol grubunun döşeyici epitelinin cox-2 ekspresyonu: 4 adet örnekte (1), 6 adet örnekte (0) dir (Tablo 4.6).

	DENEY				KONTROL			
	0	1	2	3	0	1	2	3
DERECELER								
2.hafta osteoblast sayısı	-	5	5	-	-	2	4	4
4.hafta osteoblast sayısı	-	8	2	-	-	5	2	3
6.hafta osteoblast sayısı	-	4	6	-	-	5	2	3

Tablo 4.1. Osteoblast yoğunluğunun derecelenmesi;

(1): Kontrol grubundan %10 daha fazla osteoblast proliferasyonunun olması

(2): Kontrol grubundan %20 daha fazla osteoblast proliferasyonunun olması

(3): Kontrol grubundan %30 daha fazla osteoblast proliferasyonunun olması

	DENEY				KONTROL			
	0	1	2	3	0	1	2	3
DERECELER								
2.hafta osteoklast sayısı	-	4	3	3	-	8	2	-
4.hafta osteoklast sayısı	-	4	3	3	-	10	-	-
6.hafta osteoklast sayısı	-	4	2	4	-	1	9	-

Tablo 4.2. Osteoklast yoğunluğunun derecelenmesi;

(1): Kemik trabekülleri etrafında ortalama 3 ve altında osteoklast izlenmesi

(2): Kemik trabekülleri etrafında ortalama 3 ve 6 arasında osteoklast izlenmesi

(3): Kemik trabekülleri etrafında ortalama 6'dan fazla osteoklast izlenmesi

	DENEY				KONTROL			
	GRUBU				GRUBU			
DERECELER	0	1	2	3	0	1	2	3
2.hafta inflamatuvar hücre sayısı	4	4	2	-	4	4	2	-
4.hafta inflamatuvar hücre sayısı	4	4	2	-	2	5	3	-
6.hafta inflamatuvar hücre sayısı	-	5	5	-	4	6	-	-

Tablo 4.3. Stromada izlenen iltihabi hücre infiltrasyonu derecelenmesi;

(0): İltihabi hücre infiltrasyonu mevcut değil.

(1): Biyopsinin %20'sinden azını infiltre eden iltihabi hücre infiltrasyonu mevcut

(2): Biyopsinin %20-40'ını infiltre eden iltihabi hücre infiltrasyonu mevcut

(3): Biyopsinin %40'ından fazlasını infiltre eden iltihabi hücre infiltrasyonu mevcut

	DENEY		KONTROL	
	GRUBU		GRUBU	
DERECELER	0	1	0	1
2.hafta osteoblast cox-2 ekspresyonu	4	6	5	5
4.hafta osteoblast cox-2 ekspresyonu	10	-	7	3
6.hafta osteoblast cox-2 ekspresyonu	9	1	6	4

Tablo 4.4. COX-2 ile boyanma gösteren osteoblastların değerlendirilmesi;

(0): COX-2 ile osteoblastlarda boyanma mevcut değil

(1): COX-2 ile osteoblastlarda boyanma mevcut

	DENEY		KONTROL	
	GRUBU		GRUBU	
DERECELER	0	1	0	1
2. hafta inflamatuvar hücre cox-2 ekspresyonu	7	3	2	8
4. hafta inflamatuvar hücre cox-2 ekspresyonu	8	2	7	3
6. hafta inflamatuvar hücre cox-2 ekspresyonu	9	1	6	4

Tablo 4.5. COX-2 ile boyanma gösteren iltihabi hücrelerin değerlendirilmesi;

(0): İltihab hücrelerinde COX-2 ile boyanma %5'den az

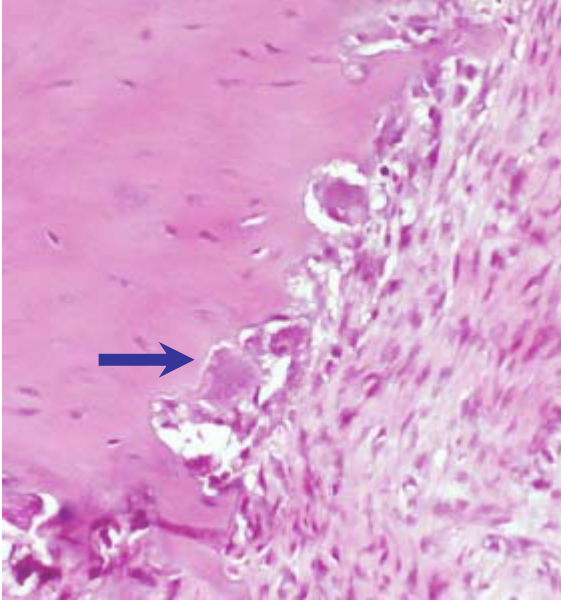
(1): İltihab hücrelerinin %5'inden fazlasında COX-2 ile boyanma mevcut

	DENEY		KONTROL	
	GRUBU		GRUBU	
DERECELER	0	1	0	1
2. hafta epitel hücre cox-2 ekspresyonu	7	3	5	5
4. hafta epitel hücre cox-2 ekspresyonu	10	-	8	2
6. hafta epitel hücre cox-2 ekspresyonu	10	-	6	4

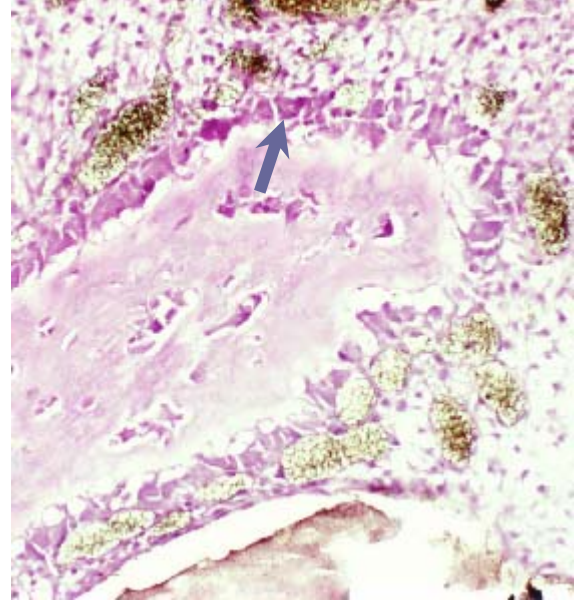
Tablo 4.6. Döşeyici epitelde COX-2 boyanma değerlendirilmesi;

(0): COX-2 ile epitel hücrelerinde boyanma %5'den az

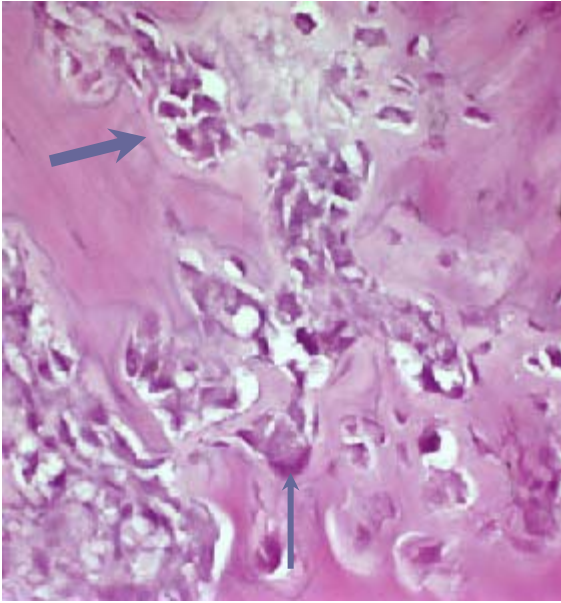
(1): COX-2 ile epitel hücrelerinde boyanma %5'den fazla



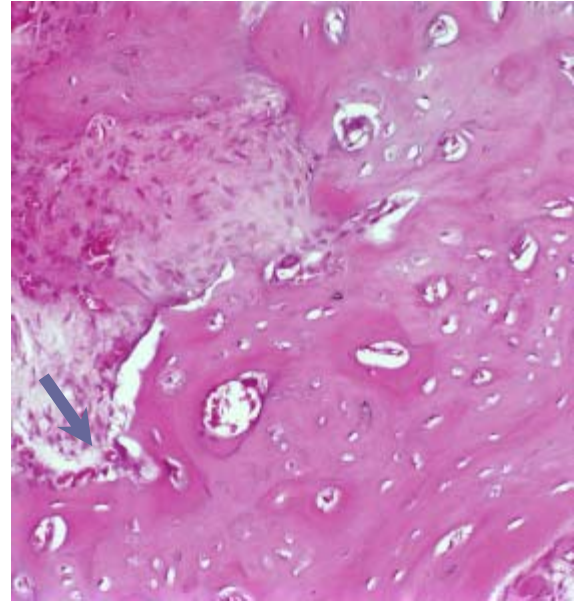
Şekil 4.1.1. 4. hafta kontrol grubuna ait bu örnekte az sayıda (derece1) osteoklast izlenmektedir (H&E).



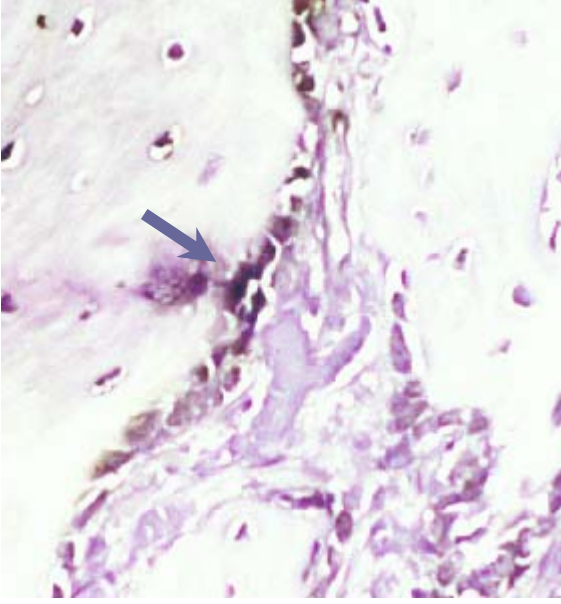
Şekil 4.1.2. 4. hafta deney grubuna ait bu örnekte çok sayıda (derece3) osteoklast izlenmektedir (H&E).



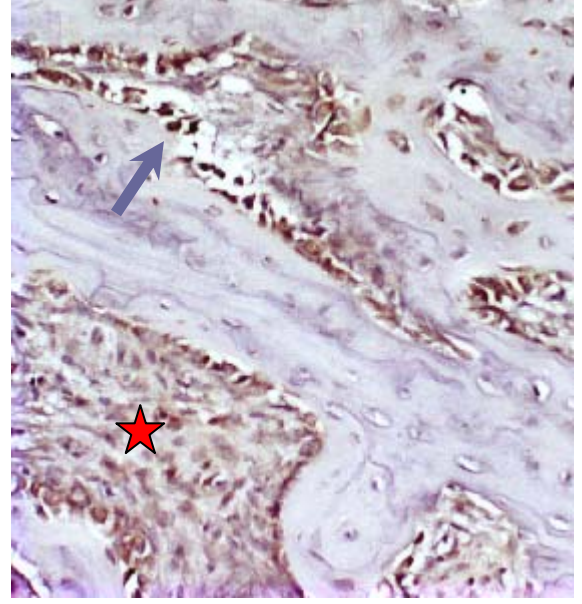
Şekil 4.1.3. 6. hafta kontrol grubuna ait bu örnekte az sayıda (derece1/ince ok) osteoklast ve çok sayıda (derece3) osteoblast izlenmektedir (H&E).



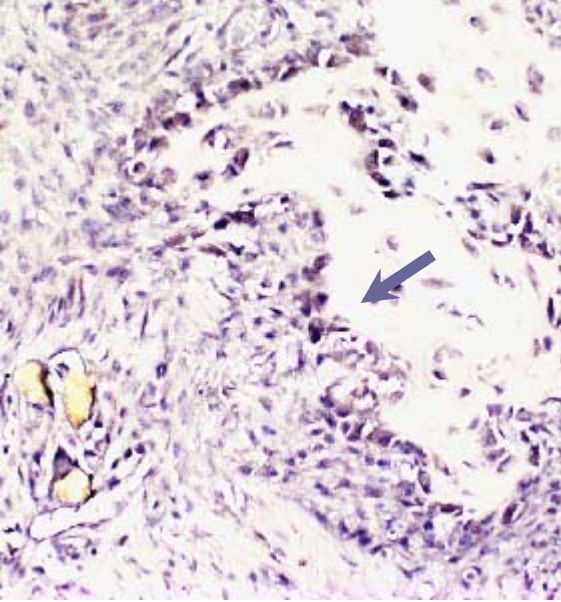
Şekil 4.1.4. 6. hafta deney grubuna ait bu örnekte az sayıda (derece1) osteoblast izlenmektedir (H&E).



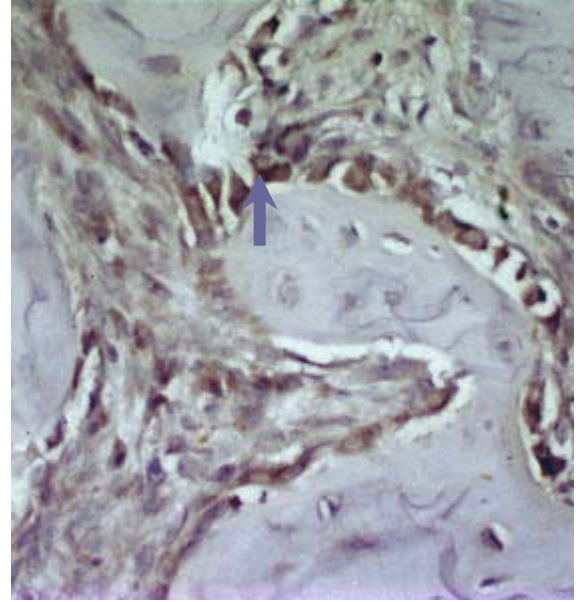
Şekil 4.1.5. 2. hafta kontrol grubuna ait bu örnekte cox-2 ile osteoblastlarda belirgin boyanma izlenmektedir.



Şekil 4.1.6. 2. hafta kontrol grubuna ait bu örnekte cox-2 ile inflamatuvar hücrelerde (yıldız) ve çok sayıda izlenen osteoblastlarda belirgin boyanma izlenmektedir.



Şekil 4.1.7. 2. hafta deney grubuna ait bu örnekte cox-2 ile sayıca orta derecede olan osteoblastlarda boyanma izlenmektedir.



Şekil 4.1.8. 4. hafta deney grubuna ait bu örnekte cox-2 ile sayıca az derecede olan osteoblastlarda boyanma izlenmektedir.

4.2. İstatistiksel Sonuçlar

4.2.1. Deney Grubu ile Kontrol Grubunun Karşılaştırması

Wilcoxon Signed Ranks testi kullanılarak 2., 4. ve 6. hafta deney grupları ile kontrol grupları karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma osteoblast, osteoklast ve inflamatuvar hücre sayıları üzerinden yapılmıştır. Ayrıca osteoblast, inflamatur hücre ve epitelin siklooksijenaz enzim ekspresyonlarıda karşılaştırılmıştır.

2. hafta kontrol grubu ile deney grubunun karşılaştırılması;

2. hafta kontrol grubu ile deney grubu için yapılan karşılaştırmalarda bir tek inflamatuvar hücre cox-2 ekspresyonu ($p<0.05$) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Deney grubunda inflamatuvar hücre cox-2 ekspresyonu kontrol grubuna göre daha az olarak saptanmıştır.

4. hafta kontrol grubu ile deney grubunun karşılaştırılması;

4. hafta kontrol grubu ile deney grubu için yapılan karşılaştırmalarda osteoblast ($p<0.05$) ve osteoklast ($p<0.05$) sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bunun sonucu olarak deney grubunda osteoklast sayısı kontrol grubuna göre daha fazla olarak saptanırken osteoblast sayısı kullanılan tarafa göre daha az olarak saptanmıştır.

6. hafta kontrol grubu ile deney grubunun karşılaştırılması;

6. hafta kontrol grubu ile deney grubu için yapılan karşılaştırmalarda dölşeyici epitelin cox-2 ekspresyonunda kontrol ve deney grubu ($p<0.05$) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bunun sonucu olarakta, deney grubunda epitel cox-2 ekspresyonu kontrol grubuna göre daha az olarak saptanmıştır. Ayrıca osteoblast ($p<0.05$) ve osteoklast ($p<0.01$) sayıları arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bunun sonucu olarak deney grubu osteoklast sayısı

kontrol grubununkine göre daha fazla olarak saptanırken osteoblast sayısı daha az olarak saptanmıştır.

4.2.2. İkinci, dördüncü ve altıncı hafta için deney ve kontrol grup içi karşılaştırma

Kruskal-Wallis testi kullanılarak 2., 4. ve 6. hafta deney ve kontrol grupları kendi içinde karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma osteoblast, osteoklast ve inflamatuvar hücre sayıları, osteoblast, inflamatur hücre ve epitel cox ekspresyonları üzerinden yapılmıştır. İstatistiksel değerlendirme sonuçları aşağıda belirtilmiştir.

Osteoblast sayısı;

2. ve 4. hafta deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 2.haftadaki osteoblast sayısı 4.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır. 2. ve 6. hafta deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 2.haftadaki osteoblast sayısı 6.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır.

2. ve 4. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 2.haftadaki osteoblast sayısı 4.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır. 2. ve 6. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 2.haftadaki osteoblast sayısı 6.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır.

Osteoklast sayısı;

2. ve 6. hafta deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 6.haftadaki osteoklast sayısı 2.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır. 4. ve 6. hafta deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 6.haftadaki osteoklast sayısı 4.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır.

2. ve 6. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 6.haftadaki osteoklast sayısı 2.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır. 4. ve 6. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 6.haftadaki osteoklast sayısı 4.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır.

İnflamatuar hücre sayısı;

4. ve 6. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 4.haftadaki inflammatuar hücre sayısı 6.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır.

Osteoblastların cox-2 ekspresyonu;

2. ve 4. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 2.haftadaki osteoblast cox ekspresyonu 4.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır. 2. ve 6. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 2.haftadaki osteoblast cox ekspresyonu 6.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır.

İnflamatuar hücrelerin cox-2 ekspresyonu;

2. ve 4. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 2. haftadaki inflammatuar hücre cox ekspresyonu 4.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır. 2. ve 6. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 2.haftadaki inflammatuar hücre cox ekspresyonu 6.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır. 4. ve 6. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 6.haftadaki inflammatuar hücre cox ekspresyonu 4.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır.

Döşeyici epitelinin cox-2 ekspresyonu;

2. ve 4. hafta kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 2.haftadaki epitel cox ekspresyonu 4.haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Çene kemiği sert ve dayanıklı bir yapı olmasına rağmen travma veya hastalık sonucu kolayca yıkıma uğrayabilmektedir. Bu yıkım sonucunda dişlerin veya dental implantların sağlığı riske girmektedir.

Harris, periodontitis teşhisi konmuş ancak tedavisini yaptırmamış 30 adet hastanın ortalama 2.1 yıl sonraki cep derinliği, ataçman kaybı ve diş sayılarını yeniden değerlendirmiştir. Bu değerlendirme sonucunda yılda ortalama olarak cep derinliğinin 0.29 mm, ataçman kaybının 0.32 mm arttığını ve yine yıllık ortalama değer olarak diş kaybının 0.32 adet olduğunu tespit etmiştir. Oral hijyen alışkanlığının daha kötü olduğu hastalarda doku kaybının ve hastalık ilerleyişinin daha da fazla olduğunu gözlemlemiştir. Sonuç olarak, periodontal hastalık tedavi edilmezse diş destek dokularının yıkılacağını ve diş kaybının oluşacağını vurgulamıştır (Harris ve ark., 2003).

Amerikan Periodontoloji Akademisi 2001 yılında, periodontitis tedavisinde kullanılan teknikleri kısa başlıklar altında toplamıştır. Diştaşı temizliği ve kök yüzeyi düzeltilmesi (SRP) ile beraber oral hijyen eğitimi; temel tedavi olarak ileri sürülmüştür. Sistemik hastalık, sigara kullanımı gibi kişiye ait özelliklerin tedavide göz önünde bulundurulması gerektiği vurgulanırken kök anatomisi, okluzyon gibi dişe ait özelliklerin de tedaviyi etkileyeceği belirtilmiştir. Farmakolojik tedavilerin sistemik veya lokal olarak uygulanabileceği söylenmiş, ancak bunların tek başına tedavi edici etkilerinin olmadığına dikkat çekilmiştir. Cerrahi tedavilerin ulaşım rahatlığı sağladığı ve dolayısıyla etyolojik faktörlerin cerrahi tedavilerle daha iyi ortadan kaldırıldığı vurgulanmıştır. Ayrıca etyolojik faktör ortadan kaldırıldıktan sonra cerrahinin bitirildiği veya iki şekilde devam ettiği eklenmiştir. Bunlardan biri, mevcut dokunun bir miktarının yeniden hastalık oluşturmaması için uzaklaştırıldığı rezektif cerrahi, diğerini ise çeşitli şekillerde kayıp dokunun yapısal ve fonksiyonel

olarak kazandırıldığı rejeneratif cerrahi olarak tanımlanmıştır. Bunlara ek olarak, tedavi protokolünde idame fazının önemi ve hasta kooperasyonunun gerekliliği vurgulanmıştır (The American Academy of Periodontoloji, 2001).

Periodontal tedavi seçeneklerini konu alan ve bunları karşılaştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Harrel ve Nunn çalışmalarında, periodontal hastalığı olan bireylerde mevcut hastalığın belirtilerinin görüldüğü tek bir dişi değerlendirmişlerdir. 91 adet hastayı tedavi edilmeyen, cerrahi olmayan periodontal tedavi (SRP) ve cerrahi periodontal tedavi gören hasta olmak üzere 3 gruba ayırmışlardır. Cerrahi tedavi gören hastalara, öncesinde SRP, okluzal uyumlama ve oral hijyen eğitimini içeren cerrahi olmayan tedaviyi de uygulamışlardır. Cerrahi tedavi olarak rejeneratif veya rezektif cerrahi teknikleri kullanmışlardır. Gruplardaki hastaların, cep derinliği, prognoz, mobilite, furkasyon problemi olmak üzere 1 yıllık klinik parametrelerdeki sonuçlarını değerlendirmişlerdir. Klinik parametrelerde düzelmelerin cerrahi tedavi sonucu olduğunu, cerrahi olmayan tedaviyle ise başarı sağlanamadığını ileri sürmüşlerdir. Tedavi olmayan hastalarda ise klinik parametrelerde hızla kötüye gidiş olduğunu gözlemlemişlerdir (Harrel ve Nunn, 2001).

Eren ve arkadaşları bir çalışmalarında, 100 adet orta derecede periodontal hastalığı olan ve lokal anestezi altında 4 yarım çeneye diştaşı temizliği ve kök yüzeyi düzeltilmesi yapılan bireylerin 3 aylık tedavi sonuçlarını incelemişlerdir. Cep derinliğinin, gingival indeksin, sondlamada kanamanın istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığını ve tedavinin başarısının yüksek olduğunu vurgulamışlardır (Eren ve ark., 2002).

Preshaw ve arkadaşları, cerrahi olmayan tedavi uyguladıkları hastalarında, benzer diğer çalışmalara oranla çok başarılı sonuçlar elde etmişler ve hatta ataçman ve kemik seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterebilmişlerdir. Ancak bunun klinik açıdan anlam ifade edemediğini

vurgulamışlardır (Preshaw ve ark., 1999). Preshaw ve arkadaşlarının bu çalışmasının sonucu, periodontal tedavideki zorluğu karşımıza çıkarmaktadır. Başarılı bir tedaviyle hastalık durdurulsa da kayıp dokuyu yeniden oluşturmak oldukça zordur ve rejeneratif tedavi tekniklerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Cortellini ve Tonetti, rejeneratif tedavinin diş kaybı üzerine olan etkisini inceleyen araştırmalarında, 175 adet derin kemikiçi defektin rejeneratif tedavisini rezorbe olabilen veya olmayan membran ve membranla beraber alloplastik greft materyali kullanarak yapmışlardır. Tedavi başlangıcında ve tedavi sonrası 2 yılda bir olacak şekilde 16 yıllık ataçman seviyelerini ve cep derinliklerini ölçmüşlerdir. Dişlerin tedavi öncesi, ortalama ataçman seviyelerindeki kayıp 10.7 ± 2.4 mm, cep derinliği ise 8.7 ± 2.3 mm olarak belirtilmiştir. Kaybedilme olasılığı olan bu dişlerin 10 sene sonrasında %96'sının halen ağızda kalabildiğini ve şiddetli yıkım olan kemikiçi defektlerde rejeneratif tedavinin önemli bir seçenek olduğunu söylemişlerdir (Cortellini ve Tonetti, 2004).

Trombelli ve arkadaşları ise, periodontal kemikiçi defektlerde, rejeneratif tedavi tekniklerinden biri olan greft materyali ve biyolojik ajan kullanımını incelemişlerdir. Araştırmacılar, 2001 yılına kadar çeşitli greft materyalleri kullanılarak yapılan rejeneratif tedavilerle sadece flap operasyonunun karşılaştırıldığı insan çalışmalarını incelemişlerdir. 6 aydan az takip süresi olan ve tam verilerine ulaşılamayan çalışmalar dahil edilmemiştir. İncelenen çalışmaların yöntemlerindeki farklılık nedeniyle sayısal kesin sonuçlar verememekle beraber, sadece flap operasyonuna göre greft materyalinin veya biyolojik ajanların kullanımının, ataçman seviyesini daha fazla artırdığını vurgulamışlardır (Trombelli ve ark., 2002).

Reynolds ve arkadaşları, periodontal kemik defektlerinde greft kullanımının sadece flap operasyonuna oranla başarısını incelemişlerdir. 2002 yılına kadar yapılmış insan çalışmalarından, istatistiksel sonuçlar verebilen 66 adet çalışmayı

incelemişlerdir. Sonuçta kemik grefti kullanımında, istatistiksel olarak anlamlı oranda daha fazla kemik ve klinik ataçman seviyesinde artma, krestal kemik kaybında ve cep derinliğinde azalma olduğunu görmüşlerdir. Ayrıca allogreftlerle kalsiyum fosfat (hidroksiapatit) seramik greftler arasında fark olmadığını gözlemlemişlerdir. Histolojik açıdan bakıldığında ise otojen, allojenik ve ksenojenik greftlerde yeni ataçman oluşurken alloplastik greftlerde rejenerasyondan çok tamirle iyileşmenin olduğunu tespit etmişlerdir (Reynolds ve ark., 2003).

Greft materyalleri arasında otojen kemik greftleri altın standart olarak kabul edilse de ikinci bir cerrahi bölgesine ihtiyaç duyulması ve istenen miktarın her zaman elde edilememesi, bu greftin kullanımını kısıtlamaktadır. Dolayısıyla diğer greft türlerinin kullanımı ve kombine tedavilerle etkinliklerinin artırılması gündeme gelmektedir (Simonpietri-C ve ark., 2000; Lekovich ve ark., 2001).

Otojen kemik grefti kadar etkili olduğu söylenen bir sentetik kemik greftini Yukna ve arkadaşları incelemişlerdir. Araştırmacılar, periodontal kemik defektlerinde, sadece flap operasyonu, ABM/P-15 kemik grefti ve demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftini (DFDBA) kullanımını karşılaştırmışlardır. Çalışmada, 31 adet hastanın, 3'er tane periodontal kemikiçi defekt bölgesi, karşılaştırılan 3 ayrı seçenekle tedavi edildikten 6 ay sonra, defekt dolumu açısından değerlendirilmiştir. Defekt dolumunun sadece flap operasyonu yapılanlarda %40.3, DFDBA kullanılanlarda %51.4 ve ABM/P-15 kullanılanlarda ise %72.3 olarak bulmuşlardır (Yukna ve ark., 1998).

Bu başarılı sonuçtan sonra Yukna ve arkadaşları, ABM/P-15 greft materyalinin etkisini anlamak üzere öncekine benzer şekilde bir çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar bu yeni greft materyalinin başarısında tip 1 kollajenin sentetik kopyası olan P-15'in rolü olduğunu düşünmüşlerdir. Buradan yola çıkarak ABM ve ABM/P-15'i karşılaştırmışlar ve kemik oluşumundaki yüksek başarının nedeninin P-15 olduğunu göstermişlerdir (Yukna ve ark., 2000).

Tehemar ve arkadaşları, hayvanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında membran ve/veya ABM/P-15 ile beraber veya tek başına immediyat implant yerleştirmişlerdir. Kemik-implant ilişkisinin değerlendirildiği bu çalışmada 3 aylık dönemde en yüksek oranın greft materyalinin bulunduğu bölgelerde olduğu görülürken 6 aylık dönemde tek başına membranın kullanıldığı bölgelerde de benzer orana yaklaşıldığını görmüşlerdir. Burada greft materyalinin erken dönemdeki başarısına dikkat çekmişlerdir. Ayrıca greftin kullanıldığı bölgelerde ilk oluşan olgunlaşmamış, organizasyonu bozuk ve dayanıksız kemiğin daha hızlı bir şekilde olgun kemik ile yer değiştirdiğini ileri sürmüşlerdir (Tehemar ve ark., 2003).

Valentin ve Weber, ABM/P-15 kemik greftinin uygulanmasından sonraki kaybın %5-10 arasında olurken otojen kemik greftinde %30-50 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, bu durumu ABM/P-15 kemik greftindeki organik kısmın daha yüksek oranda olması, hücresel dönüşümlerin az olması ve fibrin kontraksiyonunun daha az olmasıyla ilişkilendirmişlerdir (Valentin ve Weber, 2004). Bu sonuç ABM/P-15 kemik greftinin daha çok miktarda kemik dolumunu sağladığını ve ideal bir greft materyalinin özelliklerine sahip olmaya yakın olduğunu düşündürmektedir.

Kemik hastalıkları ve kemik iyileşmesinde bazı ilaçların etkilerini incelemek daha önceki bir çok çalışmanın konusu olmuştur (Khan ve ark., 1997; Ross ve ark., 2003, Mathoo ve ark., 2004). İkinci nesil aminobifosfonat olan alendronat kemik yıkımını önleyen güçlü etkisiyle bu amaca yönelik sık kullanılan bir ilaçtır. Roschger, Rodan, Hernandez gibi birçok araştırmacının belirttiği gibi alendronat kemik yıkımını azaltan ve kemik yoğunluğunu artıran bir takım özelliklere sahiptir (Roschger ve ark.,1997; Rodan, 1997; Hernandez ve ark., 2001). Buna göre alendronatın periodontoloji ve implantolojideki ortaya koyacağı etki birçok literatürde değerlendirilmiştir.

Brunsvold ve arkadaşları, ilk olarak yaptıkları bir hayvan çalışmasında sistemik olarak uygulanan alendronatın periodontitisteki etkisini göstermişlerdir. Hayvanları, birine plasebo ve diğer ikisine test edilen ilacın farklı konsantrasyonları (0.05 mg/kg ve 0.25 mg/kg) damar içine, 2 haftada bir 16 hafta boyunca verilecek şekilde üç gruba ayırmışlardır. Ayrıca ilacın verildiği gün ligatür teli kullanarak hayvanlarda deneysel periodontitis oluşturmaya başlamışlardır. Başlangıçta, 2. ve 4. ayda plak indeksi, gingival indeks, cep derinliği ve radyografik ölçümleri yapmışlardır. Çalışmanın sonucu olarak alendronatın düşük dozda (0.05 mg/kg), periodontitisteki kemik yoğunluğu kaybını önlediğini ancak plak indeksi, gingival indeks ve cep derinliğini etkilemediğini bulmuşlardır (Brunsvold ve ark., 1992).

Kaynak ve arkadaşları, yine bir hayvan çalışmasında 0.5 mg/kg'lık alendronatın kemik rezorpsiyonuna olan etkisini histopatolojik olarak incelemişlerdir. Hayvanları plasebo ve ilaç grubu olmak üzere ikiye ayırmışlardır. İlacı, mukoperiosteal flep cerrahisinden 1 hafta önce, cerrahi esnasında ve cerrahiden 1 hafta sonra olacak şekilde subkutan uygulamışlar ve 21. gün hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Periodontal dokulardaki inflamatuvar hücre infiltrasyonuna, fibrozis ve kollajen formasyonuna, rezorbsiyon alanlarına (osteoklast yüzeyler), osteoblastik aktiviteye (oluşum yüzeyleri), osteoklast sayı ve morfolojisine bakmışlardır. Sonuçlarda, alendronat grubunda, fibrozis ve kollajen formasyonunun istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığını ve rezorbsiyon alanlarının azaldığını bulmuşlardır. Diğer değerler için fark bulamazken alendronatın kullanıldığı taraftaki osteoklast morfolojilerinin bozulmuş olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda alendronatın periodontal hastalıkta tek başına veya antiinflamatuvar ilaçlar, kemik greftleri, membranlar ve dental implantlarla kombine olarak kullanılabileceğini söylemişlerdir (Kaynak ve ark., 2003).

Rocha ve arkadaşları, ilk olarak alendronatın insanda periodontal hastalıkta olan etkisini araştırmıştır. 40 adet tip 2 diyabeti ve 5 yıllık bir periodontal hastalık

geçmiş olan bireyleri iki gruba ayırmışlardır. Bir gruba 10 mg/günlük alendronat ve diğer gruba da placebo ilacı 6 ay süresince vermişlerdir. Diyabetin en sık karşılaşılan komplikasyonlarından birinin periodontal hastalık olması ve diyabetli hastalarda krestal kemik yıkımının belirgin bir özellik olması Rocha ve arkadaşlarını klasik periodontal tedavilere destek olabilecek tedavi seçeneklerine doğru itmiştir. Sonuçta alendronat kullanan grupta kemik rezorbsiyonun daha az olduğu, kemik yüksekliğinin daha çok arttığı, klinik parametrelerin daha iyiye gittiği bulunmuş ve ayrıca alendronatın 10 mg/günlük, 6 ay süresince kullanımının iyi tolere edildiği belirtilmiştir (Rocha ve ark., 2001).

Rocha ve arkadaşları, bir diğer çalışmalarında alendronatın sistemik kullanımının, periodontal hastalıkta görülen kemik yıkımına etkisini postmenapozal kadınlarda incelemişlerdir. Önceki çalışmalarına benzer olarak yine kemik yıkımının sistemik bir nedenle artmış olduğu periodontitis hastalarında araştırma yapmışlardır. Araştırmacılar, 6 ay süresince 10 mg/günlük alendronat kullanımının kemik yüksekliğini artırdığını ve cep derinliğini, sondlamada kanamayı, kemik turnoverını azalttığını rapor etmişlerdir (Rocha ve ark., 2004).

Lane ve arkadaşları, orta veya şiddetli periodontitisi olan bireyleri iki gruba ayırmışlardır. Grupların birine bir yıl süreyle alendronat (10 mg/günlük) veya diğer bir aminobifosfonat olan risedronat (5 mg/günlük) oral tablet olarak verirken diğer gruba placebo ilaç vermişlerdir. Her iki gruba da mekanik tedavi uygulamışlardır. Araştırmacılar, başlangıç, 6 ve 12 aylık klinik ve radyografik değerlendirmelere bakarak, ilaç kullanan bireylerdeki ataçman kazancının daha fazla olduğunu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğunu söylemişlerdir. İlaç kullanan bireylerde ataçman kazancı 2 mm'den daha fazla olarak tespit edilmiştir. Ayrıca radyografik olarak yapılan incelemeler ilacın periodontal kemik yoğunluğunu koruduğunu göstermiştir. Sonuçta, aminobifosfonatların periodontolojide mekanik tedaviye destek olacak şekilde kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir (Lane ve ark., 2005).

Literatürdeki çalışmaların çoğu bifosfonatların sistemik kullanıma yöneliktir. Ancak Bifosfonatların sistemik kullanımda %10 oranında gastrointestinal rahatsızlık, hipokalsemi, hipofosfatemi, baş ağrısı, kas ağrı ve krampları gibi yan etkiler gözlenmiştir. %1 oranında ise anjioödem, duodenal ülser, özefagus erozyonları, orafarengial ülser, aşırı duyarlılık reaksiyonları, ürtiker gibi yan etkilerde görülebilmektedir (Lacy ve ark., 2003). Bu yan etkilere ek olarak, Hellstein ve Marek'in belirttiğine göre, parenteral verilen bifosfonatlar çene kemiğinde osteokimonekrosise neden olmaktadır. Bunun sonucunda da çene kemiğinde ağrılar ve iyileşme göstermeyen yaralar oluşmaktadır (Hellstein ve Marek, 2005). Peridontoloji ve implantoloji alanlarında karşılaşılan hastalıkların büyük ölçüde lokal olması ve bütün vücuda uygulanacak sistemik bir tedaviye gerek duyulmaması; aynı zamanda alendronatın sistemik uygulamasıyla karşımıza çıkan istenmeyen etkileri nedeniyle alendronatın lokal kullanımı bir tercih sebebi olabilmektedir.

İlk olarak 1997 yılında Yaffe ve arkadaşları alendronatın lokal uygulamada mukoperiosteal flap kaldırılması sonrası oluşan kemik yıkımını engelleyebileceğini ratlar üzerinde göstermişlerdir. Araştırmacılar 20 mg'lık ilacı 1 ml'lik serum fizyolojik solusyonunda çözdükten sonra pamuk ruloya emdirmişler ve bu pamuk ruloyu 2 saat süreyle kemik yüzeyinde bırakarak lokal uygulamayı yapmışlardır. Radyografik olarak elde edilen görüntü analizlerinin sonucunda lokal olarak alendronat uygulanmayan bölgelerde geniş rezorbsiyon alanları gözlenirken alendronat uygulanan bölgelerde bunlara raslanmadığı gibi kemik yoğunluğunun arttığını gözlemlenmiştir (Yaffe ve ark., 1997).

Daha sonraki yıllarda Yaffe ve arkadaşları, benzer bir hayvan çalışması yapmışlardır. Burada radyoaktif alendronat kullanarak tibia ve mandibulada ilacın ne kadar biriktiğini görmeye çalışmışlardır. Bunun için mukoperiosteal flep kaldırmışlar ve bir grupta radyoaktif alendronatın emdirildiği tamponu 10 dakika, diğer grupta 60 dakika olacak şekilde kemik yüzeyinde bekletmişlerdir. Sonuçta

bekleme zamanına bağlı olarak ilacın kemikteki konsantrasyonunun arttığı, mandibulada tibiadan daha çok emilim olduğu ve en önemlisi, ilacın oluşum yüzeylerinde değil, yıkım yüzeylerinde depolandığını ortaya koymuşlardır (Yaffe ve ark., 1999).

Binderman ve arkadaşları, uygulama tekniği açısından alendronatın lokal uygulandığı diğer çalışmalara benzer şekilde bir hayvan çalışması yapmışlardır. Araştırmacılar jelatin bir tampona, ilacın farklı dozlarını emdirerek, bir grupta mukoperiosteal flebin kaldırıldığı cerrahi bölgesine, diğer bir grupta da cerrahi bölgesinden uzak bir yere (yanak submukozası) 2 saat süreyle uygulamışlardır. Çalışma sonucu olarak, lokal alendronatın, periodontal cerrahi tedavilerde kullanılan mukoperiosteal fleblerde görülen kemik rezorbsiyonunu engellemedeki en etkili dozunun cerrahi bölgesine uygulanacaksa 200 g, uzak bir yere uygulanacaksa 400 g olduğunu ileri sürmüşlerdir (Binderman ve ark., 2000).

Alendronatın lokal uygulanmasına yönelik farklı bir tekniği, Meraw ve arkadaşları geliştirmişlerdir. Araştırmacılar alendronatı implant yüzeyine uygulamış ve alendronatsız implantlarla karşılaştırarak, alendronatın kemik-implant ilişkisine olan etkisini incelemişlerdir. Lokal alendronat uygulaması için hidroksiapatitle kaplı ve parlak yüzeyli olmak üzere iki tip dental implant kullanmışlardır. Hidroksiapatit kaplı implantları 1 hafta süreyle 37 C sıcaklıkta 0.1 mmol alendronat solusyonunda bekletmek ve parlak yüzeyli titanyum implantları da 2.8 g'lık alendronatla kaplamak suretiyle alendronatlı implantları oluşturmuşlardır. 1 ay sonra kesitlerin incelenmesiyle alendronatın her iki yüzeyde de kemik oluşumunu hızlandırdığını göstermişlerdir (Meraw ve ark, 1999).

Denissen ve arkadaşları da benzer şekilde başka bir aminobifosfonatı { (3-dimetiloamino-1-hidroksipropilidin)-1,1-P-C-P} hidroksiapatit kaplı implant yüzeyine uygulamışlardır. Bu araştırmacılar, bu implantın iyileşmede herhangi bir olumsuz etkisinin olup olmadığını veya yabancı cisim reaksiyonu oluşturup oluşturmadığını

incelemişlerdir. Histolojik ve histomorfometrik sonuçlar doğrultusunda kemik iyileşmesinin normal seyirinde olduğunu gösterirken bifosfonat/hidroksiapatit kaplı implantların doku ile iyi uyum sağladığını da vurgulamışlardır (Denissen ve ark., 2000).

Bazı araştırmacılar, sistemik veya lokal kullanımda kemik yıkımını önleyen bu ilaçların kemik oluşumuna yardımcı olan greft materyalleriyle beraber kullanımı gündeme getirmiştir. Buna göre Aspenberg lokal uygulanan alendronatın otojen kemik grefti üzerine olan etkisini incelemiştir. Çalışmasından elde ettiği sonuçlara dayanarak alendronatın otojen kemik greftinin rezorpsiyonunu geciktirdiğini ve bu etkisiyle greftin erken rezorpsiyonuna bağlı oluşabilecek mekanik başarısızlıkların önlenmesinde yararlı olabileceğini ileri sürmüştür (Aspenberg ve Astrand, 2002). Myoung ve arkadaşları bu sonuçlara paralel olacak şekilde, bifosfonatların sistemik uygulamasının da otojen kemik greftinin rezorpsiyonunu azalttığını göstermişlerdir (Myoung ve ark., 2001).

Yaffe ve arkadaşları, sistemik veya lokal kullanımda alendronatın kemik yıkımını engellediğinin bilindiğini ancak ilacın kemik oluşumundaki etkisinin tam olarak ortaya konulamadığını ileri sürmüşlerdir. Buradan da yola çıkarak bir hayvan çalışması planlamışlardır. Çalışmada kullanılacak ratlardan elde edilen kemik iliğini, önceden hazırlanmış demineralize rat femur silindirlerine yerleştirmişler ve daha sonra bu silindirleri çalışmada kullanılan ratlara subkutan implante etmişlerdir. Deney grubundaki ratları ikiye ayırarak 0.5 mg/kg alendronatı bir gruba implantasyondan sonraki 1., 2. ve 3. haftalarda, ikinci gruba da aynı doz ilacı implantasyondan sonra 3., 4. ve 5. haftalarda vermişlerdir. Kontrol grubuna aynı şekilde plasebo uygulamışlardır. Deney ve kontrol grubundaki hayvanları eşit sayıda olacak şekilde implantasyondan sonraki 4, 6, 8 ve 10 haftada sakrifiye etmişlerdir. Elde edilen histolojik kesitlerde kortikal ve trabekuler kemik, osteoblastlar, yıkım yüzeyleri ve ilik dokunun hücresel içeriğini değerlendirmişlerdir. Sonuçta alendronatın kemik oluşumunun olduğu ilk 3 haftada etkili olmadığını

ancak formasyon sürecinden sonra oluşan rezorbsiyon döneminde yani 3 haftadan sonraki dönemde alendronat uygulamasının kemik yıkımını engellediğini bulmuşlardır. Bu sonucu alendronatın kalsiyum fosfatın katı fazına olan ilgisi ve dolayısıyla 2. haftadan sonra oluşan kemik mineralizasyonunda ancak etkili olabileceği düşüncesiyle ilişkilendirmiş ve alendronat dozunda bu sonuçta etkili olabileceğini vurgulamışlardır (Yaffe ve ark., 2003).

Altundal ve Gürsoy, alendronatın kemik oluşumu üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, çalışmalarını planlarken alendronatın kemik yıkımındaki engelleyici etkisinin mekanizmalarını değerlendirmişlerdir. Bu noktada alendronatın osteoklast inhibisyonunu osteoblastik hücreler üzerinden yapabileceğini vurgulamışlardır. Dolayısıyla alendronatın kemiğin yeniden yapılanma döneminde oluşum sürecinde de bir etkisi olabileceğini ve bu dönemde kemik yıkımının engellenmesinin, yapım ve yıkımın birbirine eşlik etmesi gereken dönemde olumsuz sonuçlar doğurabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ratlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında 2, 4 ve 12 haftalık deney (0.25 mg/kg subkutan alendronat) ve kontrol grubu oluşturmuşlardır. Hayvanların femurlarında bir bölgede deneysel defekt oluşturmuşlar ve diğer bir bölgeden de otojen kemik grefti elde etmişlerdir. Kan örneklerinde ve histolojik kesitlerde alendronatın otojen kemik greftindeki kemik oluşumunu artırdığını rapor etmişlerdir (Altundal ve Gürsoy, 2005).

Literatürdeki Alendronatın lokal veya sistemik uygulamalarına yönelik çalışmalar ilacın etki mekanizması üzerine yapılan çalışmaları da gündeme getirmiştir. Buna göre alendronatın etki mekanizması üzerine yapılan araştırmalarda, alendronatın kemik yıkımını engelleyici etkisini osteoklastların hücre fonksiyonlarını bozarak sağladığı ileri sürülmüştür (Sato ve ark, 1991; Opas ve ark, 1997; Kaynak ve ark., 2000).

Halasy-Nagy ve arkadaşları, yaptıkları in vitro bir çalışmada aminobifosfonatlar (alendronat, risedronat) ile nonaminobifosfonatların (etidronat, klodronat) osteoklastlar üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, osteoklast apoptozisinin kemik yıkımını kesin engelleyecek bir yol olarak değerlendirirken, in vivo olarak alendronat üzerine yapılmış bazı çalışmalarda kemik yıkımının engellenmesiyle osteoklast sayısında artışın beraber görüldüğünü tespit etmişlerdir. Bunu araştırmak üzere tavşan tibia ve femurundan elde edilen dokular üzerine farklı dozlardaki bifosfonatların etkilerini incelemişlerdir. Sonuçta iki grup bifosfonatın, hedefleri olan intrasellüler enzimler açısından ayrıldığını belirtmişlerdir. Nonaminobifosfonatlardan olan etidronatın ve klodronatın rezorpsiyonu engelleyici etkisinin osteoklastların primer apoptozisi ile sağlarken, aminobifosfonatlardan olan alendronatın ve risedronat ise osteoklastların hücre iskeletinin düzenlemesini sağlayan ve dalgalı membran yapısını oluşturan enzimlerin inhibisyonu ile sağladığını belirtmişlerdir (Halasy-Nagy ve ark., 2001).

Van Beek ve arkadaşları, Halasy-Nagy ve arkadaşlarından önce benzer şekilde in vivo olarak makrofaj ve osteoklast sayısında artışa rağmen alendronatın kemik yıkımını engellediğini gösteren çalışmalardan yola çıkarak bir çalışma planlamışlardır. Çalışmalarında 4 hafta süresince günlük 0.25 mg/kg alendronat tedavisi gören ratların kemik iliğindeki makrofaj ve osteoklast öncü hücrelerini incelemişlerdir. Alendronatın, kemik iliğindeki makrofaj ve osteoklast progenitör hücrelerin makrofaj ve osteoklast oluşturma potansiyelini etkilemediğini ve mevcut etkinin olgun makrofaj ve osteoklastlar üzerine olduğunu bulmuşlardır (Van Beek ve ark., 1997).

Altundal ve Güvener, alendronatın çekim boşluğundaki rezorpsiyona olan etkisini inceleyen hayvan çalışmalarında, histopatolojik olarak osteoklast, osteoblast, havarsian kanal, rezorptif boşlukların sayısına ve osteoid oluşumuna bakmışlardır. Ayrıca idrar kalsiyum, kreatin ve serum kalsiyum, fosfat, alkalin fosfataz seviyelerini ölçmüşlerdir. Bu birçok parametreyi kullanarak kemik yıkımının

engellendiğini gösterirken osteoblast ve osteoklast sayısında azalma olduğunu belirtmişlerdir (Altundal ve Güvener, 2004).

Roger ve arkadaşları, düşük dozda kullanılan aminobifosfonatların osteoklastik aktiviteyi engelleyebileceğini ancak in vivo olarak geçicide olsa osteoklast sayısında bir artışa neden olabileceğini ve osteoklastların sayısı artmış olsada kemik rezorpsiyon yüzeylerinde osteoklastların inaktif olduklarını ileri sürmüşlerdir. Bu çelişkili durumun kemik yıkımının engellenmesine karşı görülen bir tepki olarak değerlendirilebileceği ayrıca belirtilmiştir (Rogers ve ark, 2000).

Alendronatın sadece osteoklastlar üzerinde değil olgun osteoblastlar üzerinde de çeşitli etkileri olduğu bilinmektedir. Bu etki daha çok osteoblastların salgıladığı ve osteoklastlar için gerekli faktörlerin inhibisyonu olarak karşımıza çıkmaktadır. Alendronatın kemik rezorpsiyonunu azaltmasında önemli mekanizmalardan biride osteoblast üzerinden osteoklastları etkilemesi olarak yorumlanmaktadır. Tam mekanizma bilinmesede osteoblastlar üzerindeki etkinin ilacın dozuna göre değişiklik gösterdiği söylenebilmektedir (Rogers ve ark., 2000).

Garcia-Moreno ve arkadaşlarının in vitro çalışmasında alendronatın insan osteoblastlarının proliferasyonu, canlılığı, kollajen sentezleme ve mineral depolama kapasiteleri üzerine olan etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda yüksek dozda alendronatın osteoblast sayısını azalttığı, ancak osteoklastların etkilendiği dozda (2×10^{-9} mol/L) osteoblastların etkilenmediği gösterilmiştir (Garcia-Moreno ve ark., 1998).

Im ve arkadaşları, aminobifosfonatların osteoblastlar üzerine olabilecek anabolik etkisini ve kemik oluşumundaki rolünü araştırmışlardır. Çalışmalarında insan trabeküler kemik hücre kültürü kullanmışlar ve osteoblastik hücrelerin sayıca ilaç kullanımıyla arttığını göstermişlerdir. Ayrıca osteoprogenitör hücrelerin

osteoblastik hücelere dönüşümünde etkili olan alkalen fosfatazında aktivitesinin ilaç kullanımıyla arttığını belirtmişlerdir (Im ve ark., 2004).

Osteoklastların ve makrofajların mononükleer fagositik sisteme ait olduğu düşünöldüğünde, bifosfonatların sadece kemik metabolizmasında değil inflamatuvar cevapta da etkili olabileceği, bifosfonatların, osteoklastlar ve osteoblastlar üzerine olan etkilerinin yanında inflamasyonda da etkili olduğu araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (Yamaguchi ve ark., 2000; Itoh ve ark., 2004; Funayama ve ark., 2005; Yu ve ark., 2005).

Araştırmacılar, ayrıca inflamasyondaki etkileri açısından da aminobifosfonatlarla nonaminobifosfonatların farklılık gösterdiğini ve aminobifosfonatların inflamasyonu artırırken nonaminobifosfonatların antiinflamatuvar etkiye sahip olduklarını söylemişlerdir (Yamaguchi ve ark., 2000; Itoh ve ark., 2004; Funayama ve ark., 2005; Yu ve ark., 2005).

Yamaguchi ve arkadaşları, hayvan çalışmalarında aminobifosfonatların inflamasyondaki etkilerini incelemişlerdir. İnflamasyonun belirtilerinden biri olan histamin oluşturan enzim (histidin dekarboksilaz/HDC) artışını değerlendirmişlerdir. Bu enzimin artışı granüositlerin, makrofajların ve osteoklastların sayısını artırmaktadır. Aminobifosfonat kullanımında HDC enzim artışı gözlemlemişlerdir. Bu enzimin artışıındaki mekanizmanında IL-1'in artışıyla ilişkilendirmişlerdir. Bu artışın in vivo olarak biyokimyasal nedeni olarakta, aminobifosfonatların makrofaj veya endotelial hüceleri, osteoklastları etkiledikleri mekanizmalarla etkileyerek IL-1 salınımını indüklemesi olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Yamaguchi ve ark., 2000).

Gür ve arkadaşları, alendronatin ve kalsitoninin kullanıldığı osteoporoz hastalarındaki sitokin artışını değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak alendronat kullanımının, IL-6 ve TNF α üretimini inhibe ettiğini, ancak IL-1 β ve IL-6r'yi

artırdığını tespit etmişlerdir. Bu noktada farklı bir sonuç bulunduğuna dikkat çekmişlerdir (Gür ve ark., 2003).

Funayama ve arkadaşları, aminobifosfonatların, histamin oluşturan enzimlerin (histidin dekarboksilaz/HDC) aktivitesini artırdığını, splenomagaliye ve timus atrofisine neden olduğunu, peritoneal hücreleri artırdığını, toraksta eksuda oluşturduğunu, kollajen kaynaklı artiritisi hızlandırdığını, lipopolisakkarit kaynaklı inflamasyonu artırdığını ve inflamatuvar etkilerinde IL-1'in rol oynadığını belirtmişlerdir. Diğer yandan da aminobifosfonatların nonaminobifosfonatlara göre yaklaşık 100 kat daha güçlü olan inhibisyon etkilerini vurgulamışlardır. Buradan yola çıkarak araştırmacılar, aminobifosfonatlarla nonaminobifosfonatları beraber kullanmış ve güçlü inhibisyon etkisini elde ederken istenmeyen inflamatuvar artışın önlenmesini hedeflemişlerdir. Bu amaçla bir grup rata alendronatla beraber klondronat, diğer grubada alnedronatla beraber etidronat vermişlerdir. Sonuçta klondronatla beraber alendronat kullanımının istenen sonucu verdiğini tespit etmişlerdir. Etidronatı tercih etmemelerinin nedenini, etidronatın alendronatla hidroksiapatite tutunmakta yarışmasına ve alendronat kaynaklı HDC seviyesi artışını ancak yüksek dozda azaltabilmesine bağlamışlardır (Funayama ve ark., 2005).

Itoh ve arkadaşları, kronik inflamasyona bağlı gelişen kemik deformitelerinde klondronatın ve alendronatın etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar daha önceki çalışma sonuçlarını gözönünde bulundurarak, alendronatın lipopolisakkarit (LPS) kaynaklı IL-1, IL-6 ve TNF α gibi prositokin artışına neden olmasını, klondronatın ise sitokin salınımını baskılamasını bekledikleri için iki farklı mekanizmaya sahip bifosfonatı çalışmalarında kullanmayı tercih etmişlerdir. İlaçları, deneysel artiritis oluşturdukları ratlara vermişlerdir. Sonuçlarda beklendiği gibi her iki ilacın kemik yıkımını azalttığını ancak şişlik gibi gözlenen inflamatuvar değişiklikleri sadece klondronatın baskıladığını gözlemlemişlerdir (Itoh ve ark., 2004).

Yu ve arkadaşları, alendronat kaynaklı inflamasyonu önlemede klondronatin, aspirinin ve deksamethazonun etkisini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar alendronatin temel inflamatuvar etkisinin IL-1 üzerinden olduğunu varsayarak çalışmalarının sonuçlarını yorumlamışlardır. Tipik bir nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç olan aspirinin (50-200 mg/kg) inflamasyonu engelleyici etkisinin siklooksijenaz ve kinaz- β inhibisyonuyla sağladığını ve alendronatin inflamasyonu artırıcı etkisini önleyemediğini belirtmişlerdir. Tipik bir sentetik glukokortikoid olan deksamethazonun (0.5-5 mg/kg) ise inflamasyonu kolesterol sentezindeki enzim inhibisyonuyla sağladığını ve alendronata bağlı oluşan inflamasyonu engellediğini belirtmişlerdir. Klondronatında alendronata bağlı oluşan inflamasyonu engellediğini ve bunu bir şekilde alendronatin sadece osteoklastları etkilemesini sağlayarak yapabildiğini belirtmişlerdir (Yu ve ark., 2005).

Matsuo ve arkadaşları ise aminobifosfonatların antiinflamatuvar etkilerinin olduğunu ileri süren bir çalışma yapmışlardır. Ratlar üzerinde aminobifosfonat grubu ilaçlardan olan incadronatin kemik yıkımını, kartilaj dejenerasyonunu ve eklem inflamasyonunun azalttığını göstermişlerdir. Bu antiinflamatuvar mekanizmanın, makrofaj migrasyonunun inhibisyonu aracılığıyla olduğunu söylemişlerdir. Ayrıca, 1999 yılında Cantatore ve arkadaşları tarafından yapılan ve alendronatin IL-1, IL-6 ve TNF α değerlerini azalttığını gösteren çalışmayı da kendi çalışmalarını destekleyen bir çalışma olarak göstermişlerdir (Matsuo ve ark., 2003).

Denoyelle ve arkadaşları, aminobifosfonat grubu ilaçlardan olan zoledronik asitin, kanserle ilişkili osteolisisi azaltmasının mekanizmasını araştırmıştır. Çalışma sonuçlarında aminobifosfonatın siklooksijenaz-2 enzimini inhibe ettiğini ve bunun sonucu olarakta osteoklastik rezorpsiyonu stimule eden PGE2' yi azalttığını ve böylece kemiği koruduğunu tespit etmişlerdir (Denoyelle ve ark., 2003).

Hino ve arkadaşları, alendronatı kemik turnoverının arttığı kronik inflamatuvar bir hastalıkta denemişlerdir. Araştırmacılar, kliniklerine alt çenede şiddetli ağrı şikayetiyle gelen ve yapılan klinik, radyografik ve histolojik muayene sonucu difüz sklerozan osteomyelit teşhisi konan hastada, hastalığın klasik tedavilere cevap vermemesi sonucu alendronat kullanmışlardır. Yoğun antibiyotik ve anti-inflamatuvar tedavisi gördüğü halde ağrıları geçmeyen hastaya, 500 ml salin içerisinde dilüe edilmiş 10 mg alendronatı damar içine 4 saatlik bir süreçte vermişlerdir. Bu işlemde sonra 24 saat içerisinde hastanın ağrı şikayetinin azalmaya başladığını belirtmişlerdir. Alendronatın istenmeyen bir inflamatuvar değişikliğe neden olabileceğini gözönünde bulunduran araştırmacılar, alendronatı uygularken ve uygulamadan sonraki bir hafta süresince, hastanın fiziksel durumunu kontrolde tutmuş, tüm kan değerlerini ölçmüşlerdir. Herhangi bir yan etki görülmezken bir miktar, inflamasyonun önemli bir belirtisi olan C-reaktif protein seviyesinde artış olduğunu gözlemişler ancak bir problem oluşturmadığını söylemişlerdir. Araştırmacılar, tedavide alendronatın başarısını kemik turnoverını önemli ölçüde azaltması ile ilişkilendirmişlerdir (Hino ve ark., 2005).

Şener ve arkadaşları, alendronatın en sık görülen yan etkisi olan gastrik mukozadaki yaralanmanın, ilacın inflamasyona olan etkisiyle ilişkilendirmişlerdir. Alendronatın araşidonik asit metablozimasının ürünü olan ve özellikle eosinofil, mast hücreleri, monosit ve makrofajlardan salgılanan leukotrienlerin bazılarını etkilediğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca alendronatın nötrofil infiltrasyonuna ve oksidatif doku hasarına neden olan lokal bir iritan olduğunu belirtmişlerdir (Şener ve ark., 2005).

Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde alendronatın çeşitli şekillerde inflamasyona etkisinin olduğu ortaya çıkmaktadır. Ancak bu etkinin mekanizması düşünüldüğünde farklı sonuçlarla karşılaşmaktadır. Öte yanda inflamasyonun periodontitis ve periimplantitis patogenezinde de etkilerinin olduğu bilinmektedir. Antijenler, lipopolisakkaritler ve diğer virulan faktörlerin konak cevabını uyarmasıyla

proinflamatuar sitokinler (IL-1, IL-6 vb), proteazlar (MMPs vb) ve prostanooidlerin (PGE₂ vb) salınır ve böylece doku yıkımı başlamaktadır. İnflamasyona bağlı doku yıkımın önlenmesinde klasik tedavilerin yanında antiinflamatuvar ilaç kullanımını ve özellikle seçici olarak cox-2 inhibisyonu gündeme gelmektedir. (The American Academy of Periodontology, 2002).

Morton ve Dongari-Bagtzoglou, sistemik olarak sağlıklı insan donörlerden minor cerrahi işlemler sırasında aldıkları dişeti dokusuna histolojik ve immünohistokimyasal analizler yapmışlar ve inflame dişeti dokusundaki cox-2 ekspresyon artışını in vitro olarak değerlendirmişlerdir. Ayrıca cox-2 ekspresyonunda in vivo olarak etkili olabilecek patojenik mekanizmaları incelemişlerdir. Sonuçta inflame periodontal dokuda cox-2'nin arttığını ve doku yıkımına neden olan yüksek PGE₂ seviyesinin esas yolunun cox-2'nin artışı olduğunu göstermişlerdir. In vivo olarak cox-2 ekspresyon artışının sorumlusunun hem IL-1 β gibi inflamatuvar sitokinler hem de bakteriyel bileşenler olabileceğini belirtmişlerdir. Bu verilere bakarakta periodontal inflamasyonun uzun dönem kontrolünde selektif cox-2 inhibitörlerinin yerinin çok değerli olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Morton ve Dongari-Bagtzoglou, 2001).

Bezerra ve arkadaşları, periodontal hastalık patogenezinde varolan birçok faktörden biri olan prostaglandinlerin, kemik yıkımındaki önemli rolünü gözönünde bulundurarak bir çalışma planlamışlardır. Nonsteroidal antiinflamatuvar (NSAI) ilaçların periodontitisin tedavisinde yararlı olduğunu ancak bu ilaçları özellikle gastrik mukozada irritasyona neden olarak istenmeyen yan etkiler oluşturduğunu ve bu ilaçlara alternatif olarak seçici cox-2 inhibisyonunun yapılması gerektiğini savunmuşlardır. Bu görüşlerini desteklemek üzere deneysel periodontitis oluşturdukları ratlarda, selektif cox-2 inhibisyonu yapan meloksikamı ve non-selektif NSAI ilaç olan indometasini farklı dozlarını kullanarak test etmişlerdir. Deneysel periodontitis oluştururken lokal ödem ve hücre infiltrasyonu ile sonuçlanması için ratların molar dişlerine tel bağlamışlar, ilk 4 gün nötrofiller,

5.günden sonra mononükleer hücrelerin geldiğini varsayarak ratları 7.gün sakrifiye etmişlerdir. Her iki ilacın tüm dozlarında hücre infiltrasyonunun baskılandığını gözlemlemişlerdir. Özellikle nötrofil ve makrofajlardan lokal olarak salgılanan PGE₂'nin doku yıkımına neden olduğunu belirten araştırmacılar, bu hücrelerin baskılanmasının yararlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Özellikle PGE₂'nin kemik yıkımından sorumlu osteoklastları uyardığını belirtmişlerdir. İki ilaç ve dozları arasında inflamatuvar hücre baskılaması açısından farklılık gözlenmemiş, ancak indometasin grubunda kullanılan en düşük dozda (0.5 mg/kg) dahi gastrik mukoza yüzeyinin % 50 'sinde hemorajik lezyonlar izlerken meloksikamın kullanılan en yüksek dozunda (3 mg/kg) bile daha az miktarda lezyon gözlemişlerdir. Meloksikamın gastrik yan etkisinin olmayışını direk olarak selektif cox-2 inhibitörü olmasıyla açıklamışlar ve bu ilacın periodontitiste kemik yıkımını önlediğini ve inflamasyonu baskıladığını belirtmişlerdir (Bezerra ve ark., 2000).

Daha sonraki yıllarda başka hayvan çalışmalarında yapan bazı araştırmacılar, selektif cox-2 inhibisyonunun periodontal hastalıktaki doku yıkımını önlemede etkili olduğunu ve herhangi bir yan etki oluşturmadan bu tür ilaçların kullanılabileceğini vurgulamışlardır. Aynı araştırmacılar, cox-2'nin periodontal hastalık patogenezindeki önemli rolünün daha birçok detaylı araştırma ile incelenmesi gerektiğine söylemişlerdir (Holzhausen ve ark., 2002; Gurgel ve ark., 2004).

Vardar ve arkadaşları ise selektif cox-2 inhibisyonu ile ilgili yaptıkları bir insan çalışmalarında diğer araştırmacılaradan biraz daha farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Araştırmacılar, 10 adet kronik periodontitis hastasına diştaşı temizliği ve kök yüzeyi düzeltmesinin içeren periodontal tedavi sonrası 10 gün süreyle selektif cox-2 inhibitörü olan nimesulide, 100 mg, 2x1 olarak vermişlerdir. Çalışma sonucunda ilacın dişeti dokusundaki PGF_{2α} miktarını azalttığını ancak PGE₂ miktarını etkilemediği, NSAİ bir ilaç olan naproksen sodyumu verdikleri diğer bir grupta ise PGE₂ seviyesinin azaldığını görmüşlerdir. PGF_{2α} seviyesinde IL-6 ve

MMP-1 ile ilişkili olduğunu ve dolayısıyla kemik ve bağ dokusunda yıkım oluşturduğunu belirten araştırmacılar, cox-1 ve cox-2'i hakkında araştırılması gereken önemli detaylar olduğunu belirtmişlerdir (Vardar ve ark., 2003).

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, periodontitis ve periimplantitisin oluşturduğu kemik kaybını yeniden kazanmanın yollarından biri, uzun dönem başarısı kanıtlanmış etkili ve kolay kemik grefti kullanımudur (Cortellini ve Tonetti, 2004). Bu rejeneratif tedavi seçeneği kötü prognozlu dişler için umut oluşturabilmektedir (Trombelli ve ark, 2004). Otojen greft kullanımının yararlı olduğunu düşünmekle beraber elde etme şeklinin sıkıntılı olması diğer greft materyallerini bu çalışma açısından ön plana çıkarmıştır. Diğer kemik greftleri arasından ABM/P-15 kemik greftinin başarıları dikkat çekmektedir.

Yapılan bu çalışmada daha çok miktarda, daha iyi kalitede ve daha hızlı şekilde kemik dokuyu oluşturarak tedavideki başarıyı artırmak hedeflenmiştir. Buna göre daha önceki çalışmalara bakıldığında (Yukna ve ark., 1998, Tehemar ve ark., 2003, Valentin ve Weber, 2004) ABM/P-15 kemik greftinin uygulandığı bölgelerde olgunlaşmamış kemik ile olgun kemiğin hızla yer değiştirmesi, daha çok miktarda kemik dolumunu sağlaması, ikinci bir cerrahi bölgesine ihtiyaç duyulmaması ve ayrıca hidroksiapatitin test edilen ilaç için uygun bir taşıyıcı olabilmesi (Sirtori ve ark., 2000) bu materyalin çalışmamızda tercih edilmesine yol açmıştır. Öte yandan greftlerin rejeneratif etkilerini artırmak amaçlı kombine tedavi seçenekleri araştırılmaktadır. Örneğin Aspenberg kemik grefti ile alendronatı kombine kullanarak greftin mekanik dayanıklılığını artırdığını ileri sürmüştür (Aspenberg ve Astrand, 2002).

Alendronat son yıllarda dişhekimliğinde oldukça dikkat çekmekte ve destekleyici bir tedavi seçeneği olarak gündeme gelmektedir (Rocha ve ark., 2001; Rocha ve ark., 2004; Lane ve ark., 2005). Diş ve implantlar için destek doku görevi

gören kemik dokusuna alendronatın yüksek afinitesi (Sirtori ve ark., 2000) dişhekimliğinde kullanım mantığının temeli olarak değerlendirilebilmektedir.

Alendronatın esas etkisi kemik yıkımının inhibisyonudur. Ancak kemiğin yeniden yapılanma döneminde, osteoblast ve osteoklastların dahil olduğu temel multisellüler birimler, önce kemiğin küçük bir kısmını rezorbe ederler ve bundan hemen sonrada yeni kemik oluştururlar. Bu noktada kemik yapım ve yıkım sürecinin birbirine eşlik eden bir bütün olduğunu gözönünde bulundurarak alendronatın etkisinin kemik oluşumunun beklendiği işlemler sonrasında da incelenmesi gerektiğine inanılmaktadır (Meraw ve ark., 1999; Yaffe ve ark., 2003; Altundal ve Gürsoy, 2005). Bu yönde yapılan çalışmaların sonuçları doğrultusunda süreye bağlı farklı etkilerin gözlenebileceğini belirlenmiş (Yaffe ve ark., 2003) ve yapılan bu çalışmada da 2, 4 ve 6 hafta olmak üzere üç farklı dönemdeki verilerin incelenmesi uygun görülmüştür.

Kemik oluşumu sırasında osteoblast sayısında, kemik yıkımında ise osteoklast sayısında artış beklenebilmektedir. Bu çalışmada bu iki hücre tipi değerlendirilmiştir. Kemik yıkımını veya oluşumunu değerlendirmede sadece hücre sayısına bakmak kesin bir sonuç vermesede temelde bir fikir oluşturulmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda 4. hafta kontrol grubu ile deney grubu için yapılan karşılaştırmalarda osteoblast ve osteoklast sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Benzer şekilde 6. hafta osteoblast ve osteoklast sayıları arasındaki farkta istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bunun sonucu olarak 4. ve 6. hafta deney gruplarındaki osteoklast sayısı kontrol gruplarına göre daha fazla olarak saptanmış ve osteoblast sayısı deney grubunda daha az olarak izlenmiştir.

Alendronatın etki mekanizmasını inceleyen araştırmalar gözönüne alındığında alendronatın osteoklast sayısına olan etkisi net olarak anlaşılmamaktadır (Halasy-Nagy ve ark., 2001; Rogers ve ark., 200). Bu çalışmada 4. ve 6. haftada osteoklast sayısında alendronatın kullanıldığı tarafta artış izlenmiştir. Bunun nedeni olarak osteoklastların fonksiyonunun bozulduğu ve osteoklastik rezorpsiyonu gerçekleştirmek üzere osteoklastların reaksiyonel olarak artabileceği düşünölebilir. Daha kesin sonuçlara varabilmek için hücre fonksiyonlarının inceleneceği detaylı çalışmalar yapılmalıdır.

Osteoblastların sayısı ise ilacın kullanıldığı tarafta 4. ve 6. haftada azalmıştır. Bu durumun ilacın bölgedeki konsantrasyonu ile ilgisinin olabileceği düşünölebilmektedir. Garcio-Moreno ve arkadaşları (1998) alendronatın yüksek dozunun osteoblast sayısını azaltabileceğini vurgulamışlardır.

İlacın osteoklastların sayısını artırmış olmasıyla osteoblast sayısını azaltmış olması arasında paralellik olduğu söylenebilir. Bifosfonatların önemli mekanizmalardan biride osteoblast üzerinden osteoklastları etkilemesi olarak yorumlanmaktadır (Rogers ve ark., 2000). Her ne kadar Rogers ve arkadaşları bifosfonatların osteoblastlardan salınan ve osteoklast formasyonu ile aktivasyonunu inhibe eden faktörleri arttırabileceğini rapor etmişse de; Garcio-Moreno ve arkadaşlarının belirttiği gibi yüksek doz alendronatın osteoblast sayısını azaltması osteoklast inhibisyonundan sorumlu faktörlerin kantitatif olarak da azalmasına yol açabilir. Bu durum çalışmamızda ortaya çıkan ve alendronatın yüksek dozuna bağlı gelişen osteoblast sayısındaki azalmayı ve buna bağlı olarak osteoklast inhibisyon faktörlerindeki düşüşü, sonuç olarak osteoklast sayısındaki artışı yorumlamaktadır.

Osteoklast sayısındaki artış ve osteoblast sayısında azalma, 4. ve 6. haftada gözlenirken 2. haftada gözlenmemiştir. Bunun nedeni ise ilacın zaman içersinde bu etkinliğini göstermesiyle ilişkilendirilebilir. Bifosfonatların etkilerinin

doza ve süreye bağlı olduğu bilinmektedir (Brunsvold ve ark., 1992; Khan ve ark., 1997; Binderman ve ark., 2000; Sama ve ark., 2004).

Alendronatın osteoblast ve osteoklast fonksiyonlarına yönelik etkileri dışında inflamasyona yönelik tam mekanizmaları açıklanmamış bir takım etkileri de vardır. (Matsuo ve ark., 2003; Denoyelle ve ark., 2003; Itoh ve ark., 2004; Sener ve ark., 2005; Funayama ve ark., 2005). Bu etkiler içerisinde aminobifosfonatların siklooksijenaz-2 enzimini baskılamış olması özellikle dikkat çekmektedir. Periodontoloji alanındaki birçok çalışma göstermektedir ki cox-2 periodontal hastalık patogenezinde rol almaktadır (Bezerra ve ark., 2000; Morton ve Dongari-Bagtzoglou, 2001; Vardar ve ark., 2003). Bu açıdan alendronatın cox-2 üzerine etkisini araştırmak gerektiği düşünülmüştür.

Cox-2'nin PGE₂ oluşturarak periodontal hastalıktaki doku yıkımında etkili olduğunu savunan araştırmacılar, bu enzimin lipopolisakkaritlerle temasa geçen epitel, osteoblast, sementoblast ve periodontal ligament hücrelerinden eksprese olduğunu belirtmişlerdir (Noguchi ve ark, 2001; Miyauchi ve ark., 2004). Dolayısıyla bu çalışmada da inflamatuvar hücreler ile beraber osteoblast ve epitel hücre cox-2 ekspresyonlarının incelemesinin gerekli olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan bu çalışma sonuçları göstermiştir ki 2. hafta kontrol grubu ile deney grubu için yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda inflamatuvar hücre cox-2 ekspresyonu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Deney grubunda inflamatuvar hücre cox ekspresyonu kontrol grubuna göre daha az olarak saptanmıştır. Ayrıca 6. hafta kontrol grubu ile deney grubu için yapılan karşılaştırmalarda döşeyici epitelin cox-2 ekspresyonunda kontrol ve deney grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Bunun sonucu olarakta, deney grubunda epitel cox-2 ekspresyonu kontrol grubuna göre daha az olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda gruplar arası karşılaştırma esas alındığında 2. hafta inflamatuvar hücre siklooksijenaz-2 enzim ekspresyonu ile 6. hafta epitel hücre siklooksijenaz-2 enzim ekspresyonunun alendronat kullanımıyla azaldığı gözlenmiştir. Alendronat başlangıçta ve ilerleyen dönemde cox-2 ekspresyonunu azaltarak antiinflamatuvar bir etki göstermiştir. Lokal uygulanan alendronatın inflamasyonu artırıcı etkisi gözlenmemiş, inflamatuvar hücre sayısında değişiklik olmamıştır.

2., 4. ve 6. haftalar arası grup içi istatistiksel incelemelerde osteoblast ve osteoklast sayısındaki farklılıklar deney ve kontrol grubu açısından paralellik göstermektedir. Ancak inflamatuvar hücre ve osteoblast cox-2 ekspresyonu açısından kontrol grubu değerleri 2. hafta da yüksek iken 4. ve 6. haftalarda azalmalar izlenmiştir. Deney grubunda böyle bir farklılık gözlenmemektedir. Bu da alendronatın erken dönemde cox-2 ekspresyonunu azaltmış olabileceğini düşündürmektedir.

Literatürde sistemik alendronat kullanımdaki inflamasyon artırıcı etki lipooksijenaz ekspresyonu ile açığa çıkan leukotrienlere (Sener ve ark., 2005) veya IL-1 salınımındaki artışa, bağlı olarak geliştiği (Yu ve ark., 2005) ileri sürülmüştür. Ancak alendronatın makrofaj inhibisyonu aracılığıyla ve/veya IL-1, IL-6, TNF α salınımını azaltarak (Matsuo ve ark., 2003) antiinflamatuvar etki gösterebileceğide rapor edilmiştir. Buna ek olarak, gerek bizim çalışmamızda gerekse sistemik aminobifosfonat uygulanan Denoyelle'nin (2003) çalışmasında gözlemlendiği gibi siklooksijenaz-2 enzim ekspresyonunun azalmış olması ilacın antiinflamatuvar etkisine işaret eden diğer bir sonuçtur.

Planlanan çalışmamızın alendronat dozuna bağlı farklı deney grupları içermemesi greftte emdirilen ideal alendronat dozunun saptanamamasında etkili olmuştur. İleride planlanacak çalışmalarda bu durum gözönüne alındığında yüksek

doz alendronattan kaynaklanan osteoblast sayısındaki azalma ve buna paralel osteoklast sayısındaki artış kontrol edilebilecektir.

Sonuç olarak, kemik greftleriyle kombine kullanılan lokal alendronatın ideal dozda uygulandığında siklooksijenaz-2 enzim ekspresyonunu azaltarak PGE₂ (Denoyelle ve ark., 2003) stimulasyonlu kemik rezorpsiyonunu düşürebileceği ve bu etkininde ideal kemik iyileşmesinde önemli bir destek oluşturabileceğini düşünmekle beraber bu konuya yönelik daha detaylı çalışmaların yapılmasının gerekliliğine inanmaktayız.

6.SONUÇLAR

Bu çalışmanın metodolojik koşulları içerisinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- 1) Bu çalışmada 4. ve 6. haftalar için osteoklast sayısı alendronat kullanılan tarafta daha fazla olarak bulunmuştur. Alendronatın kemik grefti ile beraber lokal uygulanması sonucu osteoklast sayısında artma izlenmiştir.
- 2) Bu çalışmada 4. ve 6. haftalar için osteoblast sayısı alendronat kullanılan tarafta daha az olarak bulunmuştur. Alendronatın kemik grefti ile beraber lokal uygulanması sonucu osteoblast sayısında azalma izlenmiştir.
- 3) Bu çalışmada 2. hafta inflamatuvar hücre siklooksijenaz-2 enzim ekspresyonu alendronat uygulanan tarafta azalmıştır. Benzer şekilde 6. hafta epitel hücre siklooksijenaz-2 enzim ekspresyonu da alendronat uygulanan tarafta azalmıştır.
- 4) Bu çalışmada 2. hafta kontrol grubundaki osteoblast ve inflamatuvar hücre cox-2 ekspresyonu 4. ve 6. haftadakinden daha fazla olarak saptanmıştır. 2., 4. ve 6. hafta deney grupları için ise fark gözlenmemiştir.
- 5) Bu sonuçlara göre kemik greftiyle beraber lokal alendronat kullanımının inflamasyonu baskılayıcı bir etkisinin olabileceği, özellikle farklı dozlar kullanılarak lokal etkinin daha detaylı olarak incelenebileceği ve bu yöndeki çalışmaların rejeneratif tedavilerin başarısını artırmaya yönelik sonuçlar oluşturabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

AL-SHAMMARI KF, AL-KHABBAZ AK, AL-ANSORI JM, NEIVA R, WANG HL. (2005) Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *J Periodontol* **76**: 1910-1918.

ALTUNDAL H, GURSOY B. (2005) The influence of alendronate on bone formation after autogenous free bone grafting in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **99**: 285-91.

ALTUNDAL H, GUVENER O. (2004) The effect of alendronate on resorption of the alveolar bone after tooth extraction. *Int J Oral Maxillofac Surg* **33**: 286-293.

ASLAN M, SİMSEK G, DAYI E. (2004) Guided bone regeneration on healing defects; A histological study in rabbits. *J Contemp Dent Pract* **5**: 114-123.

ASPENBERG P, ASTRAND J. (2002) Bone allografts pretreated with a bisphosphonate are not resorbed. *Acta Orthop Scand* **73**: 20-23.

BARBOZA EP, SOUZA RO, CAULA AL, NETO LG, CAULA FO, DUARTE MEL. (2002) Bone regeneration of localized chronic alveolar defects utilizing cell binding peptide associated with anorganic bovine-derived bone mineral: A clinical and histological study. *J Periodontol* **73**: 1153-1159.

BEZERRA M, LIMA V, ALENCAR V, VIEIRA I, BRITO G, RIBEIRO R, ROCHA F. (2000) Selective cyclooxygenase inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol* **71**: 1009-1014.

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.

BLUNMETHAL NM, KOH-KUNST G, ALVES M, MIRANDA D, SORENSEN RG, WOZNEY JM, WIKESJO U. (2002) Effect of surgical implantation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in a bioabsorbable collagen sponge or calcium phosphate putty carrier in intrabony periodontal defects in the baboon. *J Periodontol* **73**: 1494-1506.

BRUNSVOLD MA, CHAVES ES, KORNMANN KS, AUFDERMORTE TB, WOOD R. (1992) Effects of a bisphosphonate on experimental periodontitis in monkeys. *J Periodontol* **63**: 825-830.

CAPRI D, ALBEHBEHANI Y, SMUKLER H. (2003) Augmentation of an anterior edentulous ridge for fixed prosthodontics with combined use of orthodontics and surgery: A clinical report. *J Prosthet Dent* **90**: 111-115.

CENGİZ BS. (2003) Alendronat sodyumun vital diş pulpası üzerindeki etkilerinin histolojik olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

COCHRAN DL, JONES A, HEIJL L, MELLONIG JT, SCHOOLFIELD J, KING NK. (2003) Periodontal regeneration with a combination of enamel matrix proteins and autogenous bone grafting. *J Periodontol* **74**: 1269-1281.

CORTELLINI P, TONETTI MS. (2004) Long-term tooth survival following regenerative treatment of intrabony defects. *J Periodontol* **75**: 672-678.

DELIMA AJ, OATES T, ASSUMA R, SCHWARTZ Z, COCHRAN D, AMAR S, GRAVES DT. (2001) Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis

factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol* **28**: 233-240.

DENISSEN H, MONTANARI C, MARTINETTI R, LINGEN A, HOOF A. (2000) Alveolar bone response to submerged bisphosphonate-complexed hydroxyapatite implants. *J Periodontol* **71**: 279-286.

DENOYELLE C, HONG L, VANNIER JP, SORIA J, SORIA C. (2003) New insights into the actions of bisphosphonate zoledronic acid in breast cancer cells by dual Rho A-dependent and -independent effects. *Br J Cancer* **88**:1631-1640.

DOBRUCALI A, TOBEY NA, AWAYDA MS, ARGOTE C, ABDULNOUR-NAKHOUL S, SHAO W, ORLANDO RC. (2002) Physiological and morphological effects of alendronate on rabbit esophageal epithelium. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **283**: 576-586.

EREN KS, GURGAN CA, BOSTANCI HS. (2002) Evaluation of non-surgical periodontal treatment using 2 time intervals. *J Periodontol* **73**: 1015-1019.

FUNAYAMA H, OHSAKA M, MONMA Y, MAYANAGI H, SUGAWARA S, ENDO Y. (2005) Inhibition of inflammatory and bone-resorption-inhibitory effects of alendronate by etidronate. *Calcif Tissue Int* **76**: 448-457.

GARCIA-MORENO C, SERRANO S, NACHER M, FARRE M, DIEZ A, MARINOSO ML, CARBONELL J, MELLIBOVSKY , NOGUES X, BALLESTER J, AUBIA J. (1998) Effect of alendronate on cultured normal human osteoblasts. *Bone* **22**: 233-239.

GONZALES-MOLES MA, BAGAN-SEBASTIAN JV. (2000) Alendronate-related oral mucosa ulcerations. *J Oral Pathol Med* **29**: 514-518.

GUR A, DENLI A, CEVIK R, NAS K, KARAKOC M, SARAC AJ. (2003) The effects of alendronate and calcitonin on cytokines in postmenopausal osteoporosis: A 6-month randomized and controlled study. *Yonsel Medical Journal* **44**: 99-109.

GURGEL BCV, DUARTE PM, NOCITI FH, SALLUM EA, CASATI MZ, SALLUM AV, TOLEDO S (2004) Impact of an anti-inflammatory therapy and its withdrawal on the progression of experimental periodontitis in rats. *J Periodontol* **75**: 1613-1618.

HALASY-NAGY JM, RODAN GA, RESZKA AA. (2001) Inhibition of bone resorption by alendronate and risedronate does not require osteoclast apoptosis. *Bone* **29**: 553-559.

HANKS T, ATKINSON BL (2004) Comparison of cell viability on anorganic bone matrix with or without P-15 cell binding peptide. *Biomaterials* **25**: 4831-4836.

HARREL SK, NUNN ME. (2001) Longitudinal comparisons of the periodontal status of patients with moderate to severe periodontal disease receiving no treatment, non-surgical treatment, and surgical treatment utilizing individual sites for analysis. *J Periodontol* **72**: 1509-1519.

HARRIS RJ. (2003) Untreated periodontal disease: A follow-up on 30 cases. *J Periodontol* **74**: 672-678.

HELLSTEIN JW, MAREK CL. (2005) Bisphosphonate osteonecrosis (bisphosphonate jaw): Is this phossy jaw of the 21st century? *J Oral Maxillofac Surg* **63**: 682-689.

HERNANDEZ CJ, BEAUPRE GS, MARCUS R, CARTER DR. (2001) A theoretical analysis of the contributions of remodelling space, mineralization, and bone

balance to changes in bone mineral density during alendronate treatment. *Bone* **29**: 511-516.

HERRERA D, SANZ M, JEPSEN S, NEEDLEMAN I, ROLDAN S. (2002) A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *J Clin Periodontol* **29**: 136-159.

HINO S, MURASE R, TERAKADO N, HAMAKAWA H. (2005) Response of diffuse sclerosing osteomyelitis of the mandible to alendronate: Follow-up study by ^{99m}Tc scintigraphy. *Int J Oral Maxillofac Surg* **34**: 576-578.

HOULZHAUSEN M, ROSSA C, MARCANTONIO E, NASSAR PO, SPOLIDORO DMP. (2002) Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol* **73**: 1030-1036.

IM G, QURESHI SA , KENNY J , RUBASH HE, SHANBHANG AS. (2004) Osteoblast proliferation and maturation by bisphosphonates. *Biomaterials* **25**: 4105-4115.

ITOH F, AOYAGI S, KUSAMA H, KOJIMA M, KOGO H. (2004) Effects of clodronate and alendronate on local and systemic changes in bone metabolism in rats with adjuvant arthritis. *Inflammation* **28**: 15-21.

JUNGUEIRA LC, CARNEIRO J, KELLEY RO. (1992) Basic Histology. Seventh Edition, Appleton&Lange Company.

KAYNAK D, MEFFERT R, BOSTANCI H, GUNHAN O, OZKAYA O. (2003) A histopathological investigation on the effect of systemic administration of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the rat mandible . *J Periodontol* **74**: 1348-1354.

KAYNAK D, MEFFERT R, GUNHAN M, GUNHAN O, OZKAYA O. (2000) A histopathological investigation on the effects of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats. *J Periodontol* **71**: 790-796.

KHAN SA, VASIKARAN S, McCLOSKEY EV, BENETON MNC, ROGERS S, COULTON L, ORGEE J, COONBES G, KANIS JA. (1997) Alendronate in the treatment of Paget's Disease of bone. *Bone* **20**: 263-271;1997.

KHOURY F, BUCHMANN R. (2001) Surgical therapy of peri-implant disease: A year follow-up study of cases treated with 3 different techniques of bone regeneration. *J Periodontol* **72**: 1498-1508.

KUBLER A, NEUGEBAUER J, OH J , SCHEER M, ZOLLER JE. (2004) Growth and proliferation of human osteoblasts on different bone graft substitutes: An in vitro study. *Implant Dentistry* **13**: 171-179.

LACY CF, ARMSTRONG LL, GOLDMAN MP, LANCE LL (2003) Drug Information Handbook. Lexi-Comp. Inc p.: 53-54.

LANE N, ARMITAGE GC, LOOMER P, HSIEH S, MAJUMDAR S, WANG HY, JEFFCOAT M, MUNOZ T. (2005) Bisphosphonate therapy improves the outcome of conventional periodontal treatment : results of a 12-month, randomized, placebo-controlled study. *J Periodontol* **76**: 1113-1122.

LEE H, CIANCIO SG, TUTER G, RYAN ME, KOMAROFF E, GOLUB LM. (2004) Subantimicrobial dose doxycycline efficacy as a matrix metalloproteinase inhibitor in chronic periodontitis patients is enhanced when combined with a non-steroidal anti-inflammatory drug. *J Periodontol* **75**: 453-463.

LEKOVICH V, CAMARGO PM, WEINLAENDER M, VASILIC N, DJORDJEVIC M, KENNEY EB. (2001) The use of bovine porous bone mineral in combination with enamel matrix proteins or with an autologous fibrinogen/fibronectin system in the treatment of intrabont periodontal defects in humans. *J Periodontol* **72**: 1157-1163.

LINDHE J, KARRING T, LANG NP. (2003) Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Fourth Edition. 2003; 866-876.

MANOLAGAS SC. (2000) Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* **21**: 115-37. Review.

MATHOO JM, CRANNEY A, PAPAIOANNOU A, ADACHI JD. (2004) Rational use of oral bisphosphonates for the treatment of osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep* **2**: 17-23.

MATSUO A, SHUTO T, HIRATA G, SATOH H, MATSUMOTO Y, ZHAO H, IWAMOTO Y. (2003) Antiinflammatory and chondroprotective effects of the aminobisphosphonate icadronate (YM115) in adjuvant induced arthritis. *J Rheumatol* **30**: 1280-1290.

McCAULEY LK, NOHUTCU RM. (2002) Mediators of periodontal osseous destruction and remodeling: Principles and implications for diagnosis and therapy. *J Periodontol* **73**: 1377-1391.

MERAW SJ, REEVE CM, WOLLAN PC. (1999) Use of alendronate in peri-implant defect regeneration. *J Periodontol* **70**: 151-158.

MIYAUCHI M, HIRAOKA M, OKA H, SATO S, KUDO Y, OGAWA I, NOGUCHI K, ISHIKAWA I, TAKATA T. (2004) Immuno-localization of cox-1 and cox-2 in the rat

molar periodontal tissue after topical application of lipopolysaccharide. *Archives of oral biology* **49**: 739-746.

MORTON RS, DONGARI-BAGTZOGLOU AI. (2001) Cyclooxygenase-2 in upregulated inflamed gingival tissues. *J Periodontol* **72**: 461-469.

MYOUNG H, PARK JY, CHOUNG PH. (2001) Effects of a bisphosphonate on the expression of bone specific genes after autogenous free bone grafting in rats. *J Periodontal Res* **36**: 244-251.

NEWMAN MG, TAKEI HH, CARRANZA FA. 2002 Carranza's Clinical Periodontology. Ninth Edition, Saunders Company.

NOGUCHI K, SHITASHIGE M, ENDO H, KONDO H, YOTSUMOTO Y, IZUMI Y, NITTA H, ISHIKAWA I. (2001) Involvement of cyclooxygenase-2 serum-induced prostaglandin production by human oral gingival epithelial cells. *J Periodontol Res* **36**: 124-130.

OPAS EE , RUTLEDGE SJ, GOLUB E, STERN A, ZIMOLO Z, RODAN GA, SCHMIDT A. (1997) Alendronate inhibition of protein-tyrosine-phosphatase-meg1. *Biochem Pharmacol* **54**: 721-727.

PAQUETTE DW, WILLIAMS RC (2000) Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal disease. *J Periodontol* **24**: 239-252.

PHAN TCA, XU J, ZHENG MH (2004) Interaction between osteoblast and osteoclast; Impact in bone disease. *Histol Histopathol* **19**: 1325-1344.

PRESHAW PM, LAUFFART B, ZAK E, JEFFCOAT MK, BARTON I, HEASMAN PA. (1999) Progression and treatment of chronic adult periodontitis. *J Periodontol* **70**: 1209-1220.

RADI ZA, KHAN NK. (2005) Effects of cyclooxygenase inhibition on bone, tendon, and ligament healing. *Inflamm Res* **54**: 358-366.

REDDY SV. (2004) Regulatory mechanisms operative in osteoclasts. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* **14**: 255-270.

REYNOLDS MA, AICHELMANN-REIDY ME, BRANCH-MAYS GL, GUNSOLLEY JC. (2003) The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A Systematic Review. *Ann Periodontol* **8**: 227-265.

ROCHA M, MALACARA JM, SANCHEZ-MARIN F, TORRE CV, FAJARDO ME (2004) Effect of alendronate on periodontal disease in postmenopausal women: A randomized placebo-controlled trial. *J Periodontol* **75**: 1579-1585.

ROCHA M, NAVA LE, TORRE CV, SANCHEZ-MARIN F, GARAY-SEVILLA ME, MALACARA JM (2001) Clinical and radiological improvement of periodontal disease in patients with type 2 diabetes mellitus treated with alendronate: A randomized, placebo-controlled trial. *J Periodontol* **72**: 204-209.

RODAN GA (1997) Bone mass homeostasis and bisphosphonate action. *Bone* **20**: 1-4.

ROGERS MJ, GORDON S, BENFORD HL, COXON FP, LUCKMAN SP, MONKKONEN J, FRITH JC. (2000) Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* **88**: 2961-2978.

ROSCHGER P, FRATZL P, KLAUSHOFER K, RODAN G (1997) Mineralization of cancellous bone after alendronate and sodium fluoride treatment: A quantitative backscattered electron imaging study on minipig ribs. *Bone* **20**: 393-397.

ROSS JR, SAUNDERS Y, EDMONDS PM, PATEL S, BROADLEY KE, JOHNSTON SRD. (2003) Systematic review of role of bisphosphonates on skeletal morbidity in metastatic cancer. *BMJ* 327;469. Erişim:[<http://www.bmj.com>]

ROSSA C, MARCANTONIO E, CIRELLI JA, MARCANTONIO R, SPOLIDORIO L, FOGO J (2000) Regeneration of class III furcation defects with basic fibroblast growth factor (b-FGF) associated with guided tissue regeneration. A Descriptive and Histometric Study in Dogs. *J Periodontol* **71**: 775-784.

RUGGIERO SL, MEHROTRA B, ROSENBERG TJ, ENGROFF SL. (2004) Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: A review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg* **62**: 527-534.

SAMA AA, KHAN SN, MYERS ER, HUANG RC, CAMMISA FP Jr, SANDHU HS, LANE JM. (2004) High-dose alendronate uncouples osteoclast and osteoblast function: A study in rat spine pseudarthrosis model. *Clin Orthop Relat Res* **425**: 135-142.

SANCHEZ-GARCES MA, GAY-ESCODA C. (2004) Periimplantitis. *Med Oral Pathol Oral Cir Bucal* 9 Suppl:69-74;63-9.

SATO M, GRASSER W, ENDO N, AKINS S, SIMMONS H, THOMPSON DD, GOLUB E, RODAN GA. (1991) Bisphosphonate action. *J Clin Invest* **88**: 2095-2105.

SENER G, KAPUCU C, CETINEL S, CIKLER E, AYANOGLU-DULGER G (2005) Gastroprotective effect of leukotriene receptor blocker montelukast in alendronate-induced lesions of the rat gastric mucosa. *Prostaglandins, Leukotriens and Essential Fatty Acids* **72**: 1-11.

SIMON AM, MANIGRASSO MB, O'CONNOR JP (2002) Cyclo-oxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. *J Bone Miner Res* **17**: 963-976.

SIMONPIETRI-C JJ, NOVAES AB, BATISTA EL, FILHO EJJ. (2000) Guided tissue regeneration associated with bovine-derived anorganic bone in mandibular class II furcation defects. 6-Month results at re-entry. *J Periodontol* **71**: 904-911.

SIRTORI CR, KUHLMANN J, TILLEMENT JP, VRHOVAC B, REIDENBERG MM. (1991) *Clinical Pharmacology*. McGraw.Hill Company. p.:514-515.

STEVENSON S. (1999) Biology of bone grafts. *Orthop Clin North Am* **30**: 543-552.

STREWLER GJ. (2001) Local and systemic control of the osteoblast. *J Clin Invest* **107**: 271-272.

TEHEMAR S, HANES P, SHARAWY M. (2003) Enhancement of osseointegration of implants placed into extraction sockets of healthy and periodontally diseased teeth by using graft material, an ePTFE membrane, or a combination. *Clin Implant Dent Relat Res* **5**: 193-211.

The American Academy of Periodontology (1999) The pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* **70**: 457-470.

The American Academy of Periodontology (2001) Treatment of plaque-induced gingivitis, chronic periodontitis, and other clinical conditions (position paper). *J Periodontol* **72**: 1790-1800.

The American Academy of Periodontology (2002) Modulation of the Host Response in Periodontal Therapy (informational paper). *J Periodontol* **73**: 460-470.

TROMBELLI L, HEITZ-MAYFIELD L, MOLES D, SCABBIA A. (2002) A systematic review of graft materials and biological agents for periodontal intraosseous defects. *J Clin Periodontol* **29**:117-135.

TURHANI D, WEISSENBOCK M, WATZINGER E, YERİT K, CVILK B, EWERS R, THURNHER D (2005) In vitro study of adherent mandibular osteoblast-like cells on carrier materials. *Int J Oral Maxillofac Surg* **34**: 543-550.

VALENTIN AH, WEBER J. (2004) Receptor technology-cell binding to P-15: a new method of regenerating bone quickly and safely-preliminary histomorphometrical and mechanical results in sinus floor augmentations. *Keio J Med* **53**: 166-171.

VAN BEEK ER, LOWICK CWGM, PAPAPOULOS SE. (1997) Effect of alendronat treatment on the osteoclastogenic potential of bone marrow cells in mice. *Bone* **20**: 335-340.

VARDAR S, BAYLAS H, HUSEYINOV A. (2003) Effects of selective cyclooxygenase-2 inhibition on gingival tissue levels of PGE₂ and PGF_{2α} and clinical parameters of chronic periodontitis. *J Periodontol* **74**: 57-63.

WALKER C, KARPINIA K (2002) Rationale for use of antibiotics in periodontics. *J Periodontol* **73**: 1188-1196.

WALTERS SP, GREENWELL H, HILL M, DRISKO C, PICKMAN K, SCHEETZ JP (2003) Comparison of porous and non-porous teflon membranes plus a xenograft in the treatment of vertical osseous defects: A clinical reentry study. *J Periodontol* **74**: 1161-1168.

WARNER TD, MITCHELL JA. (2004) Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *Faseb J* **18**: 790-804.

YAFFE A, BINDERMAN I, BREUER E, PINTO T, GOLOMB G. (1999) Disposition of alendronate following local delivery in a rat jaw. *J Periodontol* **70**: 893-895.

YAFFE A, IZTKOVICH M, EARON Y, LILOV R, BINDERMAN I. (1997) Local delivery of an aminobisphosphonate prevents the resorptive phase of alveolar bone following mucoperiosteal flap surgery in rats. *J Periodontol* **68**: 884-889.

YAFEE A, KOLLERMAN R, BAHAR H, BINDERMAN I. (2003) The influence of alendronate on bone formation and resorption in a rat ectopic bone development model. *J Periodontol* **74**: 44-50.

YAMAGUCHI K, MOTEGI K, IWAKURA Y, ENDO Y. (2000) Involvement of interleukin-1 in the inflammatory actions of aminobisphosphonates in mice. *British journal of pharmacology* **130**: 1646-1654.

YEUNG RW, JIN LJ, PANG M, POW E. (2005) Human histologic and electromicroscopic analysis with synthetic peptide enhanced hydroxyapatite in the maxillary sinus elevation procedure: A case report. *Implant Dent* **14**: 237-241.

YU Z, FUNAYAMA H, DENG X, KUROISHI T, SASANO T, SUGAWARA S, ENDO Y. (2005) Comparative appraisal of clodronate, aspirin and dexamethasone as agents reducing alendronate-induced inflammation in a murine model. *Basic&Clinical Pharmacology&Toxicology* **97**: 222-229.

YUKNA RA, CALLAN DP, KRAUSER JT, EVANS GH, AICHELMANN-REIDY ME, MOORE K, CRUZ R, SCOTT JB. (1998) Multi-center clinical evaluation of combination anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix (ABM)/cell binding peptide (P-15) as a bone replacement graft material in human periodontal osseous defects. 6-Month results. *J Periodontol* **69**: 655-663.

YUKNA RA, KRAUSER JT, CALLAN DP, EVANS GH, CRUZ R, MARTIN M. (2000) Multi-center clinical comparison of combination anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix (ABM)/cell binding peptide (P-15) and ABM in human periodontal osseous defects. 6-Month results. *J Periodontol* **71**: 1671-1679.