

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

(DOKTORA TEZİ)

**NİTROJEN İÇEREN VE İÇERMİYEN BİFOSFONAT
KULLANIMININ SIÇAN ÇEKİM YARASI VE YUMUŞAK
DOKU İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK
OLARAK İNCELENMESİ**

FATİH VURAL

**DANIŞMAN
PROF. DR. KORKUD DEMİREL**

**PERİODONTOLOJİ A.D.
PERİODONTOLOJİ PROGRAMI**



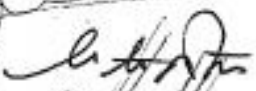

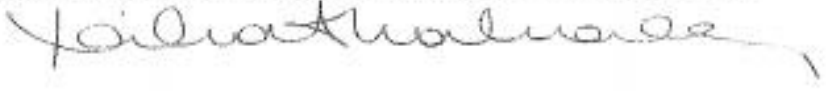
İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Anabilim Dalı Periodontoloji Programında Dİ.FATİH VURAL tarafından hazırlanan "NİTROJEN İÇEREN VE İÇERMİYEN BİSFOSFONAT KULLANIMININ SIÇAN ÇEKİM YARASI VE YUMUŞAK DOKU İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ" başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

17 / 12 / 2013

Tez Sınav Jürisi

- | <u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u> | <u>İmzası</u> |
|--|---|
| 1.Prof.Dr.Korkud DEMİREL (Danışman-İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D.) |  |
| 2.PProf.Dr.Funda YALÇIN (İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D.) |  |
| 3.Doç.Dr.Levent PİKDÖKEN (GATA Haydarpaşa Hast. Periodontoloji Bölümü) |  |
| 4.Doç.Dr.Cemil İŞLER (İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D.) |  |
| 5.Yard..Doç.Dr.Nihan AKSAKALLI (İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü Müdürlüğü Klinik Onkoloji A.D.) |  |

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

FATİH VURAL



TEŞEKKÜR

Doktora çalıőmamda elde ettiğim örneklerin histolojik değerlendirmesinde destek olan Yard.Doç.Dr. Nihan AKSAKALLI ve Doç.Dr. Vakur OLGAC'a, histometrik sonuçlarımın istatistiksel değerlendirmesinde bilgisine başvurduğum Prof.Dr. Rian DIŐCI'ye yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	II
BEYAN	III
TEŞEKKÜR	İHATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
İÇİNDEKİLER.....	V
TABLolar LİSTESİ	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	II1
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	XI
ABSTRACT	XIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
2. GENEL BİLGİLER.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
2.1. KEMİK	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.1.1. Kemik dokusunun fizyolojisi.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.1.2. Kemik dokusunun makroyapısal bileşenleri.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.1.2.1. Primer kemik dokusu	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.1.2.2. Sekonder kemik dokusu.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.1.2.2.1. Kansellöz Kemik Dokusu.....	4
2.1.2.2.2. Kortikal Kemik Dokusu.....	4
2.1.3. Kemiğin yapısı.....	5
2.1.4. Kemik hücreleri	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.1.4.1. Osteoblastlar	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.1.4.2. Osteoklastlar	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.1.4.3. Osteositler	8
2.1.4.4. Kemik dōşeme hücreleri	9
2.1.4.5. Osteoprogenitör hücreler	9
2.1.5. Periosteum ve endosteum	10
2.1.5.1. Periosteum	10
2.1.5.2. Endosteum	10
2.1.6. Kemik dokusu embriyogenezi	11

2.1.6.1. İntramembranöz gelişim	11
2.1.6.2. Endokondral gelişim	12
2.1.7. Kemik dokusu iyileşmesi.....	14
2.1.7.1. İnflamasyon fazı	14
2.1.7.2. Onarım (reperasyon) fazı	15
2.1.7.3. Yeniden şekillenme (remodeling).....	15
2.1.8. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler	16
2.1.8.1. Yerel Faktörler	16
2.1.8.2. Genel Faktörler	16
2.2. DİŞ ÇEKİM YARASININ İYİLEŞMESİ.....	17
2.3. AĞIZ MUKOZASI	18
2.3.1. Ağız Epiteli	18
2.3.2. Lamina Propria	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.3.3. Ağız Mukozasının Özellikleri.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.3.4. Ağız Mukozasının Görevleri.....	22
2.3.4.1. Örtücü Mukoza.....	22
2.3.4.2. Çiğneyici Mukoza.....	22
2.3.4.3. Özelleşmiş Mukoza.....	22
2.4. YARA İYİLEŞMESİ.....	23
2.4.1. İnflamatuvar Faz	24
2.4.2. Proliferatif (Fibroblastik) Faz.....	25
2.4.3. Olgunlaşma (Maturasyon, Yeniden Şekillenme) Fazı.....	26
2.5. BİFOSFONATLAR.....	27
2.5.1. Bifosfonatların kullanım alanları	29
2.5.1.1. Kemiğin radyolojik görüntülenmesinde bifosfonatların kullanımı:	29
2.5.1.2. Paget hastalığında bifosfonatların kullanımı:	29
2.5.1.3. Onkolojide bifosfonatların kullanımı:	30
2.5.1.4. Bifosfonatların osteoporozda kullanımı:.....	30
2.5.2. Bifosfonatların sınıflaması.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. Gereç.....	34
3.2. Yöntem	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

3.2.1. Deney hayvanları ve grupları.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
3.2.2. Cerrahi yöntem	36
3.3. Klinik Değerlendirme	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
3.4. Histolojik ve Histomorfometrik Değerlendirme	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	40
4. BULGULAR	41
4.1. Klinik Bulgular	41
4.2. Histopatolojik Bulgular	41
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇLAR.....	61
KAYNAKLAR.....	63
ETİK KURUL KARARI.....	88
ÖZGEÇMİŞ.....	89

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Günümüzde eczanede bulunabilen bifosfonatlar dozajları, kullanımları ve içerikleri.....	32
Tablo 2: Çekim soketi ve çevresinde apse formasyonu.....	42
Tablo 3: Çekim soketi ve çevresinde iltihap varlığı.....	43
Tablo 4: Çekim soketi ve çevresinde mikroorganizma varlığı.....	43
Tablo 5: Çekim soketi ve çevresinde epitel varlığı.....	44
Tablo 6: Çekim soketi ve çevresinde nekroz kemik varlığı.....	45
Tablo 7: Çekim sokekti ve çevresinde damarlanma miktarı.....	46
Tablo 8: Çekim soketi çevresinde osteoklast sayısı	47
Tablo 9: Kesi yapılan yumuşak dokuda iltihap varlığı.....	48
Tablo 10: Kesi yapılan yumuşak dokuda damarlanma miktarı.....	49

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 - Nitrojen içeren bifosfonat uygulanan deneğin çekim soketi ve çevresindeki apse ve nekroz varlığı.....	43
Şekil 2 - Nitrojen içeren bifosfonat uygulanan deneğin çekim soketi ve çevresindeki mikroorganizma kolonizasyonu.....	44
Şekil 3- Kontrol grubu deneğinin çekim soketi ve çevresindeki epitel rejenerasyonu.....	45
Şekil 4 - Nitrojen içermeyen bifosfonat uygulanan deneğin çekim soketi ve çevresindeki mikroorganizma kolonizasyonu, iltihap ve nekroz varlığı.....	46
Şekil 5 - Nitrojen içeren bifosfonat uygulanan denekteki osteoklast varlığı.....	47
Şekil 6 - Nitrojen içeren bifosfonat uygulanan deneğin palatinal mukozasındaki epitel rejenrasyonu.....	48
Şekil 7 - Nitrojen içermeyen bifosfonat uygulanan deneğin palatinal mukozasındaki epitel rejenerasyonu ve damarlanması.....	49

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- Adenozin trifosfat (ATP)
- Bone morphogenetic protein (BMP)
- Ekstrasellüler matriks (ESM)
- Fibroblast growth factor (FGF)
- Guanozin trifosfat (GTP)
- Hematoksilen - Eozin (HE)
- Insulin-like growth factor (ILGF)
- Kemik glaprotein (BGP)
- Non kollajen protein (NCP)
- Plasminogen activator Stain (PAS)
- Platelet derived-growth factor (PDGF)
- Polimorf nüklear lökositler (PMNL)
- Transforming growth factor (TGF)

ÖZET

VURAL F. (2013). Nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonat kullanımının sıçan çekim yarası ve yumuşak doku iyileşmesine etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Anahtar Kelimeler : bisfosfonat, bisfosfonata bağlı doku nekrozu, yara iyileşmesi , hayvan deneyi, sıçan

Günümüzde bilimsel araştırmalarda bifosfonatların normal kemik dokusu üzerine etkisi açıkça ortaya konmuş olsa da, oral mukoza üzerine etkisi yeni bir çalışma alanıdır. Yapılan sınırlı sayıda çalışma bifosfonatların etkinliğini, güvenilirliğini ve kullanım dozlarının belirlenmesi için yeterli değildir. Bu konuda daha fazla çalışma yapılmasının gerekliliği ortadadır. Çalışmamızda nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonat kullanımının sıçan çekim yarası ve yumuşak doku iyileşmesine etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesini amaçladık. Bu amaçla 24 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan 3 gruba ayrılarak çalışma yapılmıştır. Birinci gruba nitrojen içeren bifosfonat (zoledronik asit), ikinci gruba ise nitrojen içermeyen bifosfonat (etidronik asit) 7, 14 ve 21. günlerde subkutan olarak enjekte edilmiştir. Üçüncü grup ise kontrol grubu olarak tayin edilmiştir. Dördüncü haftanın sonunda tüm sıçanların sağ birinci mandibular molar dişi çekilmiş, palatinal gingivalarında 5mm uzunluğunda 1mm derinliğinde kesi gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm denekler 6 hafta sonunda sakrifiye edilmiş ve elde edilen örnekler histopatolojik incelemeye tabi tutulmuştur. Nitrojen içeren bifosfonat kullanımının çekim soketi ve çevresinde mikroorganizma kolonizasyonunu arttırdığı, osteoklast sayısı ve damarlanmayı baskıladığı, çekim soketi iyileşmesini geciktirdiği görülmüştür. Nitrojen içermeyen

bifosfonat kullanımının osteoklast sayısı ve yumuşak dokudaki damarlanmayı baskıladığı bulunmuştur. Bunun yanında yumuşak doku yara iyileşmesine, her iki bifosfonatın da etkisi görülmemiştir. Bu çalışmanın sonuçlarının, çalışma planlamasındaki bazı noktalar dikkate alınarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Kanser veya osteoporoz hastalarına kilogram başına verilen miligram dikkate alındığında, araştırmamızda uygulanan bisfosfonat dozları, yüksektir. İlacın endikasyonu içerisinde kullanıldığında hastalarda görülen immün sistemi baskılayabilecek bir hastalığın deneklerde bulunmaması veya çekilen dişlerin klinik açıdan sağlıklı olması sonuçlar üzerinde etkili olabilecek faktörler arasında sayılabilir. Bu etkenlerin çalışma sonuçlarını nasıl etkileyeceği henüz bilinmemektedir ve yeni alışmalara ihtiyaç vardır.

ABSTRACT

VURAL F. (2013). Istanbul University Institute of Health Sciences, Department of Periodontology, Ph.D.Thesis,Istanbul.

Key Words: biphosphonate, biphosphonate induced tissue necrosis, wound healing, animal study, rat

The effect of bisphosphonates on the resorption process of normal bone tissue has been clearly mentioned in the literature, while their effect on the oral mucosa is a new research area. Limited former study is not sufficient to determine the strength, reliability and dosage of bisphosphonates. Obviously more research on this issue is necessary. In this study, our aim is to examine the effects of systemic use of both nitrogen containing and non-nitrogen containing bisphosphonates on healing of rats extraction sockets and soft tissue wounds histopathologically. Therefore 24 Sprague-Dawley rats are separated into 3 groups. Animals in Group 1 injected with a nitrogen containing bisphosphonate (zoledronic acid) and animals in Group 2 injected with a non- nitrogen containing bisphosphonate (etidronic acid) on day 7,14 and 21. Group 3 assigned as a control group. After 28 days, first right mandibular molars extracted and palatinal gingiva incised 5mm long, 1mm depth in all animals. After 6 weeks, all rats are sacrificed and the obtained samples are examined histopathologically. Our study indicates that systemic application of nitrogen containing bisphosphonate increases the colonization of microorganisms on and near the extraction socket; inhibites vascularization, healing of extraction socket and decreases the amount of osteoclasts. Also non-nitrogen containing bisphosphonates inhibit the vascularization of soft tissues and decrease the amount of osteoclasts. However there is no effect of both nitrogen containing and non-nitrogen containing bisphosphonates on soft tissue wound

healing observed. Bu alışmanın sonuçlarının, alışma planlamasındaki bazı noktalar dikkate alınarak değerlendirilmesi gerekmektedir. The dosage of bisphosphonates in our study is higher than the dosages that apply in osteoporosis and cancer treatment. İlacın endikasyonu içerisinde kullanıldığında hastalarda görülen immün sistemi baskılayabilecek bir hastalığın deneklerde bulunmaması veya çekilen dişlerin klinik açıdan sağlıklı olması sonuçlar üzerinde etkili olabilecek faktörler arasında sayılabilir. Bu etkenlerin çalışma sonuçlarını nasıl etkileyeceği henüz bilinmemektedir ve yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yara iyileşmesi organizma için kritik ve önemli bir süreçtir. Herhangi bir nedenle hasar gören dokular belirli bir oranda kendilerini yenileyebilmektedirler. Oral mukoza ve kemik, onarım sürecini başarıyla gerçekleştirebilen dokulardandır.

İyileşme süreci homeostaz, enflamasyon ve onu takip eden yeniden şekillenme olarak tanımlanan ancak birbirlerinden zamanlama olarak kesin çizgilerle ayrılamayan üç evrede gerçekleşir [1]. Çekim yarası iyileşmesi de tıpkı kırık iyileşmesi gibi, çekim boşluğunda hematoma oluşması, pıhtının organizasyonu, yara yüzeyinin epitelizasyonu ve çekim boşluğunun kemik dokusu ile dolmasıyla iyileşir [2].

Oral mukozanın iyileşme süreci, organizmanın diğer dokularına, özellikle de deriye oldukça benzer [3]. Hematom oluşmasını takiben çok sayıda sitokin, enflamatuvvar hücrelerinin migrasyonunu sağlar. İlk 24 saat sonrasında epitelial hücreler hemidezmozomal adezyon gerçekleştirir ve proliferasyon başlar. Granülasyon dokusunun oluşumu re-epitelizasyon safhasıyla neredeyse iç içedir. Anjiyogenezisin sonlanmasıyla iyileşme süreci tamamlanmış olur.[4]

Bifosfonatlar ilk olarak 1800'lü yıllarda sentez edilmişlerdir fakat tıpta kullanıma girmeleri 1960'larda olmuştur. Fosfor-karbon-fosfor yapısı ile karakterize bileşiklerdir. Bunlar, kemik mineralizasyonunun fizyolojik bir inhibitörü olan pirofosfatların karbon

analoglarıdır [5, 6]. Genellikle kemik mineraline bağlanarak ve sonrasında onunla ilişkili osteoklastların aktivitelerini baskılayarak, kemik rezorpsiyonu üzerine etki ederler [7]

Bifosfonat bileşikleri günümüzde özellikle tümörlerin kemik metastazlarının önlenmesinde sıkça başvurulan ajanlar haline gelmiştir. Çalışmalar bifosfonatların özellikle osteoporoz ve kanserlerin kemik metastazlarının önlenmesindeki etkinliği ortaya koymaktadır [8, 9]

Günümüzde bilimsel araştırmalarda bifosfonatların normal kemik dokusu üzerine etkisi açıkça ortaya konmuş olsa da, oral mukoza üzerine etkisi yeni bir çalışma alanıdır. Yapılan sınırlı sayıda çalışma bifosfonatların etkinliğini, güvenilirliğini ve kullanım dozlarının belirlenmesi için yeterli değildir. Bu konuda daha fazla çalışma yapılmasının gerekliliği ortadadır.

Nitrojen içeren bir bifosfonat olan zoledronik asit, bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozundan en çok sorumlu tutulan ajandır [10-13]. Dolayısıyla çalışma gruplarından birinde zoledronik asit kullanımı uygun görülmüştür. Etidronate gibi nitrojen içermeyen bifosfonatlara bağlı çene kemiği nekrozu vakaları az da olsa bildirilmiş olduğundan [14-16], ikinci çalışma grubunda da etidronate kullanımı planlanmıştır. Böylelikle nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonatların sistemik kullanımının, çekim yarası ve yumuşak doku iyileşmesine etkilerini histopatolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK

2.1.1. Kemik dokusunun fizyolojisi

Kemik dokusu yapısında bulundurduğu farklı hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik tuzların çöktüğü ve bu sayede sağlamlık, esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış olan, özelleşmiş bir bağ dokusudur [17]. Biyomekanik ve metabolik özellikleri nedeniyle insan vücudu için yapısal önem taşımaktadır. Kemik dayanıklılık açısından bağ dokusundan farklılıklar gösterir. Kemiğe bu özelliği veren yapısındaki kollajen lifler, çok çeşitli non-kollajen proteinler ve mineraller barındıran kemik matriksi içinde çözülmüş halde bulunan inorganik tuzlardır. Kemik, mineral içeriği nedeniyle kalsiyum başta olmak üzere bir iyon deposu işlevi görürken, hücre dışı sıvı bütünlüğünün ve özellikle iyonize kalsiyum konsantrasyonunun düzenlenmesine katkıda bulunur [18, 19].

Ayrıca kemik dokusu, kendisini tamir edebilen, kütle, şekil ve yapısal özelliklerini mekanik gereksinimler doğrultusunda uyarabilen ve yaşam süresince istemli fiziksel aktivitelere direnç ve destek sağlayan bir sistemin temel ögesidir [20].

2.1.2. Kemik dokusunun makroyapısal bileşenleri

2.1.2.1. Primer kemik dokusu

Fötal gelişim ve kemik onarımı sırasında ilk oluşan, olgunlaşmamış kemik dokusuna '*primer kemik dokusu*' denir ve bu doku olgunlaşmamıştır. Mineral oranı sekonder kemik dokusuna göre daha azdır ve kollajen lifler ağlar oluştururlar. Hidroksiapatit kristalleri

kollajen lifler üzerine oturmuştur. Osteositler ara maddede gelişigüzel dağılmışlardır ve bulunuş oranları sekonder kemik dokusuna göre daha yüksektir. Lakunalar biraz daha yuvarlak şekildedir. Gelişim süresince var olan primer kemik, bazı bölgeler dışında (kafatası suturları, tendonların kemiğe tutunduğu bölgeler, dişlerin alveolleri gibi) yerini sekonder kemik dokusuna bırakır [21, 22].

2.1.2.2. Sekonder kemik dokusu

Buna olgunlaşmış kemik dokusu da denir. Sekonder kemik dokusu lamelli bir yapı gösterir. Kemik lamelleri ardışık şekilde düzenlenmiştir ve 3-7 mikron kalınlığındadır. Kollajen lifler kemik lamelleri içinde özel bir biçimde yerleşmişlerdir. Aynı lamelde bulunan kollajen lifler, birbirine paralel uzanırken komşu lameldekilerle çapraz yönde ve spiraller yaparak seyredeler. İçerdiği hücreler osteositlerdir ve komşu lamellerin arasına düzenli aralıklarla yerleşmişlerdir. Sayıca primer kemik dokusundakine göre azdırlar. Lakunalar yassı-oval biçimlidir [21, 22]. Sekonder kemik dokusu kansellöz ve kortikal olmak üzere iki türdür:

2.1.2.2.1. Kansellöz Kemik Dokusu

İki kortikal kemik arasında yer alan süngerimsi kemiktir. Üç boyutlu trabeküler kafes bu yapının temelini oluşturur. Genel olarak trabeküllerin uzaysal (3 boyutlu) yönlenmesi rastgeledir. İliak kemiğin uç kısmı gibi bazı anatomik bölgelerde trabeküller, yüklemeye uygun biçimde hizalanmışlardır. Trabeküler kemik yüklemeye göre gelişme de fizyolojik uyarılara çok çabuk yanıt verir. Bunun sebebi de kansellöz kemikteki yüzey alanının 20 kat daha fazla olması ve birim alandaki hücre yoğunluğundandır [20, 23, 24].

2.1.2.2.2. Kortikal Kemik Dokusu

Organizmadaki tüm kemiklerin dış yüzeyini kompakt kemik dokusu oluşturur, bu da iskelet sisteminin %80'ini oluşturur. Kortikal kemik organları korur, biyofonksiyonel uyarılara direnç gösterir, harekete olanak verir ve iç denge için uygun bir kaynak oluşturur [25].

Kortikal kemik dokusu *Haversian* ve *Volkman* adlı iki kanal sistemi içermektedir. Kortikal kemikteki *Haversian* sisteminin fonksiyonu biyofonksiyonel kuvvetlere cevap vermektir. Her *havers* sistemi uzun, sıkça dallanan ve diyafizin uzun eksenine paralel olan bir silindir şeklindedir. *Havers* sistemleri, dış dairesel lameller, iç dairesel lameller ve hücreler arası lamellerden ibaret bir dizilim gösterir. Endost ile örtülü her kanal içinde kan damarları, sinirler, ve gevşek bağ dokusu bulunur [21, 26, 27].

Havers kanalları, yatay ya da oblik seyreden *Volkman* kanalları aracılığı ile kemik iliği boşlukları, periost ve kendi aralarında iletişim kurmaktadır. *Volkman* kanallarının dairesel lamelleri yoktur, lamelleri delerek geçerler [28, 29]. Her lamelde lifler birbirlerine paraleldir ve sarmal şeklinde seyrederek. Bununla birlikte sarmalın açıklığı her lamelde farklıdır, bu şekilde komşu iki lamelin lifleri birbirlerine yaklaşık olarak dik açıyla keser. Her lameller halkada bir miktar osteosit bulunur. Bu osteositler aynı lamel içinde *kanalikuli* denilen çok geniş bir ağ sistemi ile diğer osteositlerle ilişki halindedir. Ayrıca *Volkman* kanalları kortikal kemiğe oblik bir açı ile penetre olurlar ve *Haversian* sistemle anastomozlar yapar. Böylelikle metabolik alışveriş, hormonlar gibi çözünebilir sinyaller için vasküler-lenfatik kanalları oluştururlar. [27, 30].

2.1.3. Kemik yapısı

Kemik yapısının %65'ini mineraller, %35'ini organik matriks hücreleri ve su oluşturur. İnorganik maddelerin içeriğinde özellikle kalsiyum ve fosfat oranı yüksektir. Ayrıca bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum da bulunur [17].

Kuru kemik ağırlığının %35'ini organik maddeler oluşturur. Matriksin %90'ı Tip 1 kollajendir. Kollajen molekülleri 400 Å'lık gözenekler oluşturacak şekilde dizilmişlerdir. Organik matriksin kollajen olmayan kısmını matriks proteinleri oluşturur. Bunlar osteokalsin, osteonektin, sialoprotein, trombostin ve serum proteinleridir. Osteokalsin, diğer adıyla kemik glaprotein (BGP) kemikte bol bulunan bir NCP'dir. Asit özellikteki bu proteinin sentezi K vitaminine bağlıdır. Plazma seviyesi kemik yapımıyla orantılı olduğu için osteoblast seviyesini gösteren potansiyel bir göstergedir [31]. Osteonektin de bir NCP'dir. Osteoblast ve fibroblast tarafından yapılır. Kollajen ve hidroksiapatitle etkileşir. Sialik asitten zengin sialoprotein I ve II glikoprotein yapısındadır. Sadece kemikte bulunur, hücre ve mineral matriks arasında köprü görevi gördüğünden '*osteopontin*' adını da almaktadır [32]. Trombostin kalsiyumu bağlar ve hücre tutunmasında önemlidir. Serum proteinleri serumda artmış olan albumin dışında aynı konsantrasyondadır. Bunların yanında organik matriks, proteoglikanları ve sitokinleri de içermektedir.

2.1.4. Kemik hücreleri

2.1.4.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik oluşumundan sorumlu hücrelerdir. Osteoblastlar osteoid maddeyi salgırlar. Kalsifikasyonla da ilişkileri olduğu sanılmaktadır. Morfolojik görünüşleri sentez durumunda olup olmamalarına bağlıdır. Kemikleşme bölgelerinde, gelişmekte olan

kemiklerin periostiumunun kemiğe temas eden derin bölgelerinde diziler halinde bulunurlar [17, 27]

Osteoblastlar yüksek seviyede alkalin fosfataz aktivitesi gösterirler. Bu da kemik matriksinde kalsiyum depolanmasını osteoblastların düzenlediğini gösterir. Osteoblastlar PAS pozitif granüller bakımından zengindir. Kemiğin yapımı sırasında bu granüller kemik matriksinin öncüleri olarak kabul edilir ve mikroskopta pembe renkli küçük sitoplazmik vakuoller şeklinde görülür. Bu hücreler kemik matriksinin organik kısmını yani kollajen fibrilleri, proteoglikanları, glikozaminoglikan ve glikoproteinleri salgırlar. Bu organik maddeye *osteoid* denir [18, 33].

Osteoblastlar salgıladıkları osteoid içinde gömülü kalırlar. Yeni aktif kemik oluşumu durduğunda, osteoblastların aktiviteleri önce yavaşlar, sonra durur. Şekilleri de yavaş yavaş değişmeye başlar, iğ veya mekik şeklindeki hücelere dönüşür. PAS pozitif granülleri stoplazmalarından yavaş yavaş kaybolur. Hücrelerin fosfataz tepkimesi de hızlı bir şekilde düşer. Sonunda osteosit haline geçerler. Kemik yapımı sırasında, şekillenmekte olan kemik trabekül ve lamellerinin yüzeylerinde devamlı olarak bir osteoblast sırası bulunur. Bunlar osteoprogenitor hücelerden farklılaşır. Osteoblastlar bölünmezler [18, 34].

2.1.4.2. Osteoklastlar

Kemik sürekli olarak yıkılan, yapısal gerilim ve vücudun kalsiyum gereksinimi gibi etkenlerle yeniden yapılanan dinamik bir dokudur. Kemik trabekülleri yüzeyinde ve

çoğunlukla 'Howship' denen boşluklar içinde gözlenir. Osteoklastlar, osteoblastlarla birlikte mekanik streslere bağlı olarak kemiğin şekillenmesine olanak verirler [18, 27].

Kemiğin yeniden biçimlenme süresinde çözünüp çevre dokularca emilmesinden sorumlu çok çekirdekli hücreler olan osteoklastlar, kalsiyumun kemik dokusundan kana salınmasında aktif rol oynayarak, vücut sıvılarında kalsiyum konsantrasyonunun homeostatik düzenlemesinde çok önemli rol oynarlar. Kandaki kalsiyum seviyesinin düzenlenmesi, kemikte birbirine zıt çalışan iki hormonla kontrol edilir. Bunlar paratiroid bezinden salgılanan '*paratiroid hormonu*' ve tiroid bezinden salgılanan '*kalsitonin*'dir. Paratiroid hormonu kemik yıkımını uyararak kalsiyumun kemikten kana geçmesine neden olurken, kalsitonin kalsiyumun kemikten ayrılmasını baskılar [18, 22, 27].

2.1.4.3. Osteositler

Kemik matriksi içinde hapsolan osteoblastlara osteosit denir. Dolayısıyla osteositler, tamamen oluşmuş kemikte esas hücrelerdir. Osteositin hücre gövdesi, içinde bulunduğu lakün adı verilen boşluğun şekline uyar. Bu hücreler ince sitoplazmik uzantılara sahiptir. Bu uzantılar *kanaliküli* denilen küçük kemik kanalcıkları içinden komşu osteositleriyle ilişki kurar [19, 22]

Bu durum, kemik hücrelerinin lakünleri içinde tek başlarına hapsolmadıklarını, hücre-hücre bağlantı özellikleriyle birbirleriyle ilişki halinde olduklarını gösterir. Bu bulgu, kemiğin kalsifiye olmuş matriksi içinde gömülü bulunan osteositlerin kan yoluyla gelen hormonlarla nasıl uyarıldığını ve bunlara hücrelerin nasıl yanıt verdiğini gösterir. Osteositlerin kemiğin diğer hücre tiplerine dönüşebilme özelliği vardır. Öyle ki, kemik

yıkımı sırasında içinde buldukları lakünlerden dışarı çıkınca hemen dinlenme halindeki osteoprogenitor hücrelere, bunlar da osteoblastlara dönüşebilir. Osteosit, kendi gelişimi sırasında kemik matriksiyle çevrilmiş bir osteoblasttan başka bir şey değildir. Bulunduğu lakün içinde yavaş yavaş hücresel değişime uğrarken, aktivitesini de devam ettirir. Osteosit, kendi etrafındaki kemik matriksi üzerine önemli derecede etkide bulunur. Osteoliz olayı aktif fizyolojik bir olay olup, osteosit etrafındaki kemik matriksinin değişime uğratılması ve kemik tuzlarının geri emilmesidir [21, 22, 24]

2.1.4.4. Kemik döşeme hücreleri

Osteoblastların kemik oluşturma işlemlerini gerçekleştirmedikleri zamanlarda dinlenme halinde oldukları kabul edilir. Kemik yüzeyini kaplayan yassı, ince ve uzun görümlü bu hücreler, kemik yüzeyini döşeyen hücrelerdir. Erişkin iskeletin büyük bir kısmını örterler [24]. Potansiyel osteoblast kaynakları arasında oldukları, kemik ve ekstrasellüler sıvı kompartmanı arasında bariyer oluşturdukları ve kemikte yeni kemik oluşumunun veya rezorpsiyonunun hangi bölgede gerçekleşeceğini düzenledikleri tahmin edilir [21].

2.1.4.5. Osteoprogenitör hücreler

Bu hücreler sekonder (ikincil) kemiklerin dış ve iç yüzeylerini örten periostium ve endostium zarlarında, bu kemiklerin içerdikleri *Havers* ve *Volkman* kanallarının örtüsünde ve büyüyen kemiklerin metafizindeki kıkırdak matriksinin trabeküllerinde bulunurlar. İnaktif şekillerinin morfolojik yönden tanımlanması güçtür.

Bunlar kemik hücresi olma yönünde koşullanmış mezenkim hücrelerdir. Ancak herhangi bir nedenle kemik yapımı uyarıldığında, hem sayıca artmaları hem kemik yapıcı hücrelere

dönüşmeleriyle ayırt edilirler. Osteoprogenitör hücreler kemiklerin normal büyümesi sırasında aktiftirler. Erişkinlerde de yukarıda söz edilen bölgelerde inaktif (hareketsiz) dururken; kemikte yaralanma ve kırıkların iyileşme bölgelerinde ve kemiğin içten yeniden düzenlenmesi sırasında aktive edilerek mitozla bölünüp çoğalırlar. Çoğalan bu hücrelerin bir bölümü kemiği oluşturan osteoblastlara dönüşür. Osteogenez (kemik yapımı) durduğunda osteoblastlar da osteoprogenitor hücrelere dönüşebilirler [21, 22, 24].

2.1.5. Periostium ve endostium

2.1.5.1. Periostium

Periost parlak sarı beyaz renkli fibröz bir bağ dokusudur. Eklemler dışında kemiğin dış yüzeyini örter ve kemiğin çevre yumuşak dokularla ilişkisini sağlar. Periostun çevreye olan bağlılığı özellikle mukozaların doğrudan kemiğe yaslandığı yerlerde kuvvetlidir.

Periostun kollajen lifleri genellikle kemik yüzeyine paraleldir. Ligamanların ve tendonların kemiğe tutunma yerlerinde periostiumun yapısı değişir. *Sharpey lifleri* denen bu yapı, kalın kollajen lif kümelerinin doğrudan kemiğe tutunmasıyla oluşur ve periostiumun dairesel dış liflerine kadar uzanır. Hücreden daha zengin olan periostiumun iç tabakası bölünüp farklılaşarak, osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan yassı hücrelerden yana zengindir. Bu osteoprogenitör hücreler, konumları, yassı şekilleri, çok az miktardaki granüllü endoplazmik retikulumları ve az gelişmiş golgi kompleksleri ile karakteristiktir [18, 35].

2.1.5.2. Endostium

Medulla, spongioz kemik boşlukları ve Havers kanallarını içten kaplayan tabakadır. Büyüme süresinde endostium aktiftir. Kemik tamiri ve büyümesinde periostiumla birlikte görev alır [24].

2.1.6. Kemik dokusu embriyogenezi

2.1.6.1 İntramembranöz gelişim

İntramembranöz kemikleşmenin, kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında da rolü vardır. [36]. Bir grup mezenkimal hücrenin osteoblasta dönüşmesi ile kemikleşme süreci başlar. Mezenkimal doku yoğunlaşması alanındaki hücreler bölünerek kemikleşme merkezinin devamlı olarak büyümesinden sorumlu olan hücreleri (osteoblastları) oluştururlar. Çeşitli ossifikasyon bölgeleri radial olarak büyüüp birleşerek başlangıçtaki orijinal bağ dokusunun yerini alırlar. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri intramembranöz kemiğin periostium ve endostiumunu oluşturur [24, 31].

2.1.6.2. Endokondral gelişim

Organizmada erken dönemlerde (fötal dönem) uzun kemikler, her iki ucu genişlemiş silindirik bir şafttan oluşmuş kıkırdak modeller şeklindedirler. İlk kemik dokusu, kıkırdağı saran perikondriumun iç kısmında oluşan intramembranöz kemikleşme ile olur. Sonunda kalsiyum çökmeye başlar ve kıkırdak matriksi kalsifiye olur. Kalsifiye olmuş kıkırdak artıkları üzerinde primer kemik sentezi başlar. Bu ilk kemikleşme merkezine *primer kemikleşme merkezi* denir. Primer kemikleşme merkezi epifizlere doğru genişlemeye başlar. Kemik matriksi genişlemeyi sürdürdükçe bir taraftan da kalsifiye kıkırdak matriksi

osteoklastlara benzeyen çok çekirdekli dev hücreler tarafından ortadan kaldırılır [22, 24, 36].

Embriyonal gelişimin ileri safhalarında, epifizlerin ortasında sekonder kemikleşme merkezleri meydana gelir. Sekonder kemikleşme merkezlerinin oluşturduğu kemik dokusu epifizleri tamamen kapladığı zaman, epifizlerde kırıkta yalnızca iki yerde görülür. Bunlardan biri eklem kırıkta, diğeri epifizyal plak (epifizyal kırıkta, büyüme pilağı)' tır. Epifizyal kırıkta bir taraftan büyürken diğeri taraftan diyafiz tarafında oluşan kemik tarafından işgal edilir. Epifizyal plağın büyümesi sona erdiğinde kemik uzaması da durur [22, 24, 36].

2.1.7. Kemik dokusu iyileşmesi

2.1.7.1. Homeostaz ve Enflamasyon fazı

Organizmanın bütünlüğünün korunabilmesi için yaralanmayı takip eden zaman zarfında kanamanın kontrol altına alınmasının ardından pıhtının organizasyonu başlar. Enflamatuvar fazda ilk bir kaç saat ile bir kaç gün içinde kırık bölgesinde hematoma gelişir. Travmanın şiddetine bağlı olarak, kırık uçları komşuluğundaki periostium ve çevre yumuşak dokular yırtılır, damarlar yaralanır. Kırık uçlarını karşılıklı çaprazlayan kan ve lenf damarlarının yaralanmasıyla, bu uçlar arasındaki kemik iliğinde ve etrafında kan ve lenf sıvısı toplanır. Bu sıvı birikerek periostiumu kaldırır. Kanamanın durmasını ve pıhtılaşmayı sağlamak için trombosit ve trombositik faktörlerin toplanmasıyla moleküler aracılar yaralanma bölgesinde salınır. Kanamanın pıhtılaşması ile kırık uçları arasında, periostium altında ve periostium yırtılmışsa bunun etrafında hematoma oluşur. İnflamatuvar hücreler (makrofajlar, monositler, lenfositler ve polimorfonükleer hücreler) ve

fibroblastlar, prostoglandin etkileşimi ile kemiğe infiltre olurlar. Bu gelişmelerle kırık bölgesinde granülasyon dokusu oluşumu, vasküler doku ve mezankimal hücre göçü oluşur. Ana beslenme gereksinimi ve oksijen, kansellöz kemik ve kas tarafından sağlanır. Bu fazda antienflamatuvarlar ve sitotoksit ilaç kullanımı enflamatuvar yanıtı değiştirebilir ve kemik iyileşmesini baskılayabilir. [22, 24, 36].

2.1.7.2. Onarım (reperasyon) fazı

Onarım fazında fibroblastlar, kan damarlarının yara bölgesine ilerlemesine yardım etmek üzere stromaya yerleşmeye başlar. Damarlanma arttıkça kollajen matriks belirginleşir. Bu esnada osteoid salgısı oluşmaktadır. Takiben mineralizasyon olur ve kırık hattı bölgesi ve çevresinde yumuşak kallus oluşur. İlk 4-6 haftalık süre içinde oluşan bu kallusun fiziksel direnci düşüktür. Bu sebeple dışarıdan (alçı, korse, vb.) veya içeriden (sabitleme çivisi, osteosentez vidası vb.) desteklenmesi gerekir. Sonuçta kallus ossifiye olur ve kırık yüzleri arasında lameller olmayan kemik köprüsü oluşturur. Eğer uygun sabitleme yapılmazsa kallus ossifikasyonu yeterince oluşamaz, instabil fibröz birleşme gelişebilir [22, 24, 36].

2.1.7.3 Yeniden yapılanma (remodeling)

Kırık iyileşmesi yeniden yapılanma dönemi ile sonlanır. Bu dönemde kemik özgün güç, şekil ve yapısını kazanır. Bu dönem aylar hatta yıllar sürebilir. Aksiyal yüklenme ile gereksiz kemik kısımları kaybolur. Yeterli güç genellikle 3-6 ay içinde sağlanır [22, 24, 36].

2.1.8. Kemik iyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kemik metabolizması hormonlar ve yerel faktörlerin kontrolü altındadır.

2.1.8.1. Yerel Faktörler

- Kırılan kemiğin beslenmesinin zayıf olması ve kırık hematomunun dışarıya akması (açık kırık) kırık iyileşmesini geciktirir.
- Tam olmayan kırıklar (fissur) ve spongioz yapıdaki kemiklerin kırıkları çabuk kaynar. Kortikal kemik kırıkları daha güç kaynar. Kırık uçları birbirinden uzaksa, kaynama gecikmesi veya kaynamama görülür. Eklem içi kırıklar sinovyal sıvının taşıdığı fibrinoliz nedeniyle geç kaynarlar.
- Yeterli şekilde ve sürede kırık dokuların hareketsiz halde tutulması kemik iyileşmesinin temel prensibidir.
- Patolojik Nedenler; lokal malign hastalıklar, metabolik hastalıklar (DM,Rickets), osteomyelit ve radyasyon, kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler.
- Enfeksiyonlar kırık iyileşmesini geciktirir [22, 36].

2.1.8.2. Genel Faktörler

Kalsitrofik hormonların üçü kemik metabolizmasını etkiler. Bu hormonlar;

- *Paratiroid hormon*: Plazma kalsiyum seviyesini arttırır ve görece sabit oranlarda ekstrasellüler kalsiyum seviyesi sağlar. Osteoblastlar kalsiyum reseptörleri içeren yegane kemik hücreleridirler ve bu sebeple osteoblastlar paratiroid hormon etkisindediriler.
- *Vitamin D*: İntestinal ve renal kalsiyum bağlayıcı proteinleri stimüle eder. Sonuçta aktif kalsiyum alışverişini kolaylaştırır.

- *Kalsitonin*: Plazma kalsiyum seviyesinde akut artışa cevap olarak tiroid bezinin parafoliküler hücrelerinden salgınır. Kalsitonin, kalsiyuma bağı hücrenel metabolik aktiviteyi inhibe eder.

Kemik metabolizması bazı proteinler ve büyüme faktörlerince (trombosit, makrofaj ve fibroblast kaynaklı) de etkilenir. Bu proteinler kemik iyileşmesi üzerine etki etmektedirler. Yine bu proteinler, mezankimal kaynaklı hücrelerin (örn. Monosit, fibroblast) kemik hücreleri içine göçüne, ilerlemelerine ve farklılaşmalarına katkıda bulunurlar. Bunların arasında *Bone morphogenetic protein* (BMP), *insülin-like growth factor* (ILGF), *transforming growth factor* (TGF), *platelet derived-growth factor* (PDGF) ve *fibroblast growth factor* (FGF) kemik iyileşmesini hızlandırır. [22, 36].

2.2. Diş Çekim Yarasının İyileşmesi

Diş çekim yarasının iyileşmesi kırık iyileşmesine benzer aşamalar gösterir.

Bu aşamalar kısaca:

- çekim boşluğunun hematoma ile dolması
- pıhtının organizasyonu
- yara yüzeyinin epitelizasyonu
- çekim boşluğunun bağ dokusunda örgü (*woven*) kemiğinin oluşumu
- örgü kemiğinin trabeküler kemik ile yer değiştirmesi ve alveolün yeniden
- şekillenmesidir.

Diş çekiminden hemen sonra kanama meydana gelir. Bu aynı zamanda artıkların yara bölgesinden uzaklaşmasını sağlar. Doku hasarı orta derecede enflamatuvar yanıtı

beraberinde getirir. Soketteki kan damarlarında genişleme olur. Birinci günde periferden pıhtıya doğru lökosit göçü olur. Üçüncü günden itibaren pıhtı granülasyon dokusu ile yer değiştirene dek, çevre bağ dokusundan fibroblast ve kapillerler gelişmeye başlar. Alveol kretlerinde osteoklastik aktivite sonucu rezorbsiyon meydana gelir. Beşinci günde yara kenarlarından epitel proliferasyonu başlar ve yedinci günde fibroblastların organizasyonu yanında çekim esnasında zarar gören küçük kemik parçacıkları ya rezorbe olur ya da sökestr olarak atılır. On dördüncü günde pıhtının yerini granülasyon dokusu alır. Kalsifiye olmamış kemik dokusu, iyileşen alveolün çevresinde oluşur. Alveolün özgün şekli on dördüncü günde oluşmaya başlar. Yirmi birinci günde soket tam kalsifiye olmayan kemikle dolar. Yaklaşık bir ay boyunca çekim kavitesini dolduran örgümsü kemik ile trabeküler kemik yer değiştirir ve normal kemik dokusunu oluştururlar. [37-39].

2.3. Ağız Mukozası

İnsanda ağız boşluğu nemli bir müköz membran ile kaplanmıştır. Ağız mukozası yassı epitelden ve lamina propriadan oluşur [22]. Bu iki tabaka birbirinden bir bazal membranla ayrılmıştır. Mukoza ağzın farklı bölgelerinde, fonksiyonel gereksinimlere göre yer yer bölgesel değişiklikler gösterir. Çeşitli sayıda minör tükürük bezleri ve gevşek yağ dokusu içeren derin bağ dokusu *submukoza* olarak isimlendirilir. Yanak ve yumuşak damak gibi ağız bölgelerinde bulunmasına rağmen, bir çok bölgede submukoza yoktur ve bulunmadığı bölgelerde müköz membran direkt olarak alttaki kemik veya kasa yapışıktır [17, 22].

2.3.1. Ağız Epiteli

Ağız mukozası yer yer keratinleşme sergileyen çok katlı yassı epitelden oluşur [40, 41]. Epitelin kalınlığı ağızda bölgeden bölgeye değişir; dişeti ve damakta kalın, ağız tabanında

ise incedir. Ağız boşluğunu döşeyen epitel *stratum basale* (bazal tabaka), *stratum spinosum* (dikensi tabaka), *stratum granulosum* (granüler tabaka) ve *stratum corneum* (boynuzsu, yüzey tabaka) olmak üzere 4 tabakadan oluşur [41, 42].

Epitelin bazal tabakası doğrudan bazal membran üzerine yerleşir ve bir sıra prizmatik hücreden oluşur. Bu tabaka hücre çoğalmasının gerçekleştiği yerdir. Stratum bazaledeki bir hücre bölünerek yeni bir kök hücre ve ikinci bir hücre oluşturur. Bu ikinci hücre yüzeye göç etmeden ve nihai farklılaşmaya uğramadan önce birkaç kez bölünebilme yeteneğine sahiptir. Epitelin bu tabakasında, mitoz bölünmenin farklı evrelerine sıklıkla rastlanır. Deride bazal tabaka genellikle tek bir hücre tabakasından oluşurken, ağızdaki epitelde bazal tabaka iki veya üç hücre kalınlığında olabilir. Bu tabaka bazal membrana yarım desmozomlarla (hemi-desmosom) tutunmuştur [42, 43]. Glikojenin dikensi tabakanın üzerinde veya granüler tabakadaki hücrelerde depolanması mukozayı deriden ayıran önemli bir farktır [44].

Bazal tabaka üzerinde yer alan poligonal veya kübik hücreler *stratum spinosum* oluştururlar. Epitelin en geniş tabakası olan *stratum spinosum*, ışık mikroskopunda iyi gelişmiş desmozomları nedeniyle geniş dikensi görünümde hücreler olarak görünür. Bu tabakadaki hücreler mitoz özelliklerini koruyabilirler ancak bazal tabakadaki hücrelere göre daha az aktiftirler [45].

Stratum granulosum, *stratum spinosum*un üzerinde iki-üç hücre kalınlığında olup, sadece ortokeratinize epitelde görülür. Bu tabakayı oluşturan hücreler yassılaştırmıştır,

organellerinde dejenerasyon başlamıştır. Sitoplazmalarında koyu boyanan keratohiyalin granülleri görülür. Hücre aktivitesi son derece düşmüştür [45].

Stratum corneum epitelin en üst tabakasıdır, organellerden yoksun fakat keratin tonofilamentleriyle depolanmış, çekirdeksiz, keratinize, yassı hücrelerden oluşur [41]. Hücrelerin membranları kalınlaşmış, hücre içi tonofilamentler ve izole yağ damlacıklarıyla dolmuştur. Bu hücreler yüzeyden atılırlar, ancak bazal tabakalardan göç eden hücreler bu tabakayı devamlı yeniler [42, 45].

Dişleri çevreleyen dişeti, sert damak ve dilin dorsal yüzeyi keratinize epitel ile kaplıdır. Dişeti ve sert damaktaki keratinize epitel kemik veya dişlerin sementine sıkıca tutunmuş yoğun bir fibröz lamina propria üzerine oturmuştur [42]. Keratin tabakası parakeratinize, ortokeratinize veya her ikisinin bir kombinasyonundan oluşur. Parakeratinize epitelde granüler hücre tabakası yoktur ve keratin tabakasında çekirdekli hücreler vardır. Ortokeratinize epitelde granüler hücre tabakası mevcuttur ve keratin tabakasındaki hücreler çekirdeklerini kaybetmiştir [46]. Nonkeratinize epitel vestibül, ağız tabanı, yanak, yumuşak damak ve dilin ventral yüzeyi gibi mekanik streslerin az olduğu ağız bölgelerini kaplamıştır [19, 40, 44].

Ağız mukozasının epitel tabakasının büyük bir bölümünü epitel hücreleri oluştururken bunların dışında melanin üreten melanositler, makrofaj yapısında olan ve intraepitelyal antijen sunan dentritik *Langerhans* hücreleri, sinir iletiminde görev alan *Merkel* hücreleri bulunur. Bunların tanımlanması için özel boyamalar gereklidir [47].

2.3.2. Lamina Propria

Lamina propria mukozaya yapısal destek sağlar ve fibröz bağ dokusu karakterindedir. Kan ve lenf damarları ve sinir liflerinden zengindir. Yumuşak damak ve ağız tabanında çok sayıda yağ hücresi içerir. Lamina propria'da dişeti dışında yer yer küçük tükruk bezlerine rastlanılmıştır [41]. Lamina propria, processus alveolarisler ve damağın ön bölümünde fibröz bir bağ ile doğrudan periostiuma tutunmuştur [41, 42].

Lamina proprianın esas hücreleri fibroblastlardır ve fibroblastlar ekstraselüler hücreler arası matriksin zemin maddesi olan kollajeni sentezler ve salgırlar. Mekanik yüke bağı olarak kollajen bantların yoğunluğu değişiklik gösterir. Ayrıca burada mast hücreleri, makrofajlar ve lenfositler de bulunur [42, 47].

2.3.3. Ağız Mukozasının Görevleri

Sekresyon: Sindirim enzimleri, musin, antikorlar ve tükruk bezi kanallarından gelen sekresyonlar mukoza yüzeyine salgılanır.

Bariyer: Zararlı maddeler, antijenler ve patojen mikroorganizmalara karşı fiziksel ve kimyasal bir bariyer fonksiyonu görür.

İmmunolojik koruma: Mukoza içindeki lenfatik doku antikorlarla vücudun ilk savunma hattını oluşturur.

Absorbsiyon: Bazı metabolitlerin geçişine olanak sağlar [40, 46] .

2.3.4. Ağız Mukozasının Özellikleri

2.3.4.1. Çiğneyici Mukoza

Ağız mukozası büyük oranda örtücü mukozadan oluşur. Yanağın içini, dudakları, ağız tabanını, dil altını, vestibül bölgeyi ve yumuşak damağı döşer. Örtücü mukozanın epitelı genellikle nonkeratinizedir ve bazı bölgeleri parakeratinize olabilir [46]. Örtücü mukoza gevşek fibröz lamina propriaya sahiptir. Örtücü mukozanın kalınlığı kendi içinde de farklılık gösterebilir [43]. Örneğın lateral çiğneme kuvvetlerinin etkilediğı yanağın dişlere temas eden bölgede epitel kalınlaşarak uzun, dallanmış bağ dokusu papillaları içerir. Dişlerin epitele sürtünmesine bağılı hasarında ve belli bir süre sonra bu bölgede parakeratinleşme olabilir. Dilin rahat hareket etmesi için ağız tabanındaki epitel ince olup gevşek ve kalın submukozadan oluşur [47].

2.3.4.2. Çiğneyici Mukoza

Çiğneme mukozasının kapladığı sert damak ve dişeti bölgeleri yoğun bir fibröz laminayı örten ve arada submukoza olmaksızın periostiuma direkt bağılı olan kalın keratinize epitelden oluşur. Epitel altı bağ dokusunun çiğneme etkilerine dayanıklılığı uzun ve gelişmiş rete peglerle desteklenir [43, 46, 47].

2.3.4.3. Özelleşmiş Mukoza

Özelleşmiş mukoza dilin dorsal yüzeyi ile sınırlanmıştır. Ağırlıklı olarak keratinize olan bu bölge aynı zamanda tat tomurcukları ve papillaları içermektedir. Dört tip papilla tanımlanmıştır bunlar; *filiform*, *fungiform*, *sirkumvallat* ve *foliat* papillalardır. *Filiform papilla* sayıca en çok olanıdır. Dilin yüzeyine kadifemsi ve pürtüklü bir görünüm kazandırırılar. Bunlar dilin “V” sine paralel sıralanmıştır ve tat tomurcukları içermez, sadece mekanik rol oynarlar. *Fungiform papillalar*, nonkeratinize yüzeyli, mantar benzeri düzensiz yapılarıdır. Dilin ön açısında rastgele yerleşmişlerdir. Yüzeyinde arasıra tat

tomurcukları da içerebilirler. *Sirkumvallat papillalar* daha geniştir. Dilin ön 2/3'ü şeklinde dizilmiştir. Bunlar etrafı çukurla çevrili düz tepeli papillalardır. *Von Ebner* bezlerinin boşaltım kanalları bu çukurların içine açılırlar. Papillaların lateral duvarlarına yerleşmiş tat tomurcukları vardır. Dilin dorsal-lateral yüzeyinde yerleşmiş iyi gelişmiş mukoza dörümleri *foliat papilla* adını alır. Bunlar tad tomurcukları veya lenfoid doku içerebilir [41, 43, 44, 46] .

2.4. Yumuşak Doku Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi çok basamaklı, hücre yapıları ve doku tabakalarının restore edildiği dinamik ve karmaşık bir süreçtir. Ağız mukozası ve deri yaralanmalarında benzer bir iyileşme dizisi meydana gelir. Bunlar hemostasis, enflamasyon, granülasyon dokusunun şekillenmesi ve bağ doku matriksinin yeniden şekillenmesinden oluşur [48, 49]

Yaralanmadan sonra ilk olarak trombosit ve fibrinden oluşan hemostatik tampon şekillenir. Kapiller endotelyumun yaralanmasıyla bazal membran adheziv proteinleri, kollajen, fibronektin ve von Willebrand faktörü kan akımına geçer. Bu yapılar trombositleri agregasyon için stimüle eder. Aktive olmuş trombositler, doku faktörleri (fibroblast veya makrofajların yüzeyinde bulunan bir protein) ve perivasküler proteinler pıhtılaşmayı başlatır. Normalde serumda sessiz kalan aktive edilmiş plazma koagülasyon faktörleri, fibrin üretimiyle sonuçlanan bir seri reaksiyonu hızlandırır. Bu fibrin molekülleri hemostatik tamponu stabilize etmek ve çapraz bağlantıları sağlamak için kümeleşmiş trombositlerin yüzeyindeki trombinle polimerize edilir [50, 51]. Bu pıhtı aynı zamanda yara iyileşmesi için bir model görevi görür. Fibroblastların, makrofajların, endotelial

hücrelerinin ve epitelyal hücrelerinin erken migrasyonu, fibrin polimerlerinin varlığına bağlıdır [51].

Hemostatik tampondaki aktive olmuş trombositler, yara içindeki enflamatuvar infiltratları harekete geçiren kemotaktik faktörleri ve araşidonik asit metabolitlerini (lökotrienler, tromboksanlar ve prostaglandinler) serbestlerler [52].

Araşidonik asit metabolitleri hemostazise vazokonstriktör olarak yardımcı olurlar. Trombositler aynı zamanda büyüme faktörlerini de üretirler; α granüllerini ortama verdiklerinde bu faktörler kemotaktik özelliklere sahiptirler ve yara iyileşmesinin ilk fazı için kritik olan enflamatuvar infiltratları düzenlerler. Hemostazisin sağlanmasından sonra yara iyileşmesi fazları başlar;

2.4.1. Enflamatuvar Faz

Akut enflamasyonda PMNL'ler başlangıçta yara içindeki baskın enflamatuvar hücrelerdir [49]. PMNL'ler cansız doku ve bakterileri fagosite ederler [51]. 48 saat sonra monositlerin akışıyla yara içindeki PMNL'lerin etkinliği azalır. Dolaşımdaki monositler; PMNL'ler, trombositler ve pıhtıdan açığa çıkan kemotaktik faktörlerle yaraya taşınırlar. Bu aşamada makrofaj olarak isimlendirilen monositler yaralı dokuya girerek yaranın artıklarının temizlenmesini sürdürürler [52]. Kronik enflamasyonda görülen lenfositler de enflamatuvar infiltratların içinde mevcuttur. Lenfositlerin makrofaj göçünü baskılayan faktörü ve makrofaj aktive edici faktörü serbestlediği bilinmektedir. Bu akıcı mediatörler makrofajları stimüle eder ve yaradaki varlığını sürdürmesini sağlar. Makrofajlar enflamasyonun hem akut hem de kronik fazlarında görev alırlar. Akut enflamatuvar faz 72

ile 96 saat sürer. Sonunda bütün cansız dokular yaranın kalıcı onarımının hazırlanması sırasında uzaklaştırılır; bu görev makrofajlar tarafından üstlenilir [53].

2.4.2. Proliferatif (Fibroblastik) Faz

Yaralanmadan kısa bir süre sonra yara kenarındaki epitel hücreleri, fibroblastlar ve kapiller endotel hücreler metabolik olarak yarayı doldurmak ve örtmek için aktive olurlar [51, 52]. Bu göç, hücrelerin hareket edebildiği yapı iskelesinin varlığına bağlıdır. Fibrin polimerlerinden oluşan bu iskele enflamatuvar faz ve proliferatif faz boyunca, kollajen, hyaluronik asit, fibronektin ve kondroitin sülfat ile yer değiştirir. Fibroblastlar tarafından sentezlenen bu yapı *ekstrasellüler matriks* (ESM) olarak isimlendirilir [51]. ESM'nin fonksiyonu hücrelerin migrasyonu için rehber bir zemin sağlamaktır. ESM lökositlerin kemotaksisi, yeni damarlanma ve kollajen yapımını teşvik eder. Yaralanmamış mukoza, tamir olan dokunun organizasyonuna yardımcı olur [54].

Makrofajlar iyileşme zincirinin merkezdeki yönlendiricileridir. Ölü doku boşluklarında düşük oksijen gerilimine dayanıklı olduklarından, yeni damarlanma ve fibroblast gelişimi için ortam hazırlayıcı olabilmektedirler. Fibroblastlar göç ve kollajen üretiminden sorumludurlar [48, 53]. Büyüme faktörlerini ve diğer hücrelerin migrasyonunu kontrol ederler. Makrofajların varlığı ile yeni damarlanma arasında doğrudan bir ilişki mevcuttur. Epitel hücreler yarayı kapatmak için uyarılırlar [52]. Granülasyon dokusu, fibroblastlar, kapiller endotel hücreler ve makrofajlarla şekillendirilir [51]. Granülasyon dokusunda yer alan bu fibroblastlar sahip oldukları kasılabilme özelliklerinden dolayı miyofibroblast olarak isimlendirilir. In-vitro olarak histamin, serotonin, bradikinin, epinefrin, norepinefrin ve prostaglandinlere düz kasların fonksiyonel yeteneklerine benzer şekilde reaksiyon

verdikleri görülmüştür [48]. Yara granülasyon dokusu ile dolarken fibroblastlar yara kenarlarını birlikte iterler ve bu klinikte büzülme olarak görülür [53]. Yaradaki oksijen gerilimi yeni kan damarlarını artırarak dolaşımın iyileşmesini sağlar. Bu fibroblastların proliferasyonunu baskılar ancak ekstraselüler kollajen üretimini stimüle eder. Yedi ile on gün arasında kollajenle dolan yara epitelyal hücrelerle örtülür. Daha sonra skar oluşumu için uzun bir süreç başlar [51, 52].

2.3.3. Olgunlaşma (Maturasyon, Yeniden Şekillenme) Fazı

Yara olgunlaşması 2 yıldan daha fazla sürebilen dinamik bir süreçtir. Zaman geçtikçe yaranın vaskülaritesi azaldığı gibi makrofajların etkisi de azalır. Sonunda fibroblastlar görece damarsız bir ekstraselüler kollajen içinde serpilmiş olarak kalırlar. Salgılanan kollajen, α zincirinin üçlü sarmalıyla tek amino asit kalıntısından oluşan bir makromoleküldür. Glisin her üç amino asit molekülünde de bulunur. Ancak salgılanan kollajenin ekstraselüler modifikasyonları mevcuttur. Prolin ve lizin glikolizasyon reaksiyonları, çapraz bağlantıların stabilitesi ve üçlü heliks yapının varlığı için önemli olan hidroksitlenmeyi enzimatik olarak gerçekleştirirler [55]. Başlangıçta olgunlaşmamış ekstraselüler kollajen (tip III) ve temel maddeler (proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar) yaraya hakimdir. Olgunlaşma ilerledikçe makrofajlar proteaz ve kollajenaz serbestlerler [56]. Temel madde azalır ve yara tip I kollajenle dolar ve olgun skar dokusu meydana gelir. Bu yeni kollajen, direncin maksimum olması için uzar ve çapraz bağlantılar oluşturur [55].

Kollajenin aşırı üretimi keloid ve hipertrofik skar ile karakterizedir. İnatçı hipervaskülarite enflamasyon tip III (olgunlaşmamış) kollajenin anormal dizilimi ve yığılmasıyla

ilişkilendirilmiştir [55]. Deneysel hayvan çalışmalarında ağız mukozasıyla deride oluşturulan eşit yaralarda, yara iyileşmesi fazlarında herhangi bir fark olmadığı, ancak ağızdaki yaralarda daha az granülasyon dokusu ve skar oluştuğu görülmüştür [49, 57].

2.5. BİFOSFONATLAR

Bifosfonatlar fosfor-karbon-fosfor yapısı ile karakterize bileşiklerdir. Bunlar, kemik mineralizasyonunun fizyolojik bir inhibitörü olan pirofosfatların karbon analoglarıdır. Pirofosfat ile yapılan öncü çalışmalar kalsiyum fosfat'a büyük oranda bağlandığını göstermiştir. Kalsiyum fosfata bağlandıktan sonra onun kristalizasyonunu bozmakta ve çözünürlüğünü azaltmaktadır. Ancak daha uzun süre kullanıldığında kalsifikasyon da inhibe olmaktadır. Parenteral verildiğinde ektopik kalsifikasyonların azaldığı gösterilmiştir. Çözünürlüğün azalmasına bağlı olarak kemik rezorbsiyonunda azaltma beklentisi olumsuz çıkmıştır. Bunun sebebi de pirofosfatın organizmada hidrolize olmasıdır. Bu düşünceden yola çıkarak organizmada süratle hidrolize olmayan, kemik rezorbsiyonu üzerine etkili bifosfonatlar üretilmiştir [58-60]. Bifosfonatlar ilk olarak 1800'lü yıllarda sentez edilmişlerdir, fakat tıpta kullanıma girmeleri 1960'larda olmuştur. *Etidronat*, *Paget* hastalığının tedavisinde kullanılan ilk bifosfonattır ve 100 yıl kadar önce sentez edilmiştir. Bifosfonatların erken dönem kullanımları endüstriyel olmuştur [61]. Korozyon inhibitörü veya tekstilde, gübre sanayi ve yağ endüstrisi gibi birçok sanayi dalında kompleks bir kimyasal ajan olarak kullanılmıştır [62].

Bifosfonatlar, inorganik pirofosfatın, P-O-P grubu yerine, P-C-P grubunu içeren ve bu gruptaki karbon atomu üzerinden yer değiştirilmiş edilmiş organik analoglardır. Yaklaşık %30-65 oranında plazma proteinlerine bağlanırlar veya plazmada ufak kümeler halinde

bulunurlar. Kalan kısmı ise serbest durumdadır. Absorbe edilen ilacın bir kısmı kemiğe geçerek tutulur, bu kemiğe geçiş oranı *klodronat* için yaklaşık %20, *etidronat* için %50 ve *alendronat* ve *pamidronat* içinse daha fazladır [63].

Bifosfonatlar, genellikle hidroksiapatite bağlanarak ve sonrasında onunla ilişkili osteoklastların aktivitelerini inhibe ederek kemik rezorpsiyonu üzerine etki ederler (74). Kemik oluşum döngüsünün fazla olduğu bölgelerde daha fazla tutulurlar. Antirezorbtif etkilerinin gelişim süresi türe ve doza bağlıdır [63].

Bifosfonatlar kemik dokusunda hidroksilapatite etkin bir şekilde bağlanırlar ve osteoklastların bifosfonat içeren hidroksilapatit kristallerini fagosite etmesi ile olgun osteoklastlar üzerinde metabolik zarara neden olurlar. Bu olay sadece *in-vivo* değil bifosfonat kaplı kemik partiküllerinde de gözlenen dejeneratif morfoloji ile desteklenmektedir [63, 64].

Bifosfonatlar osteoklastların sadece etkinliklerinde değil sayılarında da azalmaya neden olurlar. Ayrıca osteoblastların osteoklastları rezorpsiyon yerine çeken ve onların ömrünü uzatan faktörün salınımını da inhibe ederler [64].

Tıbbi kullanıma ilk giren bifosfonat bileşiği *etidronat*'tır. Daha sonra ise *alendronat*, *klodronat*, *pamidronat* ve *tiludronat* kullanıma girmiştir. Bifosfonatların bugün için bilinen etkileri; Ca-P kristallerine bağlanmaları ve minerallerin fazla çözünmesini engelleyerek kemik rezorpsiyonunu inhibe etmeleridir. Bu etkiyi:

- Osteoklast ana hücrelerinin dağılım ve osteoklast gelişimi yönünde farklılaşmalarını baskılayarak,
- Osteoklastların olgunlaşmasını baskılayarak ve
- Osteoklastların fonksiyonunu engelleyerek yapar [58-60, 65]

2.5.1 Bifosfonatların kullanım alanları

Bifosfonatlar klinik olarak dört alanda kullanılırlar:

- Nükleer tıpta teknesyum 99 m'e bağlanarak tanı amacıyla,
- Özellikle *Paget* hastalığı, tümöral hastalıklar ve osteoporoz gibi kemik hücresel döngüsünün arttığı hastalarda anti-osteolitik ajan olarak,
- Ektopik kalsifikasyon ve ossifikasyonu olan hastalarda kalsifikasyon inhibitörü olarak,
- Diş hekimliğinde anti tartar ajan olarak [66],

2.5.1.1. Kemiğin radyolojik görüntülenmesinde bifosfonatların kullanımı:

Bifosfonatlar özellikle hücresel döngünün yoğun olduğu bölgelerde kemik mineraline olan kuvvetli eğilimleri ve gama-emisyon yapan teknesyum izotopu özelliği gösterebilmeleri nedeni ile kemik metastazlarının ve kemiğe ait lezyonların tespitinde kullanılmışlardır [67].

2.5.1.2. Paget hastalığında bifosfonatların kullanımı:

Paget hastalığı bifosfonatların kullanımı ile doza bağımlı olarak kemik rezorpsiyonunun inhibe edilebildiği ilk klinik hastalıktır. *Paget* hastalığında temel zararı, artan osteoklast sayısı ve ativitesi vermektedir. Bu nedenle bifosfonatlar *Paget* hastalığının tedavisinde en

sık başvuru alan ilaç olmuşturlardır. Uzun yıllar boyunca *pamidronat*ın damar içi enjeksiyonu kullanılsa da son yıllarda daha uzun süre etki gösteren *zoledronat* tercih edilmektedir [61, 68, 69].

2.5.1.3. Onkolojide bifosfonatların kullanımı:

Birçok kanser türü hiperkalsemi ve artan kemik yıkımı ile ilişkilidir. Bu büyük ihtimalle kemik rezorbsiyonunu arttıran faktörlerin salınımına bağılı olarak meydana gelmektedir. Bifosfonatlar özellikle kemik içinde lokalize olmuş tümörlerde veya metastazlarında kemik rezorbsiyonunu engellemektedir. Klinik çalışmalar bifosfonatların sadece metastazları engellemekle kalmadığını ayrıca esas tümör odağında da küçülmeye neden olduğunu göstermektedir. Bu tip etkilerin büyüme hormonu salınımında meydana gelen değişikliklere bağılı geliştiğı düşünölmektedir. Diğer kemoteropatik ajanlarla birlikte sinerjik anti-tümör etki gösterdikleri kanıtlanmıştır. Bifosfonatlar myeloma, meme kanseri metastazları ve metastatik prostat, karaciğer, böbrek hücreli karsinom ve diğler solid tümörlerde kullanılmaktadır [70-73]. *Zoledronat*, *pamidronat*, *klodronat* ve *ibandronat*ın plasebo ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede etkili oldukları gösterilmiştir [70, 74, 75].

2.5.1.4. Bifosfonatların osteoporozda kullanımı:

Osteoporoz majör bir sağılık problemi olsa da 1990lara kadar çok sınırlı tedavi metodları bulunmaktaydı, fakat son yıllarda bifosfonatların kullanıma girmesi ile tedavide önemli aşama kaydedilmiştir. Bu amaçla öncelikle *etidronat* daha sonra *aledronat* ve *risedronat* kullanılmıştır. Azalan kırık sıklığı sadece kemik rezorbsiyonunun inhibisyonu ile değil ayrıca artan osteon mineralizasyonu ile açıklanabilir. Ayrıca bifosfonatlar

glukokortikosteroid uygulaması ile oluşan kemik kaybının önlenmesinde de etkili olmaktadır [70, 73].

2.5.2. Bifosfonatların sınıflaması

Bifosfonatlar moleküler mekanizmalarına göre ikiye ayrılırlar:

1. Adenozin trifosfat (ATP) 'ın intrasellüler analoglarının içine dahil olanlar:

- *Clodronat*
- *Etidronat*
- *Tiludronat*

2. Osteoklast formasyonu, fonksiyonu ve hayatta kalmaları için gerekli olan Guanozin trifosfat (GTP)-bağlayıcı proteinlerin fonksiyonunu inhibe edenler.

- *Risedronat*
- *Zoledronat*
- *Ibandronat*
- *Aledronat*
- *Pamidronat* [76].

Ayrıca bifosfonatlar nitrojen içerip içermediklerine göre de sınıflandırılabilirler.

Bifosfonat	Primer endikasyonu	Nitrojen içeriği	Doz	Kullanım
Etidronat (Didronel, P&G)	<i>Paget Hastalığı</i>	Yok	300-750mg 6 ay boyunca günlük	Oral

Tiludronat(Skelid, S-Aventis)	Paget Hastalığı	Yok	400mg 3 ay boyunca günlük	Oral
Alendronat (Fosamax, Merck)	Osteoporozis	Var	10mg/gün 70mg/hafta	Oral
Residronat (Actonel, P&G)	Osteoporozis	Var	5mg/gün 35mg/hafta	Oral
Ibandronat (Boniva, Roche)	Osteoporozis	Var	2.5mg/gün 150mg/ay	Oral
Pamidronat (Aredia, Novartis)	Kemik metastazları	Var	90mg/3hafta	İntra-venöz
Zoledronat (Zometa, Novartis)	Kemik metastazları	Var	4mg/3hafta	İntra-venöz

Tablo 1. Günümüzde eczanede bulunabilen bifosfonatlar dozajları, kullanımları ve içerikleri

Bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozundan en çok, nitrojen içeren bir bifosfonat olan zoledronik asit sorumlu tutulmuştur [10-13]. Bununla beraber etidronate gibi nitrojen içermeyen bifosfonatlara bağlı çene nekrozu vakaları da az olsa da bildirilmiştir [14-16]. Bazı araştırmacılar bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu gelişimini, oral mukozal hücrelerin proliferasyonun baskılanmasına bağlarken [77-83], bazıları bifosfonatların kemik hücreleri arasındaki dengeyi etkilediği ve böylece çene kemiklerinin yaralanmaya karşı verdikleri normal fizyolojik yanıtın baskılanmasına neden olduğunu iddia etmektedir [110]. Çalışmamızda nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonatların çekim yarasının iyileşmesi üzerine etkileriyle beraber, yumuşak dokudaki damarlanma ve epitel

rejenerasyonu üzerine etkilerini de incelemek hedeflenmiştir zira bifosfonatların oral mukoza üzerine etkileriyle ilgili çalışmalar sınırlıdır [77-83].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Gereç

Çalışmada kullanılan gereçler şunlardır:

- 24 adet Sprague- Dawley cinsi ortalama 350g±50g ağırlığında yetişkin erkek sıçan
- Ketanest® flakon (Ketamin hidroklorür, Parke Davis, Berlin, Almanya)
- Rhompun® flakon (Xylazine hydrochloride, Bayer Türk Kimya San. Ltd.Şti. İstanbul, Türkiye)
- Ameliyat seti (bisturi sapı #3, bisturi ucu #15, cerrahi dişli penset, periostium elevatörü, presel, kıvrık hemostat, portegü, cerrahi makas)
- ZOMETA® - Novartis (Zoledronik Asit)
- Etidronate Didronel; Procter & Gamble UK (Etidronik Asit)
- 10 cc'lik insülin enjektörleri
- Formaldehit (% 10'luk formol)
- Dietil eter
- Pentothal Sodium (Sodyum Pentotal)

3.2.Yöntem

3.2.1. Deney hayvanları ve grupları

Proje kapsamındaki hayvan deneyleri için İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 31.05.2012 tarihinde 2012-88 no'lu sayı ile gerekli izin alınmıştır.

Çalışmada kullanılan 24 adet Sprague-Dawley cinsi ortalama 350g±50g ağırlığında yetişkin erkek sıçan, deney süreleri boyunca 21±1⁰C sıcaklıkta, bağıl nem oranı %40-60, ışık periyodu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık standardını sağlayacak şekildeki ortamda, ameliyat sonrası beşer denek aynı metal kafesler içinde olacak şekilde muhafaza edilmiştir. Deney hayvanları, %21 protein içeren standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslenmiştir. Tüm deneklerin cerrahi operasyonları, İ.Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, kemik ve yumuşak dokularının histopatolojik incelemeleri ise İ.Ü. İstanbul Tıp Fakóltesi Onkoloji Anabilim Dalı Tümör Patolojisi Bilim Dalı'nda yapılmıştır.

Araştırma kapsamında 2 adet deney, 1 adet kontrol olmak üzere 3 grup oluşturulmuştur. Çalışma boyunca hayvanların beslenmesi düzenli olarak kontrol edilmiştir. Beslenmeye ve strese ait bulgular düzenli olarak haftada bir kez kontrol edilmiştir.

1. **Deney Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara 7, 14 ve 21. günlerde subkutan olarak 1mg/kg dexamethasone enjekte edilmiş ve enjeksiyonu takiben intramuskuler olarak 7.5 µg/kg zoledronik asit (Zometa® - Novartis) uygulanmıştır. 28.günde intraperitoneal 70mg/kg ketamin ve 13mg/kg ksilazin enjekte edilerek genel anestezi sağlanmış sonrasında sağ birinci mandibular molar diş çekilmiştir. Çekimi takiben palatinal dişetinde 5mm uzunluğunda, 1mm derinliğinde kesi gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanları 6 haftalık iyileşme sürecine bırakılmıştır.

2. **Deney Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara 7, 14 ve 21. günlerde subkutan olarak 1mg/kg dexamethasone enjekte edilmiş ve enjeksiyonu takiben intramuskuler olarak 7.5 µg/kg etidronik asit (Etidronate Didronel; Procter & Gamble UK) uygulanmıştır. 28.günde intraperitoneal 70mg/kg ketamin ve 13mg/kg ksilazin enjekte edilerek genel anestezi sağlanmış sonrasında sağ birinci mandibular molar diş çekilmiştir. Çekimi takiben palatinal dişetinde 5mm uzunluğunda, 1mm derinliğinde kesi gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanları 6 haftalık iyileşme sürecine bırakılmıştır.
3. **Kontrol Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara 4. haftada intraperitoneal 70mg/kg ketamin ve 13mg/kg ksilazin enjekte edilerek genel anestezi sağlanmış sonrasında sağ birinci mandibular molar diş çekilmiştir. Çekimi takiben palatinal dişetinde 5mm uzunluğunda, 1mm derinliğinde kesi gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanları 6 haftalık iyileşme sürecine bırakılmıştır.

3.2.2.Cerrahi yöntem

Asepsi ve antisepsi şartlarına uyularak cerrahi işleme hazır hale getirilen sıçanlara intraperitoneal 70mg/kg ketamin ve 13mg/kg ksilazin enjekte edilerek genel anestezi sağlanmıştır. Sonrasında steril cerrahi aletlerle dil ve yanak ekarte edilmiş, ucu kıvrık hemostat ile lüksasyon yapılarak, tüm sıçanların sağ birinci mandibular molar diş çekilmiştir. Çekimi takiben palatinal dişetinde 15 numara bistüri ile 5mm uzunluğunda, 1mm derinliğinde kesi gerçekleştirilmiştir. İşlemden sonra ilgili bölgelere steril gaz tampon ile bası yapılmış ve başka herhangi bir işlem yapılmadan iyileşmeye bırakılmıştır. Sıçanların beslenmesine yardımcı olabilmek amacıyla kafeslere toz yem koyulmuştur.

Çalışma sırasında yapılan uygulamalar kapsamında deney hayvanlarından yapılan diş çekimleri sonrasında biri nitrojen içeren bifosfonat grubundan diğeri de nitrojen içermeyen bifosfonat grubundan olmak üzere 2 adet sıçan öldüğü için çalışma kapsamı dışında bırakılmıştır. Çalışma süreci sonunda yani 8.haftada tüm deney ve kontrol gruplarına ait sıçanlar sakrifiye edilmiştir.

3.3. Klinik Değerlendirme

Sıçanların mandibulasının ilgili bölgesi klinik olarak muayene edilmiş ve apse, fistül ağzı, açığa çıkmış kemik varlığı değerlendirilerek kaydedilmiştir. Daha sonra her bir sıçanın mandibulası cerrahi olarak çıkarılmış ve histolojik değerlendirmeler için formaldehite (% 10'luk formol) konulmuştur.

Palatinal gingivadaki ilgili bölgesi klinik olarak muayene edilmiş ve apse, fistül ağzı, açığa çıkmış kemik varlığı değerlendirilerek kaydedilmiştir. Daha sonra her bir sıçanın palatinal bölgedeki dişeti cerrahi olarak çıkarılmış ve histolojik değerlendirmeler için formaldehite (% 10'luk formol) konulmuştur.

3.4. Histolojik ve Histomorfometrik Değerlendirme

Makroskopik değerlendirme sonrası alt çeneler semfiz orta hattın sağ ve sol olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Sağ çene bölgesindeki çekim soketine denk gelen alan, sağlam alveol kemiğini ve çekim soketini örten mukozayı da içerecek şekilde çıkartılmıştır. Elde edilen örnekler %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonunda ve bir hafta süreyle fikse edilmiştir. Ardından dekalsifikasyon için asit çözeltisine alınmıştır. Asit çözeltisi %20'lik

sodyum sitrat solüsyonu ve %50'lik formik asit solüsyonunun, %50 oranında karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. İki gün ara ile asit solüsyonu yenilenmiştir. Kemikteki dekalsifikasyon tamamlandığında, çekim soketinden uzunlamasına geçen kesitlerle diseksiyon yapılmıştır. Rutin doku takibinden geçirilen örnekler parafin bloklara gömülmüştür. Bu bloklardan 5-7 mikron kalınlığında kesitler alınarak lam üzerine yerleştirilmiştir ve 70C sıcaklıktaki etüvde deparafinize edilmiştir. Kesitlerin tümü Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır. Tüm preparatlar ışık mikroskopunda incelenmiştir. Çekim alanının tümü küçük (x40), orta (x200), büyük (x400) büyütmeyle taranmıştır. Öznel değerlendirmeden kaçınmak için değerlendirmeler tek kör yapılmıştır.

Deney hayvanlarının maksillasındaki kesi bölgesinin tümü kemiğe dek diseke edilmiştir. Alınan mukoza, mukoza altını kapsayan doku örnekleri %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonuna koyularak fikse edilmiştir. Fiksasyonun ardından rutin doku takibinden geçirilen örnekler parafin bloklara gömülmüştür. Bu bloklardan 5-7 mikron kalınlığında kesitler alınarak lam üzerine yerleştirilmiştir ve 70C sıcaklıktaki etüvde deparafinize edilmiştir. Kesitlerin tümü Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır. Tüm preparatlar ışık mikroskopunda incelenmiştir. Kesi alanının küçük (x40), orta (x200), büyük (x400) büyütmeyle taranmıştır. Öznel değerlendirmeden kaçınmak için preparatların hangi gruba ait oldukları göz ardı edilerek değerlendirme yapılmıştır.

3.4.1. Nekrotik Alanların Belirlenmesi

Çekim alanının tümü ışık mikroskobu ile taranmış, nekrozun görüldüğü üç bölgeden, orta büyütmeyle fotoğraf çekilerek nekroz alanları ölçülüp, ortalamaları alınmıştır. Ölçümler yapılırken *Olympus Image Analysis 5 (Tokyo-Japonya)* görüntü analiz programı

kullanılmıştır. Ölçümlerin değerlendirmesinde nekroz alanları milimetre kare olarak hesaplanıp, görüntü alanına yüzdesi bulunmuş ve üç alanın ortalama yüzdesi alınmıştır.

3.4.2. Damarlanmanın Düzeyinin Belirlenmesi

Çekim alanının tümü ışık mikroskobu ile taranmış, damarlanmanın en çok görüldüğü üç bölgeden, orta büyütmeyle fotoğraf çekilerek damar sayısı kaydedilmiş, ortalamaları alınmıştır. Ölçümler yapılırken *Olympus Image Analysis 5 (Tokyo-Japonya)* görüntü analiz programı kullanılmıştır. Palatinal mukozadaki kesi alanının damarlanma sayısını değerlendirmek için de aynı yöntem uygulanmıştır.

3.4.3. Osteoklast Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Çekim alanının tümü ışık mikroskobu ile taranmış, osteoklastların gözlemlendiği üç bölgeden, orta büyütmeyle fotoğraf çekilerek osteoklast sayıları kaydedilmiş, ortalamaları alınmıştır. Ölçümler yapılırken *Olympus Image Analysis 5 (Tokyo-Japonya)* görüntü analiz programı kullanılmıştır.

3.4.4. Mikrobiyal Yükün Değerlendirilmesi

Çekim alanı ve çevresindeki mikroorganizma varlığı, mikroorganizmanın görülmediği bölgelerde 0, mikroorganizmanın çekim soketi çevresinde görüldüğü bölgelerde 1, mikroorganizmanın çekim soketinden uzakta görüldüğü bölgelerde 2 ve hem çekim soketi çevresinde hem de çekim soketi çevresinden uzakta görüldüğü bölgelerde 3 olarak değerlendirilmiştir. Palatinal mukozadaki değerlendirme de aynı şekilde yapılmıştır.

3.4.5. Epitelizasyon Düzeyinin Belirlenmesi

Çekim alanı ve çevresindeki epitel varlığı, rejenerasyon görülen bölgelerde 2, proliferasyon görülen bölgelerde 1 olarak değerlendirilmiştir. Palatinal mukozadaki kesi alanında epitel varlığı da aynı şekilde değerlendirilmiştir.

3.4.6. İltihabi Doku Reaksiyonunun Değerlendirilmesi

Çekim soketi ve çevresindeki iltihap varlığı, iltihabın görülmediği bölgelerde 0, akut olarak görüldüğü bölgelerde 1, kronik olarak görüldüğü bölgelerde 2, karışık olarak görüldüğü bölgelerde ise 3 olarak değerlendirilmiştir. Palatinal mukozadaki kesi alanının iltihap varlığı da aynı şekilde değerlendirilmiştir.

3.4.7. Apse Oluşumunun Değerlendirilmesi

Çekim soketi ve çevresindeki apse formasyonu, apsenin olduğu bölgelerde 1, olmadığı bölgelerde ise 0 olarak değerlendirilmiştir. Palatinal mukozadaki apse formasyonu da aynı şekilde değerlendirilmiştir.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için *IBM SPSS Statistics V21.0* kullanılmıştır. Çalışmada yer alan değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler (ortalama, standart sapma, ortanca, min-max) elde edilmiştir. Grupların karşılaştırılmasında '*palatinal mukozadaki damarlanma miktarı*' dışındaki tüm parametreler için *Kruskal-Wallis* (çoklu karşılaştırma için *Dunn testi*), '*palatinal mukozadaki damarlanma miktarı*' için ise *One-Way ANOVA* (çoklu karşılaştırma için *Tukey testi*) kullanılmıştır. Anlamlılık sınır düzeyi olarak $p=0.005$ kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Çalışmada yapılan uygulamalar, Grup 1 (zoledronik asit grubu) sıçanlar ile kıyaslandığında, Grup 2 ve Grup 3 sıçanları tarafından genel olarak daha iyi tolere edilmiştir. Grup 2 ve Grup 3 sıçanların hiçbirinde çekim soketi bölgesinde mukoza ülserasyonuna, dişetinde fistül oluşumuna veya açığa çıkmış nekrotik kemiğe rastlanmamıştır. Klinik olarak, mukozanın diş çekim bölgesini tamamen örtmesi ve bifosfonata bağlı osteonekrozunun tanımında yer alan açığa çıkmış kemik varlığının gözlenmemesi, diş çekim boşluklarının başarılı bir şekilde iyileştiği izlenimini vermiştir. Grup 1 sıçanların 3'ünde çekim soketi bölgesinde açığa çıkmış nekrotik kemiğe rastlanmıştır. Hiçbir sıçanın palatinal mukozasında ülserasyona, ilgili bölgede açığa çıkmış nekrotik kemiğe veya dişeti fistülüne rastlanılmamıştır.

4.2. Histopatolojik Bulgular

Grup 1 sıçanların tümünde çekim yerindeki epitel rejenerasyonu tamamlanmıştır. 2'sinde epitelde proliferasyon sağlanmıştır. Tümünde nötrofil polimorf, lenfosit, plazmosit, histiosit infiltrasyonu içeren mikst tipte iltihap izlenmiş ve sıçanların tümünde apse formasyonu görülmüştür. Hepsinde mikroorganizma kolonileri saptanmıştır. Sıçanların 6'sında hem nekroze kemiğe bitişik hem de diğer alanlarda mikroorganizma kolonileri görülmüştür. Sadece 1 sıçanda, yalnızca nekroze kemiğe bitişik mikroorganizma kolonisi görülmüştür.

Grup 2 sıçanların tümünde epitel rejenerasyonu tamamlanmıştır. Sıçanların 5'inde nötrofil, polimorf, lenfosit, plazmosit, histiosit infiltrasyonu içeren mikst tipte iltihap izlenmiştir. Yalnızca 2'sinde lenfosit, plazmosit, histiositten oluşan kronik iltihap hücre infiltrasyonu görülmüştür. Sıçanların 5'inde apse formasyonu görülürken 2'sinde izlenememiştir. Sıçanların 3'ünde mikroorganizma kolonileri nekroze kemiğin uzağında izlenmiştir. 2'sinde mikroorganizma kolonileri her iki alanda görülmüştür. 2'sinde ise hiç mikroorganizma kolonisine rastlanmamıştır.

Grup 3 sıçanların tümünde epitel rejenerasyonu tam olarak görülmüştür. Yalnızca 2'sinde nötrofil polimorf infiltrasyonu içeren akut iltihap gözlenmiştir. Diğerlerinde iltihap saptanmamıştır. Sıçanların hiçbirinde apse formasyonu ve mikroorganizma kolonileri izlenmemiştir.

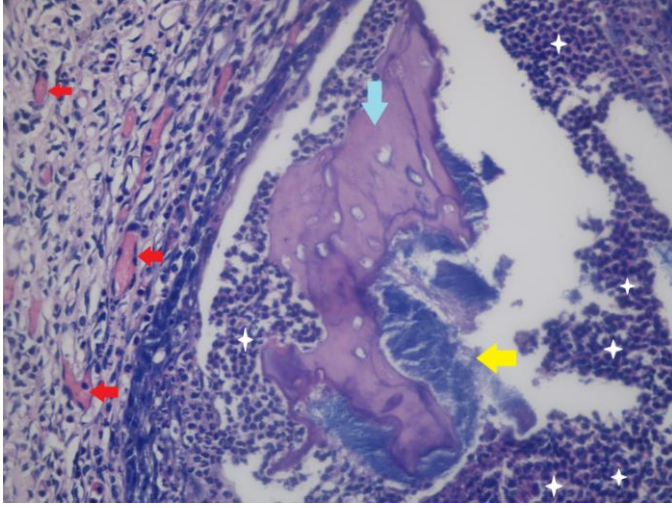
Tablo 2: Çekim soketi ve çevresinde nekroz kemik varlığı

	N	Median	Min-max	P
Grup 1	7	27	18-45	
Grup 2	7	12	0-26	
Grup 3	8	0	0-0	< 0,001

K.W.: 16,16

*Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı fark görülmüştür.

**Grup 1 ve Grup 2 arasında anlamlı fark görülmüştür.



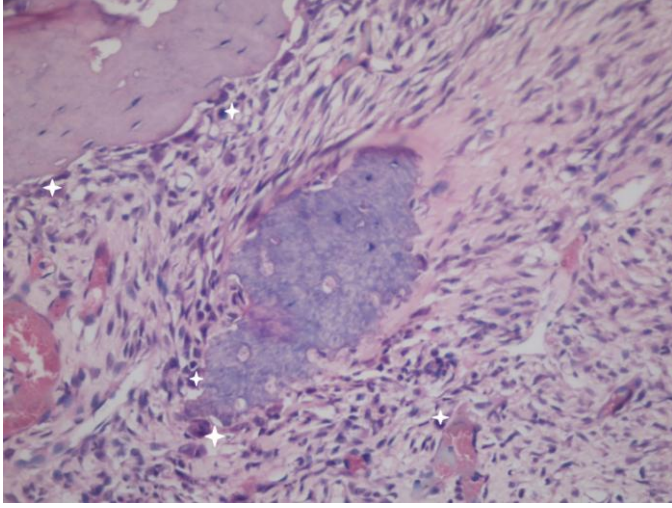
Şekil 1: Nitrojen içermeyen bifosfonat uygulanan deneğin çekim soketi ve çevresindeki mikroorganizma kolonizasyonu, iltihap ve nekroz varlığı

Tablo 3: Çekim soketi ve çevresinde damarlanma miktarı

	n	Median	Min-max	P
Grup 1	7	21	15-45	
Grup 2	7	35	22-46	
Grup 3	8	44	32-51	= 0,017

K.W.: 8,164

*Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur.



Şekil 2: Nitrojen içeren bifosfonat uygulanan denekteki osteoklast varlığı

Tablo 4: Çekim soketi ve çevresinde osteoklast sayısı

	n	Median	Min-max	P
Grup 1	7	6	2-9	=0,0088
Grup 2	7	3	1-4	
Grup 3	8	4,5	3-9	

K.W.: 9,46

*Grup 1 ve Grup 2 arasında anlamlı fark bulunmuştur.

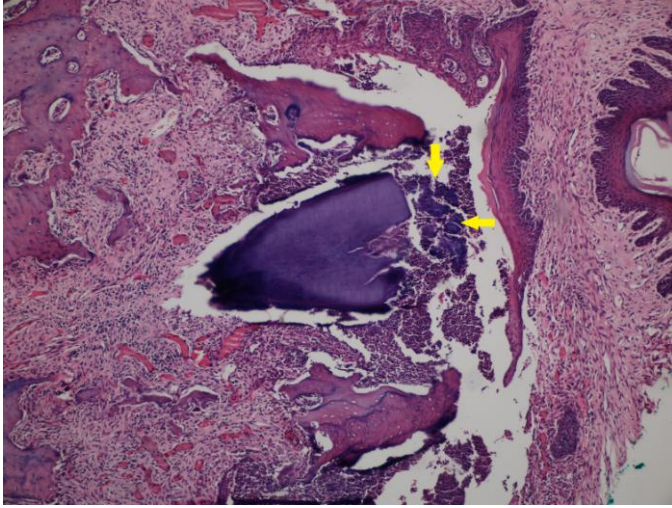
**Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur.

Tablo 5: Çekim soketi ve çevresinde mikroorganizma varlığı

	n	Median	Min-max	p
Grup 1	7	3	1-3	< 0,001
Grup 2	7	2	0-3	
Grup 3	8	0	0-0	

K.W. : 14,943

*Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı fark görülmüştür.



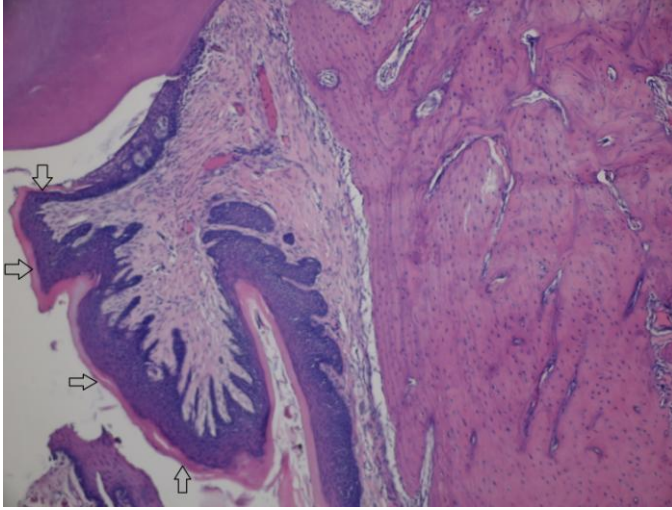
Şekil 3: Nitrojen içeren bifosfonat uygulanan deneğin çekim soketi ve çevresindeki mikroorganizma kolonizasyonu

Tablo 6: Çekim soketi ve çevresinde epitel varlığı

	n	Median	Min-max	P
Grup 1	7	1	1-2	
Grup 2	7	1	1-1	=0,105
Grup 3	8	1	1-1	

K.W.: 4,5

*Gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır.



Şekil 4: Kontrol grubu deneğinin çekim soketi ve çevresindeki epitel rejenerasyonu

Tablo 7: Çekim soketi ve çevresinde iltihap varlığı

	n	Median	Min-max	p
Grup 1	7	3	3-3	
Grup 2	7	2	2-3	< 0,001
Grup 3	8	0	0-1	

K.W. : 18,273

*Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı fark görülmüştür.

**Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı fark görülmüştür.

Tablo 8: Çekim soketi ve çevresinde apse formasyonu

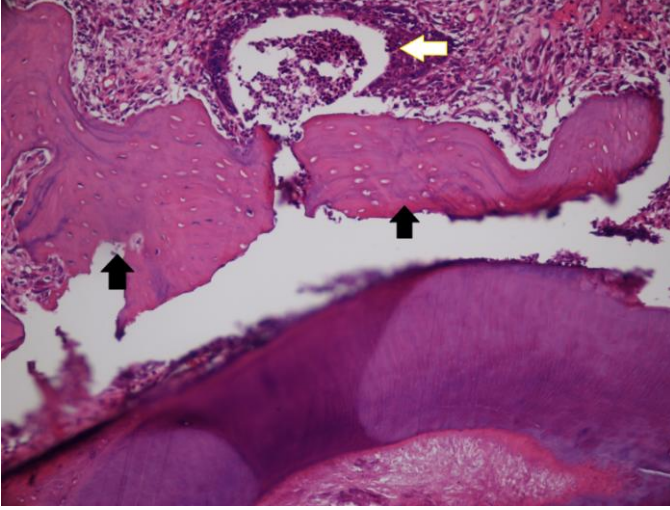
	n	Median	Min-max	p
Grup 1	7	1	0-1	< 0,001
Grup 2	7	1	0-1	

Grup 3	8	0	0-1	
--------	---	---	-----	--

K.W. : 15,5

*Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı fark görülmüştür.

**Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı fark görülmüştür.



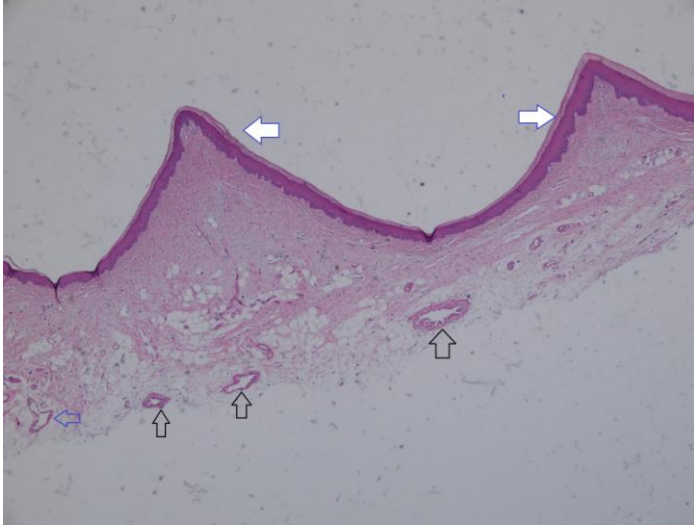
Şekil 5: Nitrojen içeren bifosfonat uygulanan deneğin çekim soketi ve çevresindeki apse ve nekroz varlığı.

Grup 1 sıçanların tümünde palatinal mukozadaki epitel rejenerasyonu tam olarak gözlenmiştir. Sıçanların 4'ünde nötrofil polimorf infiltrasyonu, 1'inde ise lenfosit, histiosit ve plazmosit infiltrasyonu görülmüştür, 2'sinde iltihaba rastlanmamıştır. Hiçbir denekte mikroorganizma kolonizasyonu ve apse saptanmamıştır.

Grup 2 sıçanların tümünde palatinal mukozadaki epitel rejenerasyonu tam olarak izlenmiştir. Sıçanların birinde nötrofil polimorf infiltrasyonu; 1'inde lenfosit, plazmosit ve

histiosit infiltrasyonu görülmüştür. 5'inde ise iltihap gözlenmemiştir. Hiçbir denekte mikroorganizma kolonizasyonu ve apse saptanmamıştır.

Grup 3 sıçanların tümünde palatinal mukozadaki epitel rejenerasyonu tam olarak izlenmiştir. Yalnızca 1'inde nötrofil polimorf infiltrasyonu görülmüştür. Diğer 6 sıçanda iltihap gözlenmemiştir. Hiçbir denekte mikroorganizma kolonizasyonu ve apse saptanmamıştır.



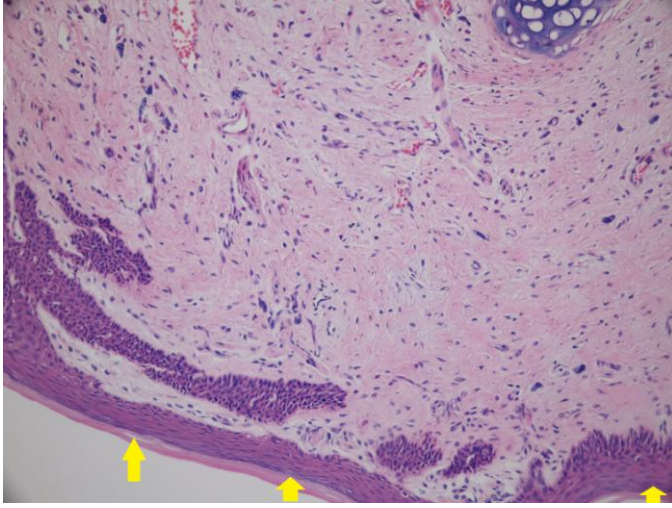
Şekil 6: Nitrojen içermeyen bifosfonat uygulanan deneğin palatinal mukozasındaki epitel rejenerasyonu ve damarlanması.

Tablo 9: Kesi yapılan yumuşak dokuda damarlanma miktarı

	n		F	P	Standart Sapma
Grup 1	7	12,86 +/- 2,73			
Grup 2	7	10,86 +/- 2,27	13,839	< 0,001	2,19
Grup 3	8	17,13 +/- 2,10			

*Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur.

**Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur.



Şekil 7 : Nitrojen içeren bifosfonat uygulanan deneğin palatinal mukozasındaki epitel rejenrasyonu

Tablo 10: Kesi yapılan yumuşak dokuda iltihap varlığı

	n	Median	Min-max	P
Grup 1	7	1	0-2	
Grup 2	7	0	0-2	
Grup 3	8	0	0-1	= 0,0168

K.W.: 3,56

*Gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

5. TARTIŞMA

Bifosfonatlar, diş hekimliğini de içeren pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Kemik rezorbsiyonunu önleyen bu ilaçlara, osteoporoz, Paget hastalığı, malignitelere bağlı hiperkalsemi, multiple myeloma ve solid tümörlerin kemik metastazları gibi metabolik ve malign kemik hastalıklarının tedavisinde sıkça başvurulur [8, 9, 84-87].

Marx ve Stern bifosfonatların çenelerde avasküler kemik nekrozuna yol açtığını ilk kez 2002 yılında bildirmiştir [88]. Bildirildiğinden beri bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu olguları her geçen gün artmaktadır. Bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu ve tedavisi üzerinde bilimsel tartişmalar devam etmekte ve bu durum epidemik bir problem olarak görülmektedir [13, 89, 90]

Bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozuna nitrojen içeren bifosfonat kullanımı sonrası daha sık rastlanmaktadır [15, 91]. Buna rağmen, etidronate gibi nitrojen içermeyen bifosfonatlara bağlı çene nekrozu vakaları da az olsa da bildirilmiştir [14-16]. Klinik kullanımda en etkin bifosfonat olan ve nitrojen içeren zoledronik asitin [92] multiple myeloma, metastatik meme kanseri, maligniteye bağlı hiperkalsemi, Paget hastalığı ve solid tümörlerin kemik metastazlarında etkinliği kanıtlanmıştır [93]. Buna ek olarak oral bifosfonatların gastrointestinal sistem üzerindeki yan etkilerini en aza indirmek amacıyla, 2007 yılındaki FDA onayı ile birlikte osteoporozun tedavisinde ve önlenmesinde de kullanımı yaygınlaşmıştır [94]. Her ne kadar osteoporozda uygulanan zoledronik asit dozu, onkolojik amaçlı dozdan 12 kat daha zayıf olsa da [95], tedavi edilen hastalarda

bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu geliştiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır [91, 96-98].

Bifosfonat tedavisi uygulanan hastalarda çene nekrozu görülme sıklığının %1-%21 arasında değiştiği bildirilmiştir [11] ve olguların çoğundan yüksek dozda intravenöz bifosfonat uygulaması sorumlu tutulmuştur [99-103]. İntrevenz ilaçlar arasında ise en fazla zoledronik asitin nekroza yol açtığı bildirilmiştir [10-13].

Bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozunun gelişmesi ve meydana gelmesi ile ilgili pek çok teori ne sürülmüştür [13, 88-90, 104-108]. Bunlardan en çok kabul göreni kemiğin yeniden şekillenmesinde görülen azalmadır [105, 106]. Diş ekim boşluğundaki yara iyileşmesi gibi süreçlerde, kemik hücreleri belli bir denge içerisinde aktif hale gelirler ve kemiğin yeniden şekillenmesini sağlarlar [109]. Bifosfonatların kemik hücreleri arasındaki bu dengeyi etkilediği ve böylece çene kemiklerinin yaralanmaya karşı verdikleri normal fizyolojik yanıtın baskılanmasına neden olduğu dşnlmektedir [110]. Ne yazık ki bu teori, bifosfonata bağlı kemik nekrozlarının hemen hepsinin neden maxillofasiyal bölgede geliştiğini açıklamakta yetersiz kalıyor. Bifosfonatların gastrik mukozal hücreler üzerindeki toksik etkisi [94, 111] göz önünde bulundurularak, oral mukozal hücreler üzerinde de aynı etkiyi gösteriyor olabileceği öne sürülmüş [78, 79] ve bazı araştırmacılar bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu gelişimini, oral mukozal hücrelerin proliferasyonun baskılanmasına bağlamış [77-83]. Bununla birlikte bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozunun patogenezinin henüz tam olarak ortaya konulamamış olması ve bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozunun insanlar üzerinde çalışılmasıyla ilgili sınırlamalardan dolayı

hastalığın daha iyi anlaşılması ve tedavi seçeneklerinin denenmesi için basit ve güvenilir hayvan modelleri geliştirilmesi gerekmiştir [12].

Bifosfonata bağlı çene nekrozunun patogenezini anlamak için araştırmacılar birbirinden farklı hayvan modelleri kullanmışlardır [85, 112-121]. İnsanlar ve hayvanların kemik yapısında görülen farklılıklara [122, 123] ek olarak, çalışma planlanmasının ve edinilen sonuçların değişkenliği dikkate alındığında [114, 119, 120, 124, 125], bifosfonata bağlı çene nekrozu modeli olarak hangi hayvan modelinin kullanılmasının gerektiği konusu tartışmalıdır. Biasotto ve ark [112] kemikte defekt oluşturdukları sıçan modelini kullanmışlardır. Bu modelin en büyük avantajının çok sayıda hayvan kullanılabilmesinin kolaylığı olduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanında, bu modelin bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu patogenezini anlamada güvenilir ve kolay tekrar edilebilir bir model olduğu görüşündedirler [112]. Bu nedenlerle, bu çalışmada sıçan modelinin oluşturulmasına karar verilmiştir. Sıçan modelinin seçilmesinin diğer nedenleri, bu deneklerin üretiminin kolaylığı, deneyde kullanılacak ilaçların kolay temin edilebilir olması ve deneklerin küçük olması nedeniyle kullanılacak ilaç miktarının da az olmasıdır. Dişi memeli hayvanların dönemsel hormonal farklılıklara bağlı olarak stabil olmayan metabolizmaları nedeniyle [33] çalışmamızda yetişkin erkek sıçanlar kullanılmıştır.

Bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozundan en çok nitrojen içeren bir bifosfonat olan zoledronik asit sorumlu tutulduğundan [10-13] bir çalışma grubunda zoledronik asit kullanılmıştır. Etidronate gibi nitrojen içermeyen bifosfonatlara bağlı çene nekrozu vakaları da az olsa da bildirilmiş olduğundan [14-16], ikinci çalışma grubunda da etidronate kullanılmıştır. Böylelikle nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonatların yumuşak

dokudaki damarlanma ve epitel rejenerasyonu üzerine etkilerini de incelemek hedeflenmiştir zira bifosfonatların oral mukoza üzerine etkileriyle ilgili çalışmalar sınırlıdır [77-83].

Bifosfonat kullanımı sonrası kemik nekrozu en sık maksilla ve mandibulada görülürken [10, 13, 126], diğer kemiklerde nekroz bulguları birkaç olgu ile sınırlı kalmıştır [127-129]. Çenelerde bifosfonata bağlı gelişen nekrozlar ise mandibulada, maksillaya göre daha sık görüldüğü bildirilmektedir [130, 131].

Bifosfonat tedavisi devam ederken yapılacak diş çekimi gibi dentoalveolar girişimlerin, bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu riskini anlamlı derecede arttırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir [132-134]. Aynı şekilde, hayvan modellerinde de bifosfonatın diş çekim yarası iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri olduğu belirtilmiştir [110, 112-114, 116-121]. Bu nedenle diş çekimi, osteonekroz oluşumunun amaçlandığı sıçan modellerinde sıklıkla uygulanmaktadır.

Bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu gelişiminin oluşturulmaya çalışıldığı hayvan modellerinde hem mandibula, hem de maksillanın tercih edildiği çalışmalar bulunmaktadır [110, 112-114, 116-121]. Bifosfonata bağlı gelişen çene kemiği nekrozlarının mandibulada, maksillaya göre daha sık görülüyor olması [130, 131] nedeniyle çalışmamızda mandibuladan diş çekimi yapılmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız sıçan modeline benzer modeller kullanılmış çalışmalar literatürde mevcuttur [112, 114, 118-121]. Bu çalışmalar arasında genç sıçanların

kullanıldığı modeller [119, 135] olduğu gibi erişkin sıçanların kullanıldığı modeller [120, 121] de vardır. Bizim çalışmamızda osteonekroz görülme sıklığının ileri yaşlarda arttığı dikkate alınarak erişkin sıçanların kullanılması tercih edilmiştir.

Diş çekim boşlukları, yara iyileşmesine etki edecek herhangi bir ilaç kullanımı ve hastalık olmadığı sürece 1-2 ay içerisinde kemik ile dolarak iyileşmektedir [136, 137]. Bifosfonat ile tetiklenen, bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu sıçan modellerinde, diş çekimi boşluğunun iyileşmesi için beklenen sürenin 2 ile 8 hafta arasında değiştiği görülmektedir [112, 114, 118-121, 135].

Bununla birlikte, bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu ile ilgili çalışmaların bir kısmında nekrozun, deksametazon veya vitamin D eksikliği gibi etkenlerle birlikte de oluşturulabildiği gözlenmiştir [114, 135]. Buna karşın bir çok araştırmacı, bifosfonatın yol açtığı kemik nekrozunun kanserin türü ve şiddetinden ziyade, kullanılan bifosfonat türüne ve dozuna bağlı olduğu düşüncesiyle sağlıklı sıçanlar kullanmışlardır [112, 118, 119]. Ayrıca literatürde, bifosfonatların sıçanlarda kullanımıyla ilgili belirlenmiş bir doz veya verilme yöntemi bulunmamaktadır. Çalışmamızda gruplardan birine haftada 1 kez, 3 hafta boyunca, etkinliği en yüksek kabul edilen, nitrojen içeren bir bifosfonat olan zoledronik asit; diğerine ise nitrojen içermeyen bir bifosfonat olan etidronat uygulanmıştır. Diş çekim yarası ve yumuşak dokudaki iyileşmelere etkilerini görebilmek için işlemden sonra 6 haftalık bekleme süresinin yeterli olacağı düşünülmüştür [120, 121]. Bu çalışmada deksametazon ve vitamin D eksikliği gibi sistemik durumların sonuca olası etkisini bertaraf edebilmek amacıyla sağlıklı sıçanlar kullanılmıştır.

Ağız mukozası ve deri yaralanmalarında benzer bir iyileşme dizisi meydana gelir [48, 49]. Kollajenle dolan yara, 10-14 gün içerisinde epitelyal hücrelerle örtülür ve daha sonra skar oluşumu için uzun bir süreç başlar [51, 52]. Literatürde bifosfonatların yumuşak dokudaki yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Dolayısıyla belirlenmiş bir hayvan modeli, bifosfonat kullanım süresi, bifosfonat kullanım dozu ve bekleme süresinden söz etmek mümkün değil.

Diş çekimi varlığı veya yokluğunda bifosfonata bağlı çene kemiğinin açığa çıkması, pek çok sıçan ve fare çalışmasında ortaya konulmuştur [113-117]. İnsanlarda bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu tanısında kemiğin açığa çıkması ile ilgili belirlenen en az 8 haftalık sürenin [12, 95], deneylerde kullanılan hayvanlara nasıl uyarlanacağı bilinmemektedir. Ayrıca bu çalışmaların her birinde farklı mukoza ve kemik nekrozu tanımlamaları yapılmıştır. Hayvan modellerinde evrelemeye de rastlanmadığından, yapılan bu tanımlamaları kıyaslamak zorlaşmaktadır.

Çalışmamızda zoledronik asit uygulanan gruptaki sıçanların %42'sinde, çekim soketi bölgesinde açığa çıkmış nekrotik kemiğe rastlanmıştır. Histopatolojik olarak incelendiğindeyse nekrotik kemik varlığının ortalama %27 olduğu görülmüştür. Etidronat uygulanan gruba ve kontrol grubuna göre, çekim soketi iyileşmesi anlamlı derecede baskılanmıştır. Çalışmamızın sonuçları zoledronik asit kullanımı sonrasında bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu gelişiminde diş çekiminin yeterli bir risk faktörü oluşturabileceğini gösteren çalışmalarla uyumluluk göstermektedir [118, 138, 139].

Çalışmamızda zoledronik asit uygulanan gruptaki sıçanların çekim soketi çevresindeki damarlanma, kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede baskılanmıştır. Etidronat uygulanan grupta damarlanma, kontrol grubuna göre daha azdır fakat aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Palatinal mukozadaki yara çevresinde de sonuçlar benzerdir. Damarlanmanın en az olduğu grup, zoledronik asit uygulanan gruptur ve damarlanma kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede azdır. Etidronat uygulanan grupta damarlanma, zoledronik asit uygulanan gruba göre fazladır fakat kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede azdır. Pabst ve ark.'nın 50 fare üzerinde yaptığı çalışmada ayrı gruplara nitrojen içeren bifosfonat ve nitrojen içermeyen bifosfonat uygulanmıştır. Damarların genişliği, kapladığı alan ve kanlanması değerlendirildiğinde, nitrojen içeren bifosfonat uygulanan grubun değerleri nitrojen içermeyen bifosfonat uygulanan grup ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede az çıkmıştır. Nitrojen içermeyen bifosfonat uygulanan grubun değerleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede az bulunmuştur [140]. Aguirre ve ark. [141, 142] sıçanlarda, Kobayashi ve ark. [116] farelerde, Allen ve ark. [110] köpeklerde yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçlara ulaşmışlardır.

Çalışmamızda gruplar arasında, çekim soketi çevresindeki epitel varlığı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Aynı şekilde palatinal mukozadaki yara çevresinde de epitel rejenerasyonu tam izlenmiş, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Literatürde bifosfonatların oral epitel hücrelerine etkileriyle ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Allam ve ark.'nın köpeklerde oluşturduğu bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu modelinde, zoledronik asitin oral epitel hücreleri üzerine etkisi olmadığını göstermişlerdir [143]. Benzer olarak Sonis ve ark.'nın sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada,

zoledronik asit uygulaması sonrasında, epitelyal hücre apoptozi görülmediği kaydedilmiştir [114]. Buna karşılık Scheper ve ark. ise zoledronik asidin, oral keratinosit hücreler ve gingival fibroblast hücrelerinde apoptoza neden olduğunu, bunun da oral epitel hücrelerin proliferasyonunu baskıladığı sonucuna varmışlardır [144].

Kemik rezorbsiyonunu sağlayan osteoklastlar, bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu histopatolojisinde en çok üzerinde durulan hücre gruplarından biri olmuştur. Etki mekanizması osteoklastik aktiviteyi baskılamak ve osteoklastların apoptozuna yol açmak olan bifosfonatların [145], osteoklast üzerindeki etkisi ve bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu patofizyolojisindeki rolü, birçok çalışmada incelenmiştir [146]. Bifosfonatların, osteoklastların yapısını bozarak kemik yüzeyinden ayrılmalarına neden olduğu gösterilmiştir [147]. Hata ve ark., kemik yüzeyi ile arasında başka hücrelerin bulunduğu durumlarda osteoklastları, kemik yüzeyi ile temasını kaybetmiş olarak tanımlamışlardır [148]. Franagan ve Chambers, bifosfonatların kemik yüzeyine direkt olarak etki ettiklerini ve osteoklast fonksiyonunu baskıladıklarını göstermişlerdir [149]. Hikita ve ark. sıçanlar üzerinde oluşturdukları bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu modelinde, nitrojen içeren bifosfonatın osteoklast sayısını baskıladığını kaydetmişlerdir [113]. Said ve ark.'ı, sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında, etidronatın osteoklast aktivitesi ve sayısını azalttığı sonucuna varmışlardır [150]. Normal şartlarda osteoklast sayısı, kemik rezorbsiyonunun güvenilir bir belirtisidir [151] ancak Weinstein ve ark., oral bifosfonat kullanan postmenopozal kadınlarda yaptıkları çalışmada, osteoklast sayısının doza bağlı bir artış gösterdiğini ancak buna rağmen bu osteoklastların yaklaşık üçte birinin kemik yüzeyinden ayrılmış, dev osteoklastik hücreler olduğunu göstermişlerdir [152]. Biyokimyasal markerların azalması ve kemik yoğunluğunun artması, normal görünümlü osteoklastların

da fonksiyonunun baskılandığını, kemiği rezorbe edemediğini düşündürmüştür [152]. Çalışmamızda zoledronik asit uygulanan gruptaki osteoklast sayısının, etidronat uygulanan gruba kıyasla anlamlı derecede az olduğu bulunmuştur. Etidronat uygulanan gruptaki osteoklast sayısı ise kontrol grubuna göre anlamlı derecede azdır.

Aseptik veya radyasyona bağlı osteonekroz, çene kemiği dahil vücudun bir çok farklı kemiğinde bildirilmesine rağmen bifosfonata bağlı kemik nekrozu birkaç olgu dışında [127-129] çene kemiği ile sınırlı kalmıştır. Ehrlich ve ark., planktonik organizmlarla kıyaslandığında biyofilmin kemik yüzeyine sıkıca yapışmış, hücreleri arasında sıkı bir iletişim ağı olan, bir matrix içine gömülü ve antimikrobiyal ajanlara dirençli olduğunu belirtmiştir. Uzun sürede iyileşen veya iyileşmeyen kemik enfeksiyonlarının sebebinin de biyofilme bağlanmış ve bunu ‘biyofilm teorisi’ ile açıklamıştır [153]. Sedghizadeh ve ark. da bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozunun biyofilm kaynaklı olduğu sonucuna varmışlardır [154]. Reid de bifosfonata bağlı kemik nekrozunun, birkaç olgu dışında sadece çene kemiklerinde görülmesini biyofilme bağlar çünkü dental girişimlerle biyofilme maruz kalan çene kemiği, bu özelliği ile vücuttaki diğer kemiklerden farklıdır [155]. Oral kavitedeki mikroorganizmaların bifosfonata bağlı çene kemiği nekroz gelişiminde rol oynayabileceği düşünülmüş fakat bu konuyla ilgili çok sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Hansen ve ark., 2007’de yaptıkları çalışmada, bir grup bifosfonat tedavisi gören, bir grup da radyoterapi gören 45 hastayı incelemişlerdir. Hastaların tümünün çene kemiğinde nekroz tespit edilmiştir ve bu alandan biyopsiler alınmıştır. Histopatolojik incelemeler sonrası, tüm kesitlerin nekrotik kemiğe bitişik alanlarında *Actinomyces* kolonileri saptanmıştır [156]. Yine Hansen ve ark., bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu tanısı koydukları 8 hastadan ve radyasyona bağlı çene kemiği nekrozu tanısı koydukları 10

hastadan biyopsi almışlardır. Tüm kesitlerde nekrotik kemiğe bitişik halde Actinomyces kolonileri görülmüştür [157]. Çalışmamızda çekim soketi çevresindeki mikroorganizma sayısı, kontrol grubu ile kıyaslandığında, nitrojen içeren bifosfonat uygulanan grupta anlamlı derecede fazla bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonuçlarının, çalışma planlamasındaki bazı noktalar dikkate alınarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Uygulanan bifosfonat dozları, kanser veya osteoporoz hastalarında kilogram başına verilen miligram dikkate alındığında elde edilen dozdan yüksek bir dozda verilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan sıçanlarda, normalde klinikte hastalarda görüldüğü gibi immün sistemi baskılayacak bir hastalık veya çekilen dişlerde enfeksiyon bulunmamaktaydı. Bu etkenlerin çalışma sonuçlarını nasıl etkileyeceği henüz bilinmemekle birlikte yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

Nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonatın, sıçan çekim yarası ve yumuşak dokusuna etkilerinin incelendiği bu çalışmada bulguların değerlendirilmesi ile şu sonuçlara varılmıştır:

- Literatürde bifosfonatların yumuşak dokudaki yara iyileşmesine etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla çalışmamız bu açıdan bir ilk niteliğindedir.
- Çalışmamızda, her ne kadar bifosfonat uygulanan grubun yumuşak dokusundaki damarlanma, kontrol grubuna göre anlamlı derecede az olsa da yumuşak doku yarası etrafında mikroorganizma kolonizasyonu ve apseye rastlanmamıştır. Deneklerin tümünde epitel rejenerasyonu tamamlanmıştır. Bifosfonat kullanımının yumuşak doku yara iyileşmesi üzerine olumsuz bir etkisi bulunamamıştır.
- Çalışmamızda, nitrojen içeren bifosfonat kullanımının, çekim soketi çevresindeki damarlanmayı azalttığı bulunmuştur. Bu sonuç, bifosfonatların damarlanma üzerine olumsuz etkisi olduğunu bir kez daha göstermiş ve bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozunda damarlanmanın rolü olabileceği düşünülmüştür.
- Çalışmamızda, bifosfonat kullanımının osteoklast sayısını anlamlı derecede azalttığı sonucuna vardık. Bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozunda, osteoklastların da rol oynadığı düşünülmüştür.
- Çalışmamızda, nitrojen içeren bifosfonat kullanımında, çekim soketi ve çevresinde, yumuşak dokudaki bulguların aksine mikroorganizma kolonizasyonunun anlamlı

derecede fazla olduğu görülmüstür. Buna dayanarak, bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozu patogenezinde, mikroorganizmaların rolünün dikkate alınmasının gerektiği dşnlmstr.

- Çalışmamızda, bifosfonat kullanımının çekim soketi etrafındaki epitel rejenerasyonuna olumsuz bir etkisi bulunamamıştır. Buna dayanarak, bifosfonata bağlı çene kemiği nekrozunun oral epitel hücrelerinden kaynaklanıyor olamayacağı ileri sürülebilir.

7. KAYNAKLAR

1. WSS Jee (2011). *Integrated bone tissue physiology: Anatomy and physiology. Bone Mechanics Handbook*. Vol. 2nd ed. Florida: CRC press.
2. Migliorati CA (1956). *Essential of dental surgery and Pathology*. Londra: Churchill Livingston.
3. Larjava H ve ark. (2011). Epithelial integrins with special reference to oral epithelia. *J Dent Res*. **90(12)**: p. 1367-76.
4. Larjava H ve ark. (2011). Exploring scarless healing of oral soft tissues. *J Can Dent Assoc*. **77**: p. b18.
5. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis. *Scientific Advisory Board, Osteoporosis Society of Canada*. CMAJ, 1996, **155(8)**: p. 1113-33.
6. Dolgitsers M ve ark. (2007) Bisphosphonate use in the treatment of Paget's disease of the bone: analysis of claims in a large database. *Manag Care Interface*, **20(2)**: p. 33-40.

7. Marx RE, Cillo JE ve Ulloa JJ (2007) Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*, **65(12)**: p. 2397-410.
8. Ruggiero SL, Fantasia J, Carlson E (2006) Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: Background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **102(4)** (433): p. 41.
9. Russell RG, Rogers MJ (1999) Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone*, **25**: p. 97-106.
10. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V (2005) Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*, **63(11)**: p. 1567-75.
11. Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Mouloupoulos LA, Melakopoulos I, Bozas G, Koutsoukou V, Gika D, Anagnostopoulos A, Papadimitriou C, Terpos E, Dimopoulos MA (2005) Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: Incidence and risk factors. *J Clin Oncol*, **23(34)**: p. 8580-7.
12. Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D, Gagel RF, Gilsanz V, Guise T, Koka S, McCauley LK, McGowan J, McKee MD, Mohla S, Pendrys DG, Raisz LG, Ruggiero SL, Shafer DM, Shum L, Silverman SL, Van Poznak CH, Watts N, Woo SB, Shane E. (2007) American Society for Bone and

Mineral Research Task Force on Osteonecrosis of the Jaw. *J Bone Miner Res*, **22(10)**: p. 1479-91.

13. 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(5)**: p. 527-534.
14. Oizumi T, Funayama H, Yamaguchi K, Yokoyama M, Takahashi H, Yamamoto M, Kuroishi T, Kumamoto H, Sasaki K, Kawamura H, Sugawara S, Endo Y (2010) Inhibition of necrotic actions of nitrogen-containing bisphosphonates (NBPs) and their elimination from bone by etidronate (a non-NBP):A proposal for possible utilization of etidronate as a substitution drug for NBPs. *J Oral Maxillofac Surg*, **68(5)**: p. 1043-54.
15. Yamaguchi K, Oizumi T, Funayama H, Kawamura H, Sugawara S, Endo Y. (2010) Osteonecrosis of the jawbones in 2 osteoporosis patients treated with nitrogen-containing bisphosphonates: Osteonecrosis reduction replacing NBP with non-NBP (etidronate) and rationale. *J Oral Maxillofac Surg*, **68(4)**: p. 889-97.
16. Tanaka Y, Nagai Y, Dohdoh M, Oizumi T, Ohki A, Kuroishi T, Sugawara S, Endo Y (2013) In vitro cytotoxicity of zoledronate (nitrogen-containing bisphosphonate:NBP) and/or etidronate (non-NBP) in tumour cells and periodontal cells. *Arch Oral Biol*, **58(6)**: p. 628-37.

17. Clara M, Maskar Ü (1972) *Histoloji I*. 2.Baskı. İstanbul: Sermet Matbaası.
18. Ten Cate ART (1999) *Oral Histology: Development, Structure and Function*. 5 ed. Toronto: Mosby-Year book.
19. Parsons J (1982) Bone tissue: an overview of structure and function. *Clin Invest Med*, **5(2-3)**: p. 141-6.
20. Saffar, JL, Lasfargues JJ ve Cherruau M (1997) Alveolar bone and the alveolar process: the socket that is never stable. *Periodontol 2000*, **13**: p. 76-90
21. Jan Lindhe, Niklaus P. Lang, Thorkild Karring (2008) *Bone as a Tissue, in Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Blackwell. p. 86-98.
22. Junquera LC, Carneiro J, Kelly RO. (1998) *Temel Histoloji*. İstanbul: Barış Kitabevi.
23. Gregson, CL ve ark. (2013) The high bone mass phenotype is characterised by a combined cortical and trabecular bone phenotype: findings from a pQCT case-control study. *Bone*. **52(1)**: p. 380-8.
24. Marks SC Jr ve Popoff SN (1988) Bone cell biology: the regulation of development, structure, and function in the skeleton. *Am J Anat*, **183(1)**: p. 1-44.

25. Martin RB, Burr DB (1989) *Mechanical adaptation, in Structure, Function and Adaptation Of Compact Bone*. Raven Press: New York.
26. Shamiyeh, SG, Shamiyeh EG ve Chhaya V (2012) Cortical bone thickness and bone mineral density. *J Clin Densitom.* **16(1)**: p. 127-8.
27. Cowin S (2001) *Bone Mechanics Handbook*. CRC Press: Boca, Raton, London, New York, Washington. **p. 1**: 1-68, 2: 1-24.
28. Altundal H ve ark. (2007) Inhibitory effect of alendronate on bone resorption of autogenous free bone grafts in rats. *J Oral Maxillofac Surg*, **65(3)**: p. 508-16.
29. Hollinger JO, Buck CD, Bruder PS. (1999) *Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy*. In "Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Quintessence Publishing.
30. Binderman I (1991) Bone and biologically compatible materials in dentistry. *Curr Opin Dent*, **1(6)**: p. 836-40.
31. Oral O (2000) *L-Dopa'nın (Allojenik greft uygulanan ve uygulanmayan) kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkilerinin deneysel araştırılması*. İstanbul Üniversitesi: İstanbul.

32. Gorski, JP (1998) Is all bone the same? Distinctive distributions and properties of noncollagenous matrix proteins in lamellar and woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms. *Crit Rev Biomed Eng*, **9(2)**: p. 201-223.
33. Egermann M, Goldhahn J ve Schneider E (2005) Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int*, **16 Suppl 2**: p. S129-38.
34. Gehron-Robey P ve Boskey AL (1996) *The biochemistry of bone in Osteoporosis*. Academic Pres.: San Diego.
35. Ozaki A ve ark. (2000) Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats: interaction of fracture hematoma and the periosteum in the initial step of the healing process. *J Orthop Sci*, **5(1)**: p. 64-70.
36. Dedeoğlu RK (2004) *DBM (Demineralize kemik matriksi) ve β -trikalsiyum fosfat'ın deneysel kemik defektlerinde ayrı ayrı ve birlikte kullanıldıklarında iyileşme üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması olarak değerlendirilmesi*. İstanbul Üniversitesi: İstanbul.
37. Özbayrak T (1990) *Diş Hekimliği Cerrahisi*. İstanbul: İstanbul Renkiş Ofset.
38. Archer WH (1985) *Oral and Maxillofacial Surgery*. Philadelphia: W.B. Saunders Publishing.

39. Gustav OK (1961) *Textbook of Oral Surgery*. 2 ed. Saint Louis: The C.V. Mosby Company.
40. Johnson KE (1982) *Histology: Microscopic Anatomy and Embryology*. New York: John Wiley & Sons.
41. Bloom W., Fawcett D.W. (1968) *A Textbook of Histology*. 9 ed. Philadelphia: W.B Saunders Company.
42. Krstić RV (1991) *Human Microscopic Anatomy*. 1 ed. Berlin - Heidelberg: Springer-Verlag.
43. Gartner LP, Hiatt JL (2001) *Color Textbook of Histology*. 2 ed. Philadelphia: W.B Saunders Company.
44. Weiss L, Grepp (1977) *RO Histology*. 2 ed., New York: McGraw-Hill Book Company.
45. Ataoğlu T, Gürsel M (1999) *Periodontoloji*. 3 ed., Konya: Damla Ofset.
46. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W (2003) *Histology A Text And Atlas*. 4 ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

47. Cawson RA, Binnie WH, Speight P, Barrett Wright JM, Thorogood P (1998) *Lucas's Pathology of Tumors of The Oral*. 5 ed., Hong Kong: Churchill Livingstone.
48. Sukotjo C ve ark. (2003) Oral fibroblast expression of wound-inducible transcript 3.0 (wit3.0) accelerates the collagen gel contraction in vitro. *J Biol Chem*, **278(51)**: p. 51527-34.
49. Szpaderska AM, Zuckerman JD ve DiPietro LA (2003) Differential injury responses in oral mucosal and cutaneous wounds. *J Dent Res*, **82(8)**: p. 621-6.
50. Haws MJ ve ark. (1996) The effects of chronic ketorolac tromethamine (toradol) on wound healing. *Ann Plast Surg*, **37(2)**: p. 147-51.
51. Kirsner RS, Eaglstein WH (1993) The wound healing process. *Dermatologic Clinics*, **11**: p. 629-640.
52. Kanzler MH, Gorsulowsky DC ve Swanson NA (1986) Basic mechanisms in the healing cutaneous wound. *J Dermatol Surg Oncol*, **12(11)**: p. 1156-64.
53. Peterson LJ, Ellis E, Hupp JR, Tucker MR (2003) *Wound repair. Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*. 4 ed., Philadelphia: Mosby Company.

54. Desmouliere A (1996) Factors influencing myofibroblast differentiation during wound healing and fibrosis. *Cell Biology International*, **19**: p. 471-476.
55. Cummings CW, Fredrikson, JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, Mosby (1996) *Wound healing. In: Otolaryngology Head and Neck Surgery.* T.M. Brown, Editor. St. Louis. p. 187-196.
56. Kanzler MH, Gorsulowsky DC, Swanson NA (1986) Basic mechanisms in the healing cutaneous wound. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, **12**: p. 1156-1164.
57. Sukotjo C, Lin A, Song K, Ogawa T, Wu B (2003) Oral fibroblast expression of wound-inducible transcript 3.0(wit3.0) accelerates the collagen gel contraction in vitro. *The Journal of Biological Chemistry*, **278(51)**: p. 51527-51534.
58. Brown JP, Josse RG (2002) Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Osteoporosis Society of Canada. *Osteoporosis update*, **1**: p. 19.
59. Hamdy RC (1999) Osteoporosis (Alendronate). *South Med J*, **92**: p. 1118-9.
60. Tonino RP ve ark. (2000) Skeletal benefits of alendronate: 7-year treatment of postmenopausal osteoporotic women. *J Clin Endocrinol&Metab*, **85**: p. 3109-15.

61. Smith R, Russell RG ve Bishop M (1971) Biphosphonates and Paget's disease. *Lancet*, **1**: p. 945-947.
62. Bijvoet O ve ark. (1995) *Discovery and history of the non-medical uses of bisphosphonates.* , B.LJ., Editor. Elsevier Science B.V. : Amsterdam. p. 11-124.
63. Sahni M ve ark. (1993) Bisphosphanetes Act on Bone Resorbtion Trough the Mediation of Osteoblasts. *J Clin Invest*, **91**: p. 2004-2011.
64. Kayaalp O (2009) *Rasyonel Tedavi yönünden Tibbi Farmakoloji.* İstanbul: Pelikan Yayınları.
65. Meunier PJ ve ark. (1999) The Effects of Alendronate on Bone Turnover and Bone Quality. *IJCP Supplement*, **101**: p. 7-14.
66. Fleisch H. (1995) *Bisphosphonates-Preclinical-Clinical.* In Fleisch H (ed). *Bisphosphanates in Bone Diseases. From The Laboratory To The Patient* 2ed. New York: The Parthenon Publishing Group.
67. Fogelman I ve ark (1978) The use of whole-body retention of Tc-99m biphosphonate in the diagnosis of metabolic bone disease. *J. Nucl. Med.* **19**: p. 270-275.

68. Daroszewska A. (2005) Genetics of Paget's disease of bone. *Clin. Sci.* **19**: p. 257-263.
69. Delmas PD ve Meunier PJ (1997) The management of Paget's disease of bone. *N. Engl. J. Med.*, **336**: p. 558-566.
70. Body JJ (2004) Hypercalcemia of malignancy [review]. *Semin. Nephrol.*, **24**: p. 48-54.
71. Paterson AD ve ark. (1983) The use of dichloromethylene diphosphonate for the management of hypercalcaemia in multiple myeloma. *Br. J. Haematol.*, **54**: p. 121-131.
72. Ralston SH ve ark. (1989) Comparison of three bisphosphonates in cancer-associated hypercalcaemia. *Lancet*, **18**: p. 1180-1182.
73. Ross JR ve ark. (2004) A systematic review of the role of bisphosphonates in metastatic disease [review]. *Health Technol. Assess.*, **8**: p. 1-176.
74. Bell R (2005) Efficacy of ibandronate in metastatic bone disease: review of clinical data. *Oncologist*, **10**: p. 8-13.
75. Smith MR (2005) Zoledronic acid to prevent skeletal complications in cancer: corroborating the evidence. *Cancer Treat.*, **31**: p. 19-25.

76. Russell RG (2006) Bisphosphonates From Bench to bedside. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, **1068**: p. 367-401.
77. Wehrhan FHP, Guentsch A, Nkenke E, Stockmann P, Schlegel KA, Neukam FW, Amann K (2011) Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw is linked to suppressed TGF β 1-signaling and increased Galectin-3 expression: a histological study on biopsies. *J Transl Med*, **4(9)**: p. 102.
78. Arai N ve ark (2006) In vitro synergistic effects of zoledronic acid and calcium on viability of human epithelial cells. *Oral Dis*. **19(2)**:200-5.
79. Landesberg R (2008) Inhibition of oral mucosal cell wound healing by bisphosphonates. *J Oral Maxillofac Surg*, **66(5)**: p. 839-47.
80. Donetti E ve ark. (2006) Alendronate impairs epithelial adhesion, differentiation and proliferation in human oral mucosa. *Oral Dis*. Jun 25
81. Kharazmi M, Persson U ve Warfvinge G (2012) Pharmacovigilance of oral bisphosphonates: adverse effects manifesting in the soft tissue of the oral cavity. *J Oral Maxillofac Surg*. **70(12)**: p. 2793-7.
82. Kim RH ve ark. (2011) Bisphosphonates induce senescence in normal human oral keratinocytes. *J Dent Res*. **90(6)**: p. 810-6.

83. Pabst AM (2013) The influence of bisphosphonates on viability, migration, and apoptosis of human oral keratinocytes--in vitro study. *Clin Oral Investig.* **16(1)**: p. 87-93.
84. Berenson JR, Lichtenstein A, Porter L, Dimopoulos MA, Bordoni R, George S, Lipton A, Keller A, Ballaster O, Kovacs MJ, Blacklock HA, Bell R, Simeone J, Reitsma DJ, Heffernan M, Seaman J, Knight RD. (1996) Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. Myeloma Aredia Study Group. *N Engl J Med*, **334(8)**: p. 488-93.
85. Cheng A, Mavrokokki A, Carter G, Stein B, Fazzalari NL, Wilson DF, Goss AN. (2005) The dental implications of bisphosphonates and bone disease. *Aust Dent J*, **50**: p. 4-13.
86. Hortobagyi GN, T.R., Porter L, Blayney D, Lipton A, Sinoff C, Wheeler H, Simeone JF, Seaman J, Knight RD (1996) Efficacy of pamidronate in reducing skeletal complications in patients with breast cancer and lytic bone metastases. Protocol 19 Aredia Breast Cancer Study Group. *N Engl J Med*, **335(24)**: p. 1785-91.
87. Sevcik MA, Luger NM, Mach DB, Sabino MA, Peters CM, Ghilardi JR, Schwei MJ, Röhrich H, De Felipe C, Kuskowski MA, Mantyh PW (2004) Bone cancer

- pain: The effects of the bisphosphonate alendronate on pain, skeletal remodeling, tumor growth and tumor necrosis. *Pain*, **111(1-2)**: p. 169-180.
88. Marx RE, Stern D, editors (2002) *Oral and maxillofacial pathology: A rationale for treatment*. Hanover Park, IL: Quintessence Publishing
89. Marx RE (2003) Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg*, **61**: p. 1115-7.
90. Wang J, Goodger NM, Pogrel MA (2003) Osteonecrosis of the jaws associated with cancer chemotherapy. *J Oral Maxillofac Surg*, **61**: p. 1104-7.
91. Una E (2012) Early appearance of osteonecrosis of the jaw zoledronic acid in a patient with a long history of taking oral bisphosphonates. *BMJ Case Rep*. pii: bcr1120115244. doi: 10.1136/bcr.11.2011.5244,
92. Lacy CF, Armstrong LL, Goldman MP, Lance LL (2003) *Drug Information Handbook*. Lexi-Comp. p. 53-54.
93. Novartis AG (2004) *Zometa: Zoledronic acid injection*. Product information sheet.
94. Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, Cosman F, Lakatos P, Leung PC, Man Z, Mautalen C, Mesenbrink P, Hu H, Caminis J, Tong K, Rosario-Jansen T, Krasnow J, Hue TF, Sellmeyer D, Eriksen EF, Cummings

- SR; HORIZON Pivotal Fracture Trial. (2007) Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*, **356(18)**: p. 1809-22.
95. Advisory Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg*, 2007. 65(3): p. 369-76.
96. Migliorati CA (2009) Low incidence of osteonecrosis of the jaw in postmenopausal women with osteoporosis taking zoledronic acid once yearly. *J Evid Based Dent Pract*, **9(1)**: p. 13-5.
97. Grbic JT, Black DM, Lyles KW, Reid DM, Orwoll E, McClung M, Bucci-Rechtweg C, Su G. (2010) incidence of osteonecrosis of the jaw in patients receiving 5 milligrams of zoledronic acid: Data from the health outcomes and reduced incidence with zoledronic acid once yearly clinical trials program. *J Am Dent Assoc*, **141(11)**: p. 1365-70.
98. Fitzpatrick SG, Stavropoulos MF, Bowers LM, Neuman AN, Hinkson DW, Green JG, Bhattacharyya I, Cohen DM (2012) Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaws in 3 osteoporotic patients with history of oral bisphosphonate use treated with single yearly zoledronic acid infusion. *J Oral Maxillofac Surg*, **70(2)**: p. 325-30.

99. Cartsos VM, Zhu S, Zavras AI (2008) Bisphosphonate use and the risk of adverse jaw outcomes: A medical claims study of 714,217 people. *JADA*, **139(1)**: p. 23-30.
100. Ruggiero SL, Woo SB (2009) Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Dent Clin North Am*, **52(1)**: p. 111-128.
101. Durie BG, Katz M, Crowley J (2005) Osteonecrosis of the jaws and bisphosphonates [Letter]. *N Engl J Med*, **353(1)**: p. 99-102.
102. Migliorati CA (2003) Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. *J Clin Oncol*, **21**: p. 4253-4.
103. Mavrokokki T, Cheng A, Stein B, Goss A (2007) Nature and frequency of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in Australia. *J Oral Maxillofac Surg*, **65**(415-23).
104. Kos M, Junka A, Smutnicka D, Bartoszewicz M, Kurzynowski T, Gluza K (2013) Pamidronate enhances bacterial adhesion to bone hydroxyapatite. Another puzzle in the pathology of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw? *J Oral Maxillofac Surg*, **71(6)**: p. 1010-6.
105. Russell RG, Xia Z, Dunford JE, Oppermann U, Kwaasi A, Hulley PA, Kavanagh KL, Triffitt JT, Lundy MW, Phipps RJ, Barnett BL, Coxon FP, Rogers MJ, Watts

- NB, Ebetino FH. (2007) Bisphosphonates: an update on mechanisms of action and how these relate to clinical efficacy. *Ann N Y Acad Sci*, **1117**: p. 209-257.
106. Russell RG, Watts NB, Ebetino FH, Rogers MJ (2008) Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporos Int*, **19**: p. 6733-75.
107. Helsloot R, van den Berg T, Frank MH, Everts V (2011) Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws; a literature review and a new hypothesis. *IOJR*, 2(e3).
108. Otto S, Hafner S, Mast G, Tischer T, Volkmer E, Schieker M, Stürzenbaum SR, von Tresckow E, Kolk A, Ehrenfeld M, Pautke C. (2010) Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: is pH the missing part in the pathogenesis puzzle? *J Oral Maxillofac Surg*, **68(5)**: p. 1158-61.
109. Harada S, Rodan GA (2003) Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature*, **423(6937)**: p. 349-55.
110. Allen MR ve ark. (2012) Compromised osseous healing of dental extraction sites in zoledronic acid-treated dogs. *Osteoporos Int*. **22(2)**: p. 693-702.
111. Wallace JL ve ark. (1999) N-bisphosphonates cause gastric epithelial injury independent of effects on the microcirculation. *Aliment Pharmacol Ther*, **13(12)**: p. 1675-82.

112. Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, Moimas S, Dore F, Pozzato G, Cavalli F, Zanconati F, Contardo L, Giacca M, Di Lenarda R (2010) A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *J Oral Pathol Med*, **35(5)**: p. 390-396.
113. Hikita H, Miyazawa K, Tabuchi M, Kimura M, Goto S (2009) Bisphosphonate administration prior to teeth extraction delays initial healing of the extraction socket in rats. *J Bone Miner Metab*, **27**: p. 663-672.
114. Sonis ST, Watkins BA, Lyng GD, Lerman MA, Anderson KC (2009) Bony changes in the jaws of treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients. *Oral Oncol*, **45**: p. 164-172.
115. Kikuri T ve ark. (2010) Cell-based immunotherapy with mesenchymal stem cells cures bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *J Bone Miner Res*. **25(7)**: p. 1668-79.
116. Kobayashi ve ark. (2009) Zoledronic acid delays wound healing of the tooth extraction socket, inhibits oral epithelial cell migration, and promotes proliferation and adhesion to hydroxyapatite of oral bacteria, without causing osteonecrosis of the jaw, in mice. *J Bone Miner Metab*. **28(2)**: p. 165-75.

117. Senel FC ve ark. (2010) Jaw bone changes in rats after treatment with zoledronate and pamidronate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **109(3)**: p. 385-91.
118. Maahs MP, Azambuja AA, Campos MM, Salum FG, Cherubini K (2010) Association between bisphosphonates and jaw osteonecrosis: A study in Wistar rats. *Head Neck*, **33(2)**: p. 199-207.
119. Erdem MA ve ark. (2011) Extraction socket healing in rats treated with bisphosphonate: animal model for bisphosphonate related osteonecrosis of jaws in multiple myeloma patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* **16(7)**: p. e879-83.
120. Vasconcelos AC ve ark. (2012) Comparison of effects of clodronate and zoledronic acid on the repair of maxilla surgical wounds - histomorphometric, receptor activator of nuclear factor-kB ligand, osteoprotegerin, von Willebrand factor, and caspase-3 evaluation. *J Oral Pathol Med.* **41(9)**: p. 702-12.
121. Marino KL ve ark. (2012) Development of a rat model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *J Oral Implantol.* **38 Spec No**: p. 511-8.
122. Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA (2008) The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comp Med*, **58**: p. 424-30.

123. Recker RR, Kimmel DB, Dempster D, Weinstein RS, Wronski TJ, Burr DB (2011) Issues in modern bone histomorphometry. *Bone*, **49**: p. 955-64.
124. Lopez-Jornet P ve ark. (2010) An experimental study of bisphosphonate-induced jaws osteonecrosis in Sprague-Dawley rats. *J Oral Pathol Med.* **39(9)**: p. 697-702.
125. Bi Y ve ark. (2010) Bisphosphonates cause osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *Am J Pathol.* **177(1)**: p. 280-90.
126. Melo MD ve Obeid G (2005) Osteonecrosis of the jaws in patients with a history of receiving bisphosphonate therapy: strategies for prevention and early recognition. *J Am Dent Assoc*, **136(12)**: p. 1675-81.
127. Polizzotto MN, Cousins V, Schwarer A (2006) Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the auditory canal. *Br J Haematol*, **132(1)**: p. 114.
128. Kharazmi M ve ark. (2013) Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the auditory canal. *Br J Oral Maxillofac Surg.*
129. Froelich, K ve ark. (2011) Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the external ear canal: a retrospective study. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* **268(8)**: p. 1219-25.

130. Abu-Id MH ve ark. (2008) "Bis-phossy jaws" - high and low risk factors for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Craniomaxillofac Surg*, **36(2)**: p. 95-103.
131. Lehrer S ve ark. (2009) Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg*, **67(1)**: p. 159-61.
132. Dimopoulos MA ve ark. (2009) Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid. *Ann Oncol*, **20(1)**: p. 117-20.
133. Badros A ve ark. (2006) Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. *J Clin Oncol*, **24(6)**: p. 945-52.
134. Vahtsevanos K ve ark. (2009) Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Clin Oncol*, **27(32)**: p. 5356-62.
135. Hokugo A ve ark. (2010) Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res*. **25(6)**: p. 1337-49.

136. Amler MH, Johnson PL ve Salman I (1960) Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. *J Am Dent Assoc*, **61**: p. 32-44.
137. Evian CI ve ark. (1982) The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. *J Periodontol*, **53(2)**: p. 81-5.
138. Cavanna L ve ark. (2007) Osteonecrosis of the jaw. A newly emerging site-specific osseous pathology in patients with cancer treated with bisphosphonates. Report of five cases and review of the literature. *Eur J Intern Med*, **18(5)**: p. 417-22.
139. Migliorati CA ve ark. (2005) Bisphosphonate-associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bone: an emerging oral complication of supportive cancer therapy. *Cancer*, **104(1)**: p. 83-93.
140. Pabst AM, Ziebart T, Ackermann M, Konerding MA, Walter C (2013) Bisphosphonates' antiangiogenic potency in the development of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: influence on microvessel sprouting in an in vivo 3D Matrigel assay. *Clin Oral Investig*. [Epub ahead of print].
141. Aguirre JI, Altman MK, Franz SE, Bassit ACF, Wronski TJ (2008) Alendronate transiently impairs removal of alveolar bone and healing of the root socket after tooth extraction in rats. *J Bone Miner Res*, **23(76)**.

142. Aguirre JI, Vanegas SM, Altman MK, Franz SE, Leal ME, Wronski TJ (2007) Alendronate impairs angiogenesis and bone formation during the early stages of bone healing in an animal model for osteonecrosis of the jaw. *J Bone Miner Res*, 22(74).
143. Allam E ve ark. (2011) In vivo effects of zoledronic acid on oral mucosal epithelial cells. *Oral Dis*. **17(3)**: p. 291-7.
144. Scheper MA ve ark. (2009) Effect of zoledronic acid on oral fibroblasts and epithelial cells: a potential mechanism of bisphosphonate-associated osteonecrosis. *Br J Haematol*, **144(5)**: p. 667-76.
145. Rogers MJ (2004) From molds and macrophages to mevalonate: a decade of progress in understanding the molecular mode of action of bisphosphonates. *Calcif Tissue Int*, **75(6)**: p. 451-61.
146. Andrew ER (2007) *Bone-the tissue: Organic and Inorganic Component., in Bone histology for pathologist*. S. EM, Editor. Williams and Wilkins: Philadelphia. p. 84-85.
147. Rogers MJ, Crockett JC, Coxon FP, Mönkönnen J (2011) Biochemical and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Bone*, **49**: p. 34-41.

148. Hata K ve ark. (1992) Trypsinized osteoclast-like multinucleated cells formed in rat bone marrow cultures efficiently form resorption lacunae on dentine. *Bone*, **13(2)**: p. 139-46.
149. Franagan AM, Chambers TJ (1989) Dichlorometthylenbisphosphonate (C12MBP) inhibits bone resorption through injury to osteoclasts that resorb C12MBP coated bone. *Bone Miner*, **6**: p. 33-43.
150. Said F ve ark. (2012) The effect of etidronate on the periodontium of ovariectomized rats. *J Periodontol*. **83(8)**: p. 1063-8.
151. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR (1987) Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols and units. Reports of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res*, **2**: p. 595-610.
152. Weinstein RS, Roberson PK, and Manolagas SC (2009) Giant osteoclast formation and long-term oral bisphosphonate therapy. *N Engl J Med*, **360(1)**: p. 53-62.
153. Ehrlich GD ve ark. (2005) Engineering approaches for the detection and control of orthopaedic biofilm infections. *Clin Orthop Relat Res*, (**437**): p. 59-66.

154. Sedghizadeh PP ve ark. (2008) Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy. *J Oral Maxillofac Surg*, **66(4)**: p. 767-75.
155. Reid IR (2009) Osteonecrosis of the jaw: who gets it, and why? *Bone*, **44(1)**: p. 4-10.
156. Hansen T ve ark. (2007) Actinomycosis of the jaws--histopathological study of 45 patients shows significant involvement in bisphosphonate-associated osteonecrosis and infected osteoradionecrosis. *Virchows Arch*, **451(6)**: p. 1009-17.
157. Hansen T ve ark. (2006) Osteonecrosis of the jaws in patients treated with bisphosphonates - histomorphologic analysis in comparison with infected osteoradionecrosis. *J Oral Pathol Med*, **35(3)**: p. 155-60.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2012/ 88

31/05/2012

Sn: Prof. Dr. Korkud DEMİREL
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Karar No : 2012/ 88
Başvuru : 20.04.2012

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen Dok.Öğr.Fatih VURAL'a ait "Nitrojen İçeren Ve İçermeyen Bisfosfonat Kullanımının Saçan Çekim Yarası Ve Yumuşak Doku İyileşmesine Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Saçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	24
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	2012/ Haziran / 2012 Eylül	

Prof. Dr. Alev AKIĞAN KAYMAZ
İ.Ü.HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
İ.Ü.HADYEK Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Doç. Dr. Uluk ÇAKATAY
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard. Doç. Dr. Altan ARMUTAK
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Mak. Yük. Müh. Dr. Burak OLGUN
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	FATİH	Soyadı	VURAL
Doğ.Yeri	ANTALYA	Doğ.Tar.	19.06.1984
Uyruğu	TC	TC Kim No	18853028140
Email	salikcelal@gmail.com	Tel	0505-452-70-05

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniv. Diş Hekimliği Fakültesi	2007
Lisans		
Lise	Metin Nuran Çakallıklı Anadolu Lisesi	2002
Ortaokul	Metin Nuran Çakallıklı Anadolu Lisesi	1999
İlkokul	Barbaros İlkokulu	1995