

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**ÇENELERİN İLACA BAĞLI OSTEONEKROZUNDA
EMDOGAINİN ÖNLEYİCİ VE TEDAVİ EDİCİ
ETKİNLİĞİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Cemil EREN**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Canay YILMAZ ASAN**

Diş Hekimliği Uzmanlık Tezi

**Mayıs 2023
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**ÇENELERİN İLACA BAĞLI OSTEONEKROZUNDA
EMDOGAINİN ÖNLEYİCİ VE TEDAVİ EDİCİ
ETKİNLİĞİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Cemil EREN**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Canay YILMAZ ASAN**

Diş Hekimliği Uzmanlık Tezi

**Bu çalışma; TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek Programı kapsamında 321S185
Numaralı proje kodu ve Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü (BAP) tarafından TDH-2022-11679 proje kodlu ile
desteklenmiştir.**

**Mayıs 2023
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Cemil EREN

İmza

YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Çenelerin İlaça Bağlı Osteonekrozunda Emdogainin Önleyici ve Tedavi Edici Etkinliğinin Deneyisel Olarak Araştırılması” adlı **Uzmanlık Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi ‘ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Dt. Cemil EREN

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Canay YILMAZ ASAN

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

Doç. Dr. Ahmet Emin Demirbaş

Dr. Öğr. Üyesi Canay YILMAZ ASAN danışmanlığında **Dt. Cemil EREN** tarafından hazırlanan “**Çenelerin İlaça Bağlı Osteonekrozunda Emdogainin Önleyici ve Tedavi Edici Etkinliğinin Deneysel Olarak Araştırılması**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi **Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı** Anabilim Dalı’nda **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

...../...../2023

JÜRİ

İmza

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Canay Yılmaz Asan
(Erciyes Ün. Diş Hek. Fak. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD)

Üye: Prof. Dr. Kıvanç Bektaş Kayhan
(İstanbul Ün. Diş Hek. Fak. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD)

Üye: Doç. Dr. Ahmet Emin Demirbaş
(Erciyes Ün. Diş Hek. Fak. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD)

Üye: Doç. Dr. Emrah Soylu
(Erciyes Ün. Diş Hek. Fak. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD)

ONAY

Bu tezin kabulü Fakülte Anabilim Dalı’nın tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

Doç. Dr. Ahmet Emin Demirbaş

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde üstün bir sabır ve özveri ile bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübelerini esirgmeden beni yetiştiren, meslek etiğini örnek aldığım ve asistanı olmaktan gurur duyduğum değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Canay Yılmaz Asan'a,

Engin bilgi ve tecrübesi ile, mesleki becerilerime önemli katkısı bulunan, birlikte çalışmaktan dolayı büyük bir onur duyduğum ve mesleki anlamda örnek aldığım, saygıdeğer hocam Doç. Dr. Ahmet Emin Demirbaş'a

Mesleki bilgi ve tecrübelerinden yararlanma imkânı bulduğum, eğitimime katkıda bulunan değerli hocam Doç. Dr. Emrah Soylu'ya

Birçok vakamı ilk olarak kendisiyle yapma şansına eriştiğim, çok iyi bir öğretici ve ağabey olduğuna inandığım ve her konuda desteğini esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Suheyb Bilge'ye

Bilgi ve tecrübelerini her fırsatta paylaşan, yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Cihan Topan'a

Uzmanlık eğitimime başladığım günden itibaren öğrendiğim her şeyde büyük pay sahibi olan, Kayseri'deki ailem, kıdemli asistanım, değerli hocam, ağabeyim Dr. Öğr. Görevlisi Yusuf Nuri Kaba'ya

Bilgi ve tecrübelerini paylaşan, yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Dilek Günay Canpolat'a, Dr. Öğr. Üyesi Fatma Doğruel'e ve Dr. Öğr. Üyesi Seher Orbay Yaşlı'ya

Her zaman desteklerini yanımda hissettiğim, gerçek dostlarım Dt. Musab Süleyman Kılavuz ve Dt. Bahadır Gökberk Yaşar'a

Tezimin deney aşamasında yanımda olan ve yardım eden, kısa sürede çok sevdiğim değerli arkadaşım, dostum Dt. Berkan Aktaş'a

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma ve Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı çalışanlarına,

Hayatımın her anında olduğu gibi, uzmanlık eğitimim boyunca da sabrını, sevgisini ve desteğini esirgemeyen sevgilim, eşim Özlem'e

Evlatları olmaktan gurur duyduğum, her zaman arkamda olan annem Aysel ve babam Murat'a, ablalarım Emel ve Duygu'ya çok teşekkür ederim.

Cemil Eren

Mayıs, 2023

Kayseri

ÇENELERİN İLACA BAĞLI OSTEONEKROZUNDA EMDOGAİNİN ÖNLEYİCİ VE TEDAVİ EDİCİ ETKİNLİĞİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI

Cemil EREN

Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi, Mayıs 2023
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Canay YILMAZ ASAN

ÖZET

Amaç: Anti-rezorbif ve anti-anjiojenik ilaçlar, kemik metabolizması bozukluğu ile ilişkili birçok hastalıkta veya kanser hastalarında kullanılmaktadır. Bu tür ilaçların kullanımı sonrası gelişen ciddi yan etkilerden biri ise, medikal ilaçlarla ilişkili çene osteonekrozu (MRONJ)dur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda MRONJ tedavisi ile ilgili birçok yöntem denenmiş ancak tamamen etkili ve güvenli bir tedavi protokolü oluşturulamamıştır. Bu çalışmanın amacı, bifosfonat uygulanan ratlarda diş çekimi sonrasında çene kemiklerinde osteonekroz oluşumunu önleme ve oluşan osteonekrozun tedavisinde emdogainin (EMD) etkinliğinin deneysel olarak araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada Wistar Albino ırkı 75 adet dişi rat rastgele 5 gruba ayrıldı. İlk üç grupta, EMD'nin MRONJ üzerindeki koruyucu etkinliği değerlendirilirken; 4. Ve 5. Gruplarda ise tedavi edici etkinliği değerlendirildi. Kontrol grubunu oluşturan 1. gruptaki ratlarda (n=15), alt çene sol birinci ve ikinci molar dişleri çekildikten sonra bölgeye serum fizyolojik (SF) emdirilmiş kolajen sünger yerleştirildi ve sütüre edildi. 2. gruptaki ratlara (n=15) ise, 8 hafta boyunca haftada 3 kez intraperitoneal zoledronik asit(ZA) uygulandıktan sonra diş çekimleri yapılırken, 3. gruptaki ratlara (n=15) ZA uygulamasını takiben, diş çekimi yapıldı ve çekim soketlerine 0,2 mg EMD emdirilmiş kolajen sünger yerleştirildi. 4. Ve 5. Gruplarda ise ZA uygulamasını takiben, diş çekimi yapıldı ve 8 hafta sonunda çekim bölgelerine cerrahi debridman uygulandı. Grup 4 de debridman bölgesine SF emdirilmiş kolajen sünger yerleştirilirken, Grup 5'de EMD+ kolajen sünger uygulandı. 8 hafta iyileşme süresi beklendikten sonra tüm hayvanlar

sakrifiye edilerek çekim bölgelerindeki iyileşme klinik , radyolojik (mikro-bt) ve immünohistokimyasal olarak değerlendirildi.

Bulgular: Çekim soketlerindeki mukozal kapanma makroskopik olarak değerlendirildiğinde, EMD uygulanan gruplarda mukozal kapanma kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek idi ($p= 0.02$). Yapılan histomorfometrik analizlerde, EMD uygulanan 3. Ve 5. Gruplarda, yeni kemik oluşumun kontrol gruplarına göre daha belirgin olduğu gözlemlendi. Ayrıca, IL-17 seviyesinin çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı gözlenirken, OPG ve VEGF ekspresyon seviyelerinin çalışma gruplarında anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi. Yapılan mikro-Bt analizlerinde de EMD uygulanan deneklerde sert doku iyileşmesinin daha iyi olduğu ve yeni kemik oluşumunun daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Sonuç: In-vivo olarak oluşturulan MRONJ modelinde, çekim soketlerine lokal emdogain uygulaması, yumuşak ve sert doku rejenerasyonunu arttırarak, MRONJ'un hem önlenmesinde hem de tedavisinde olumlu etkilere sahiptir. Bununla beraber, EMD'nin MRONJ üzerindeki etkinliğinin kesin olarak değerlendirilmesi için, ileri klinik araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: MRONJ, Osteonekroz, Emdogain

**EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF THE PREVENTIVE AND
THERAPEUTIC EFFICACY OF EMDOGAIN IN MEDICATION-RELATED
OSTEONECROSIS OF THE JAWS**

Cemil EREN

**Erciyes University Faculty of Dentistry,
Oral, Dental and Maxillofacial Surgery Department
Dentistry Specialization Thesis, May 2023
Advisor: Dr. Instructor Member Canay YILMAZ ASAN**

ABSTRACT

Objective: Anti-resorptive and anti-angiogenic drugs are used in many diseases associated with bone metabolism disorders or in cancer patients. One of the serious side effects that can occur after the use of such drugs is medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). In recent years, several methods have been attempted for the treatment of MRONJ, but a completely effective and safe treatment protocol has not been established. The aim of this study is to investigate experimentally the prevention of osteonecrosis formation in the jawbones of rats treated with bisphosphonates after tooth extraction, and to evaluate the efficacy of emdogain (EMD) in the treatment of established osteonecrosis.

Materials and Methods: In this study, 75 female Wistar Albino rats were randomly divided into 5 groups. Groups 1, 2, and 3 were used to evaluate the protective efficacy of EMD on MRONJ, while Groups 4 and 5 were used to evaluate the therapeutic efficacy. The control group (Group 1, n=15) consisted of rats in which the lower left first and second molars were extracted, and a collagen sponge soaked in saline solution (SF) was placed in the extraction socket and sutured. In Group 2 (n=15), rats received intraperitoneal zoledronic acid three times a week for 8 weeks before tooth extraction. In Group 3 (n=15), after zoledronic acid administration, tooth extraction was performed, and collagen sponges soaked in 0.2 mg EMD were placed in the extraction sockets. In Groups 4 and 5, after zoledronic acid administration, tooth extraction was performed, and after an 8-week healing period, surgical debridement was performed in the extraction sites. In

Group 4, a collagen sponge soaked in saline solution was placed in the debridement area, while in Group 5, EMD + collagen sponge was applied. After an 8-week healing period, all animals were sacrificed, and the healing in the extraction sites was evaluated clinically, radiologically (micro-CT), and immunohistochemically.

Results: When the mucosal closure in the extraction sockets was evaluated macroscopically, it was significantly higher in the groups treated with EMD compared to the control groups ($p= 0.02$). Histomorphometric analysis revealed that new bone formation was more prominent in the EMD-treated Groups 3 and 5 compared to the control groups. Additionally, a significant decrease in IL-17 levels and a significant increase in OPG and VEGF expression levels were observed in the study groups compared to the control group. Micro-CT analysis demonstrated better healing of the hard tissues and higher levels of new bone formation in the animals treated with EMD.

Conclusion: In the in vivo MRONJ model created, local application of emdogain to the extraction sockets has positive effects on both the prevention and treatment of MRONJ by enhancing soft and hard tissue regeneration. However, further clinical research is needed to precisely evaluate the efficacy of EMD on MRONJ.

Key Words: Bisphosphonate, Osteonecrosis, Emdogain

KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
µg	: Mikrogram
µm	: Mikro metre
AAOMS	: Amerikan Ağız Diş ve Çene Cerrahları Derneği
ADA	: Amerikan Diş Hekimleri Birliği
ALP	: Alkalen fosfataz
AMBN	: Ameloblastin
ANG	: Anjiopietin
ATMN	: Amelotin
BAP	: Bilimsel Araştırmalar Projeleri
BMP	: Kemik morfojenik protein
BP	: Bifosfanatlar
BP	: Bifosfonat
BRONJ	: Çenenin bisfosfonata bağlı osteonekrozu
BSP	: Sialoprotein
BT	: Bilgisayarlı tomografi
BV	: Kemik doku hacmi
BV/TV	: Percent Bone Volume
Cc	: Cubic Centimeter
COL1	: Tip 1 kolajen
CSF-1R	: Koloni-stimüle edici faktör tip 1 reseptörü
CTX	: Serum C-terminal telopeptid
DDL T	: Ozon tedavisi ve düşük doz lazer tedavisi
DEKAM	: Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden
DICOM	: Digital Imaging abd Communication in Medicine
EMD	: Emdogain
EMD	: Enamel Matriks Türevi
EMP	: Enamel matriks proteinleri
ENAM	: Enamelin
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
Gr	: Gram

HA	: Hidroksiapatit
HBO	: Hiperbarik oksijen tedavisi
HCL	: Hidroklorik asit
HMVEC	: İnsan mikrovasküler endotel hücreleri
IBD	: İnflamatuvar barsak hastalığı
Ig	: Immunglobulin
IGF- 1	: İnsulin benzeri büyüme faktörü
IL	: İnterlökin
ip	: İntraperitoneal
iv	: İntravenöz yolla
kg	: Kilogram
KIBT	: Konik ışınlı bilgisayarlı tomografiler
LRAP	: Leucine-rich amelogenin peptit
MC3T3-E1	: Fare preosteoblastik hücre dizisi
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein 1
mg	: Miligram
mikro-BT	: Mikro Bilgisayarlı Tomografi
ml	: Mililitre
mmp-20	: Matriks metallo proteinaz
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRONJ	: Medikal İlaçlarla İlişkili Çene Osteonekrozu
mTOR	: Mammalian target of rapamycin
NTX	: N-terminal telopeptid
OCN	: Osteokalsin
ODAM	: Apin
OPG	: Osteoprotegerin
OPN	: Osteopontin
OSF	: Osteoblast Stimüle Edici Faktör
PDGF	: Trombosit türevli büyüme faktörünün
PDGFR	: Platelet türevli büyüme faktörü reseptörü(
PDL	: Periodontal ligament
PGA	: Propilen glikol aljinat
Po.tot	: Total porozite

PRP	: Trombositten zengin plazma
PTH	: Paratiroid hormon
PTH	: Paratiroid hormonu
RA	: Romatoid artrit
RANK	: Nükleer Faktör Kappa-B Aktivasyon Reseptörü
RANKL	: Nükleer Faktör Kappa-B Aktivasyon Reseptörü Ligandı
RANKL	: Nükleer faktör κ B ligandının
Saos-2	: İnsan osteoblastik hücrelerinin
SF	: Serum fizyolojik
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
Tb. N	: Trabekül sayısı number
Tb. Sp	: Trabeküler ayrılma
Tb. Th	: Trabeküler kalınlık Thickness
TGF- β	: Transforming growth faktör beta
TH	: T helper
TIFF	: Tagged Image File Format
TNF- α	: Tümör nekroz faktörü-alfa
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TRAP	: Tyrosine-rich amelogenin peptit
TT	: Hedefe yönelik tedavi
Tübitak	: Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
TV	: Yumuşak doku hacmi
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGFR	: Vasküler endotelyal büyüme faktör reseptörü

İÇİNDEKİLER

ÇENELERİN İLACA BAĞLI OSTEONEKROZUNDA EMDOGAİNİN ÖNLEYİCİ VE TEDAVİ EDİCİ ETKİNLİĞİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	ii
ONAY	iii
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	viii
KISALTMALAR	x
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
TABLO LİSTESİ	xix
GRAFİK LİSTESİ	xx
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Kemik Dokusu	6
2.2. Kemik Matriksi	6
2.2.1. Organik Matriks	6
2.2.2. İnorganik Matriks.....	7
2.3. Kemik Dokusu Tipleri.....	7
2.3.1. Primer Kemik Doku	7
2.3.2. Sekonder Kemik Doku.....	7
2.3.3. Kortikal Kemik	7
2.3.4. Spongioz Kemik.....	8
2.4. Kemik Hücreleri.....	8
2.4.1. Osteoblastlar.....	8
2.4.2. Periosteal Hücreler	9
2.4.3. Osteositler	9
2.4.4. Osteoklastlar.....	10
2.5. Kemik Apozisyon ve Rezorbsiyon Döngüsü	11
2.6. Alveolar Kemik.....	12

2.7. Kemik İyileşmesi	13
2.7.1. Enflamasyon Evresi	13
2.7.2. Onarım Evresi	13
2.7.3. Yeniden Şekillenme Evresi	14
2.8. Diş Çekim Soketinin İyileşmesi.....	14
2.9. Osteonekroz	15
2.10. Medikal İlaçlarla İlişkili Çene Osteonekrozu (MRONJ)	16
2.11. Bifosfonatlar	16
2.11.1. Bifosfonatların Tarihçesi.....	16
2.11.2. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı.....	17
2.11.3. Zoledronik Asit	19
2.11.4. Bifosfonatların Farmakolojik Özellikleri	19
2.11.5. Bifosfonatların Etki Mekanizması	20
2.11.6. Zoledronik Asitin Etki Mekanizması	20
2.11.7. Bifosfonatların Klinik Kullanım Alanları	21
2.11.8. Bifosfonatların Sistemik Yan Etkileri.....	21
2.12. RANK Ligand İnhibitörleri (Denosumab)	22
2.13. Antianjiyogenik İlaçlar.....	24
2.13.1. Bevasizumab	24
2.14. Tirozin Kinaz İnhibitörleri	24
2.14.1. Sunitinib	25
2.15. Tümör Nekroz Faktörü Alfa(TNF- α) İnhibitörleri.....	26
2.16. MRONJ Gelişimine Yol Açabilen Diğer Ajanlar	26
2.17. MRONJ Tanısı ve Görülme Sıklığı	27
2.17.1. Osteoporoz hasta popülasyonunda MRONJ görülme sıklığı	28
2.17.2. Kanser hasta popülasyonunda MRONJ görülme sıklığı	29
2.18. Mronj Gelişiminde Rol Alan Risk Faktörleri.....	29
2.18.1. Diş Çekimi ve Travma	29
2.18.2. Periodontal Hastalık	29
2.18.3. Cinsiyet	30
2.18.4. Sistemik Hastalıklar	30
2.18.5. Antirezorptif İlaçlarla Tedavi Süresi.....	30
2.18.6. Kullanılan Bifosfonatın Tipi	31

2.19. MRONJ Fizyopatolojisi	31
2.19.1. Birinci Hipotez: Kemiğin yeniden şekillenmesinin engellenmesi	31
2.19.2. İkinci Hipotez: İnflamasyon ve Enfeksiyon.....	32
2.19.3. Üçüncü Hipotez: Anjiyogenez İnhibisyonu	33
2.19.4. Dördüncü Hipotez: Yumuşak Doku Toksisitesi	33
2.19.5. Beşinci Hipotez: Doğuştan veya Kazanılmış Bağışıklık Bozukluğu.....	34
2.20. MRONJ Klinik Bulguları ve Evreleri	34
2.20.1. Risk Grubu	35
2.20.2. Evre 0	35
2.20.3. Evre 1	36
2.20.4. Evre 2	36
2.20.5. Evre 3	36
2.21. MRONJ Hastalarında Görüntüleme.....	37
2.22. MRONJ Biyobelirteçleri	38
2.23. MRONJ Önlenmesi.....	39
2.23.1. Dental Tarama.....	39
2.23.2. İlaç Tatili	39
2.23.3. Lokal ve Sistemik Antimikrobiyal Kullanımı.....	41
2.24. MRONJ Tedavisi	41
2.24.1. Risk Grubu İçin Tedavi Yaklaşımı	41
2.24.2. Evre-0 Grubu İçin Tedavi Yaklaşımı.....	41
2.24.3. Evre-1 Grubu İçin Tedavi Yaklaşımı.....	42
2.24.4.Evre-2 Grubu İçin Tedavi Yaklaşımı.....	42
2.24.5. Evre-3 Grubu İçin Tedavi Yaklaşımı.....	42
2.25. MRONJ Hastalarında Antibakteriyel Tedavide Dikkat Edilmesi Gereken Unsurlar.....	43
2.26. MRONJ Tedavisinde Medikal / Cerrahi Tedaviye Destek Tedaviler.....	43
2.27. Enamel Matriks Proteinleri	44
2.27.1. Emdogain	45
2.27.2. Emdogain Kullanım Güvenliği	46
2.27.3. Emdogainin Hücresel Etkileri.....	46
2.27.4. Emdogain ve Yara iyileşmesi	48
2.27.5. Emdogainin Bakteriler Üzerindeki Etkileri	49

2.28. Emilebilir Kolajen Sünger	49
2.29. MRONJ ve Emdogain	50
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	54
3.1. Örnek Sayısının Belirlenmesi	54
3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	54
3.3. Çalışma Grupları	55
3.4. İlaç Uygulamaları ve Cerrahi Prosedür	57
3.4.1. Ratlara Bifosfonat Uygulanması	57
3.4.2. Ratların Diş Çekimlerinin Yapılması ve Emdogain uygulaması	58
3.4.3. Ratların Sakrifikasyonu ve Örneklerin Hazırlanması	64
3.5. Çalışmada Değerlendirilen Değişkenler	64
3.5.1. Çekim Soketlerinde Yumuşak Doku İyileşmesinin Klinik Olarak Değerlendirilmesi	64
3.6. Radyolojik Analiz	65
3.6.1. Mikro-Bilgisayarlı Tomografi İncelemesi	65
3.6.2. Mikro-BT Görüntülerinin Analizi.....	66
3.8. İmmünohistokimyasal Analizler	68
3.9. İstatiksel Analiz.....	69
4. BULGULAR	70
4.1. Yumuşak Doku İyileşmesinin Klinik Olarak Değerlendirilmesi	70
4.1.1. Emdogainin MRONJ Gelişimini Önleyici Etkinliğinin Değerlendirildiği Gruplarda Yumuşak Doku İyileşmesinin Klinik Olarak Değerlendirilmesi.....	70
4.1.2. Emdogainin MRONJ Üzerindeki Tedavi Edici Etkinliğinin Değerlendirildiği Gruplarda Yumuşak Doku İyileşmesinin Klinik Olarak Değerlendirilmesi.....	73
4.2. Radyolojik Bulgular	75
4.2.1. Emdogainin MRONJ Gelişimini Önleyici Etkinliğinin Değerlendiriliği Gruplarda Radyolojik İnceleme Bulguları;	75
4.2.3. Emdogainin MRONJ Üzerindeki Tedavi Edici Etkinliğinin Değerlendirildiği Gruplarda Radyolojik İnceleme Bulguları	76
4.3. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular	78
5. TARTIŞMA	85
6. SONUÇLAR	96
KAYNAKÇA	98

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Osteoblast oluşumu	9
Şekil 2. Osteoklastların oluşumu	11
Şekil 3. Alveolar kemiğin fizyolojik yeniden şekillenme döngüsü	14
Şekil 4. Bifosfonatlar ve pirofosfatların kimyasal yapıları	17
Şekil 5. Zoledronik asit ile denosumabın etki mekanizması karşılaştırması	23
Şekil 6. Kemik homeostazis fizyolojisi ve kemik döngüsü ile ilaç etkileşimlerinin mekanizmaları	25
Şekil 7. Emdogain uygulamasını takiben, IL-1b ve IL-8 üretiminde azalma ve PGE ₂ seviyesinde artış gözlenir	52
Şekil 8. Ratlara uygulanan bifosfonat grubu ilaç	58
Şekil 9. Ratlara intraperitoneal yoldan zoledronik asitin uygulanması	58
Şekil 10. Genel Anestezi için kullanılan ilaçlar	59
Şekil 11. Ratlar için özel hazırlanmış ekartör ile deney hayvanlarının sabitlenmesi ..	60
Şekil 12. Dişin ince uçlu sond ile lükse edilerek çekiminin gerçekleştirilmesi	60
Şekil 13. Çekilmiş Dişlerin Görüntüsü	61
Şekil 14. Diş çekimleri sonrası rond frez ile çekim soketinde defekt oluşturulması ..	61
Şekil 15. Çekim soketlerindeki defektin görüntüsü	62
Şekil 16. Emdogain emdirilmiş kolajen sünger	62
Şekil 17. Çekim soketine emdogain uygulanması	62
Şekil 18. Çekim soketine 5,0 vicryl ile sütür atılması	63
Şekil 19. Grup 4(osteonekroz) osteonekroz bölgesinin debridmanı	63
Şekil 20. Grup 4(osteonekroz) debridman sonrası osteonekroz alanın görüntüsü daire içine alınmıştır	63
Şekil 21. Ratlara uygulanan işlemler ve Deney akış şeması	64
Şekil 22. Skyscan 1272 Micro-Bilgisayarlı Tomografi cihazı	65
Şekil 23. NRecon v.1.6.3 programında görüntülerin hazırlanması	66
Şekil 24. Konumsal hataların giderilmesi	67
Şekil 25. İncelenecek alanın sınırlandırılması	67
Şekil 26. Grup 1(kontrol) diş çekiminden 8 hafta sonra tamamen iyileşen mukozanın görüntüsü daire içinde gösterilmiştir	71

Şekil 27.	Grup 2(bifosfonat) diş çekiminden 8 hafta sonra mukozanın kısmi iyileşme görüntüsü daire içinde gösterilmiştir.	71
Şekil 28.	Grup 2(bifosfonat) diş çekiminden 8 hafta sonra gelişen açık nekrotik kemik daire içinde gösterilmiştir.....	72
Şekil 29.	Grup 2(bifosfonat) ekstra-oral apse gelişen rat ok ile gösterilmiştir.....	72
Şekil 30.	Grup 2(bifosfonat) Grup 2 diş çekiminden 8 hafta sonra çekim soketinde pü akışı ok ile gösterilmiştir.	72
Şekil 31.	Grup 3(Emdogain) diş çekiminden 8 hafta sonra tamamen kapanan mukoza görüntüsü daire içinde gösterilmiştir.	73
Şekil 32.	Grup 4(osteonekroz) debridmandan 8 hafta sonra mukozal açıklık ve nekrotik kemik ok ile gösterilmiştir.	74
Şekil 33.	Grup 4(osteonekroz) debridmandan 8 hafta sonra diseke edilen rat çenesinde mukozal açıklık ve nekrotik kemik daire ile gösterilmiştir.	74
Şekil 34.	Grup 5(osteonekroz-Emdogain) debridmandan 8 hafta sonra tam kapanan mukoza görüntüsü daire içinde gösterilmiştir.....	74
Şekil 35:		76
Şekil 36.		77
Şekil 37.	Deney gruplarında çekim soketinin histolojik gösterimi.....	78
Şekil 38.	Deney gruplarında IL-17 çekim soketi ekspresyon seviyelerinin gösterimi.	79
Şekil 39.	Deney gruplarında IL-17 mukoza ekspresyon seviyelerinin gösterimi	80
Şekil 40.	Deney gruplarında OPG çekim soketi ekspresyon seviyelerinin gösterimi.	81
Şekil 41.	Deney gruplarında OPG mukoza ekspresyon seviyelerinin gösterimi	82
Şekil 42.	Deney gruplarında VGFR1 çekim soketi ekspresyon seviyelerinin gösterimi.....	83
Şekil 43.	Deney gruplarında VGFR1 mukoza ekspresyon seviyelerinin gösterimi. ...	84

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Bifosfonatların R1, R2 zincirlerinin moleküler yapıları, potensleri ve osteonekroz oluşturma riskleri	18
Tablo 2.	Amerikan Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Birliği (AAOMS) 2022 yılı osteonekroz evrelerine göre risk kategorileri	37
Tablo 3.	Çalışma grupları	56
Tablo 4.	Klinik Olarak Mukozal Kapanma Miktarının Skorlanması	65
Tablo 5.	Immunhistokimyasal boyama tekniği	69
Tablo 6.	Kontrol ve deney grupları örneklerinin diş çekim bölgelerindeki yumuşak doku iyileşmesinin klinik olarak değerlendirilmesi.	70
Tablo 7.	Emdogainin tedavi edici etkisinin değerlendirildiği grupların diş çekim bölgelerindeki yumuşak doku iyileşmesinin klinik olarak değerlendirilmesi.....	73
Tablo 8.	Gruplara göre BMD,TV,BV ve BV/TV değerlerinin karşılaştırılması,	75
Tablo 9.	Gruplara göre Tb.Th, Tb.N, Tb.Sp, Po.tot değerlerinin karşılaştırılması	76
Tablo 10.	Grup 4 ve 5'teki radyografik bulguların karşılaştırılması.....	77

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. Deney gruplarında IL17 protein ekspresyonlarının istatistiksel analiz grafikleri.....	80
Grafik 2. Deney gruplarında OPG protein ekspresyonlarının istatistiksel analiz grafikleri.....	82
Grafik 3. Deney gruplarında VGFR1 protein ekspresyonlarının istatistiksel analiz grafikleri.....	84

1. GİRİŞ ve AMAÇ

2003 yılında bisfosfonat tedavisi uygulanan hastalarda ilk kez osteonekroz tanımlandığında, ilaca bağlı çene osteonekrozunun(MRONJ) yalnızca bisfosfonat tedavisine bağlı olarak geliştiği düşünülmüştür[1]–[4]. İlerleyen zamanlarda, çene osteonekrozunun sadece bisfosfonat tedavisi alan hastalarla sınırlı olmadığı; denosumab (nükleer faktör κB ligandının (RANKL) reseptör aktivatörünün bir inhibitörü gibi diğer antirezorptif ilaçlarla tedavi edilen hastalarda ve bevacizumab gibi anjiyogenez inhibitörleri ile tedavi edilen hastalarda da geliştiği gösterilmiştir. Bu bulgular sonucunda, Amerikan Ağız Diş ve Çene Cerrahları Derneği (AAOMS) 2014 kılavuzunda, bu durumun etiyolojisini daha doğru bir şekilde yansıtmak için terminolojinin ilaca bağlı çene osteonekrozu (MRONJ) olarak değiştirilmesini önermiştir.[5], [6]. 2022 yılında AAOMS tarafından yayınlanan bildiride MRONJ tanısını koymak için gereken klinik kriterler önceki yıllarda belirtildiği gibi değişmeden kalmıştır[6]. Devam eden ya da geçmişte uygulanmış antirezorptif veya anti-anjiyogenik ilaç tedavisi kullanma öyküsü olan ve daha önce baş boyun bölgesinden radyoterapi almamış, metastatik hastalık öyküsü bulunmayan hastalarda, maksillofasiyal bölgede 8 haftadan uzun süredir devam eden, ağız içi veya ağız dışı fistül yoluyla da birlikte görülebilen ekspoz nekrotik kemik varlığı MRONJ olarak tanımlanmıştır[6]. MRONJ'nin ilk raporunun yayınlanmasından bu yana hastalığın patofizyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır[3]. MRONJ'u açıklamak için önerilen hipotezler, kemik rezorpsiyonunun baskılanması, inflamasyon ve enfeksiyon, anjiyogenezin inhibisyonu, yumuşak doku toksisitesi ve doğal veya kazanılmış bağışıklığın baskılanmasını içerir[3], [7].

Bisfosfonatlar ve Denosumab'ın kemik rezorpsiyonunu inhibe etme mekanizması farklı olsa da , her iki ilaç türü de kemiğin yeniden şekillenmesini baskılar ve bu durum kemiğin yeniden şekillenmesinin baskılanması hipotezini MRONJ gelişiminde güçlü bir aday yapar[8]. Bifosfonat alan hastalarda uygulanan bifosfonat hızlıca kemik matriksinde ve

osteoklast hücrelerinin yakınında depolanarak, çoğunlukla kemik üzerinde etki gösterir. Bifosfonatların osteoklastlara doğrudan etkisi bilinmektedir . Osteoklastların kemik rezorbsiyonuna başlamaları ile matrikse bağlanan bifosfanatlar serbestleşir ve osteoklastlarca fagosit edilirler. Fagositoz sonucu bifosfonat içeriği artan osteoklastlarda şekil değişikliği ve apoptoz oranlarında artış görülmeye başlanır[9]. Aynı zamanda BP'ler osteoklastların migrasyon, adhezyon kabiliyeti ve aktivitesi üzerinde etkili olarak osteoklast öncü hücrelerinin toplanmalarını ve proliferasyonlarını engeller [10], [11]. Bifosfonatlar kemik üzerindeki rezorbsiyonu baskılayıcı etkilerini bu şekilde göstermektedir[9], [10]. Aguirre, bifosfonatın diş çekimi sonrası çekim soketi iyileşmesi ve alveolar kemik üzerindeki etkilerini incelerken, zoledronik asidin ekstraksiyon soketindeki vaskülariteyi, kemik oluşumunu ve interdental alveolar kemiğin rezorbsiyonunu baskıladığını bildirmiştir[12]. Bisfosfonatlar, pro-anjiyojenik faktör VEGF'yi azaltarak anjiyogenezi inhibe etme yeteneğine sahiptir. Ayrıca, nitrojen içeren bisfosfonatlar, endotel hücrelerinin apoptozunu destekleyerek mikrodamar yoğunluğunun azalmasına neden olabilir[13]. Bu nedenle, bisfosfonatların antianjiyojenik etkileri yoluyla MRONJ'yi indüklemesi mümkündür. Bu, MRONJ'nin anti-VEGF ilaçları ve tirozin kinaz inhibitörleri dahil olmak üzere anti-anjiyojenik ilaçlarla tedavi edilen hastalarda meydana geldiğini bildiren raporlar ile desteklenmektedir[6]. İnflamasyon ve enfeksiyonun MRONJ gelişimi üzerindeki etkisi hem klinik hem de hayvan çalışmalarında kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalar inflamatuvar faktörlerden IL-17, MRONJ mukozasındaki M1 makrofaj polarizasyonunu arttırdığını ve MRONJ mekanizmasında bu yoldan etkili olduğunu göstermiştir. IL-17 aktivitesindeki azalmanın, yüksek olan M1/M2 makrofaj oranını da azalttığını ve bu sayede MRONJ benzeri lezyonların azaldığı bildirilmiştir[14].

Periapikal ve periodontal enfeksiyon varlığının MRONJ insidansını artırdığı literatürdeki çalışmalarda gösterilmektedir[15]. MRONJ, 2003 yılında Marx tarafından tanımlandığından beri, dentoalveoler cerrahi öyküsü ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir[2]. Birçok çalışma, dentoalveoler cerrahinin ve daha spesifik olarak diş çekiminin MRONJ gelişimi için yerel bir risk faktörü olduğunu bildirmiştir[16]–[18].

Hastaların erken evrelerinde MRONJ, maksillofasiyal bölgede açığa çıkan nekrotik veya ekspoz kemik ile kendini gösterebilir. Bu alanlar genellikle uzun süre asemptomatik kalabilir ve semptomların ortaya çıkmasının yıllar sürebileceğini öne süren raporlar

vardır[19]. Bazen hastalar, lezyon klinik olarak tespit edilmeden önce ağrı, anormal diş mobilitesi, nörosensoriyel bozukluklar ve mukozal şişlik veya eritem gibi spesifik olmayan belirti ve semptomlarla başvurabilir[20]. Hastalık ilerledikçe, hastalarda giderek azalan yaşam kalitesinin belirtileri görülmeye başlar. MRONJ'lu hastalarda sıklıkla ağrı, şişlik, eritem, apse oluşumu, sekestrum ve komşu yumuşak doku ülserasyonu gibi sekonder enfeksiyon belirtileri ile başvururlar. Bu patolojinin ilerleyici doğası ve yaşam kalitesi üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, tedavi hedefleri; mukozal kapanmayı sağlamak, kemik nekrozunu durdurmak, sekonder enfeksiyonu önlemek ve yönetmek, ağrıyı ortadan kaldırmak ve yaşam kalitesini iyileştirmektir[6], [21]. MRONJ tanısı olan hastaların tedavisi, maksillofasiyal cerrahi topluluğu içinde tartışmalı bir konu olmuştur.

20 yıl kadar önce enamel matriks proteinlerinin (EMP) periodontal rejenerasyon yeteneğine sahip biyolojik bir ajan olarak kullanılabileceği keşfedilmiştir[22], [23]. Yapılan gözlemler, EMP'lerin periodontal dokuların rejenerasyonunda rol oynayabileceği hipotezine yol açtı ve gelişmekte olan domuz dişlerinin mine tabakasından elde edilen saflaştırılmış fraksiyona Enamel Matriks Deriveleri(EMD) adı verildi.

EMD'nin ana bileşenin %90'ından fazlasını hidrofobik protein ailesi olan amelogeninler oluşturur[24]. EMD'nin yapısında bulunan diğer proteinler; ameloblastin (amelin), amelotin, apin ve çeşitli proteinazlardır[25], [26]. Emdogain (EMD;Institut Straumann, Basel, İsviçre); EMP'nin liyofilize formu olarak hazırlanmış ticari bir preparattır. Emdogainin ana bileşeni, toplam protein içeriğinin %90dan fazlasını oluşturan amelogeninlerdir [24]. Emdogain, viskoz bir propilen glikol aljinat (PGA) taşıyıcı içinde üretilir. Taşıyıcı olarak kullanılan PGA'nın 2 gün içinde ortamdan uzaklaştığı emdogainin ise en az 2 hafta ortamda kaldığı belirtilmiştir[27]. Emdogain, periodontal ligament (PDL), sement ve alveolar kemik dahil olmak üzere periodontal rejenerasyonu indükleyebilen bir ajan olarak kullanılmaktadır[23]. Emdogainin klinik kullanım amacı, periodontal ligament hücrelerinin çoğalmasını ve yara bölgesine göçünü artırarak periodontal yara rejenerasyonunu sağlamaktır. Ayrıca, uygulandığı ortama büyüme faktörlerini salgılayarak, periodontal ligament hücrelerinin gelişimini ve metabolizmasını güçlendirmektedir[28]. Emdogain uygulamasının, insan diş eti fibroblastlarının proliferasyonunu, adezyonunu ve yayılmasını doza bağımlı bir şekilde uyardığı ve DNA sentezini arttırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmektedir[29]. Emdogainin insan diş eti fibroblastları tarafından TGF- β 1 salınımını uyardığı da gösterilmiştir[30]. Emdogain

ayrıca insan diş eti fibroblastları tarafından hem hyaluronan hem de osteoprotegrin (OPN) sentezini uyarır[31]. Emdogain, insan kemik iliği stromal hücrelerinin de proliferasyonunu doza bağımlı bir şekilde artırır[32]. Bunun yanı sıra, Emdogain uygulamasının insan osteoblastik hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı da gösterilmiştir[33]. Benzer şekilde, fare preosteoblastik hücre dizisine Emdogain uygulandığında, önemli ölçüde artmış bir Alkalen fosfataz aktivitesi ve tip I kolajen, bone sialoprotein (BSP), osteocalcin (OC) ve OPG ekspresyonunda yukarı yönlü regülasyon tespit edilmiştir[34]. EMD'nin insan mikrovasküler endotel hücreleri (HMVEC) üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Düşük emdogain konsantrasyonları, HMVEC proliferasyonunun ve kemotaksinin önemli ölçüde uyarılmasına ve anjiyogenezin artmasına neden olmuştur[35]. Benzer şekilde, emdogaine maruz kalan yetişkin insan dermal fibroblastlarında salgılanan vasküler endotelyal büyüme faktöründe (VEGF) önemli bir artış gözlenmiştir[36]. Emdogain muhtemelen endotel hücrelerinin sayısını artırarak vaskülarizasyonu teşvik etme eğilimindedir[37]. Kashefimehr ve arkadaşları mekanik debridman ile birlikte uygulanan Emdogainin peri-implant mukositis hastalarındaki etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, emdogain uygulanan çalışma grubunda üç aylık takiplerde belirgin klinik iyileşme ve peri-implant sıvıdaki IL-17A ve IL-6 seviyelerinde anlamlı derecede azalma gözlemlemişlerdir[38]. Emdogainin gram negatif periopatojenlerin (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Prevotella intermedia*) büyümesi üzerindeki etkisini değerlendiren bir in vitro çalışma, emdogainin bu mikroorganizmaların büyümesi üzerinde belirgin bir inhibitör etkisi olduğu söylenmiştir[39]. Emdogainin antibakteriyel etkisi ve PGA'nın bu etkiye en büyük katkısı, diğer bağımsız yazarlar tarafından daha da doğrulanmıştır[40]–[42].

MRONJ patofizyolojisi ve Emdogainlerin yumuşak ve sert doku rejenerasyonundaki olumlu etkileri, birlikte ele alındığında;

- MRONJ'un, VEGF seviyesini azalttığı ve buna bağlı olarak anjiogenezisin de azaldığı düşünülmektedir. Aynı zamanda bifosfonatların, RANK/ RANKL/ OPG ekspresyonunu modüle ederek, RANKL bağımlı osteoklast diferansiyasyonunu azalttığı ve kemik metabolizmasını etkilediği de bildirilmiştir.

- Emdogainin ise uygulandığı dokularda bakteri sayısını azalttığı, farklılaşmamış mezenşimal kök hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını indüklediği, VEGF seviyesi ve anjigenezisi arttırdığı, OPG/RANKL dengesini OPG'nin artması şeklinde etkilediği ve bu yolla osteoklast aktivitesini de azalttığı daha önceki raporlarda gösterilmiştir.

Tüm bu benzer mekanizmaları göz önünde bulundurduğumuzda, Emdogainin osteonekroz olgularında kullanıldığı takdirde, olumlu sonuçlar elde edileceğini düşünmekteyiz. Yapılan literatür araştırmasında, Emdogainin osteonekroz olgularında kullanımı ile ilgili herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Emdogainin MRONJ üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi planlanan bu çalışmada, deney hayvanlarında MRONJ modeli oluşturulması ve Emdogainin MRONJ üzerindeki etkinliğinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Bu tez çalışmasının amaçları,

- 1- Ratlarda bifosfonat uygulaması sonrası osteonekroz modeli oluşturmak,
- 2-Lokal Emdogain uygulamasının bifosfonata bağlı osteonekroz gelişimini önleyici etkisini değerlendirmek,
- 3-Osteonekroz gelişen ratlarda lokal Emdogain uygulamasının MRONJ tedavisindeki etkinliğini değerlendirmek,
- 4- Çekim soketine lokal Emdogain uygulamasının klinik olarak yumuşak doku iyileşmesi ve mukozal kapanma üzerine etkisini değerlendirmek,
- 5- MRONJ önlenmesine ya da tedaviye yönelik lokal Emdogain uygulamasının kemik mineral densitesi, kemik hacmi, doku hacmi, kemik hacminin doku hacmine oranı, trabeküler kalınlık, trabeküler sayısı, trabeküler ayrılma ve total porozite değişkenlerinin radyolojik olarak mikro-bt ile değerlendirmek,
- 6- Lokal Emdogain uygulamasının epitel dokusu şekillenmesine ve kemik dokusu oluşumuna etkisini histolojik olarak değerlendirmek ve gruplar arası kıyaslamak,
- 7- Lokal Emdogain uygulamasının RANKL-OPG, IL-17, VEGF üzerindeki etkisini immünohistokimyasal olarak değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu

Kemik; iskelet sisteminin yapıtaşını oluşturan, bağ dokusu kökenli bir dokudur. Vücuttaki temel görevleri; hareket, koruma ve mineral dengesinin sağlanmasıdır [43]. Yaralanma, hormonal ve nutrisyonel etkilere karşı metabolik değişiklikler şeklinde cevap verir[44]. Akciğer, kalp, beyin gibi yaşamsal organlar için koruyucu görevi üstlenir. Kaslarla birlikte vücut hareketinde görev alır. Vücut sıvılarında iyonların(kalsiyum, fosfat vb.) depolanmasını ve bu iyonların dengesini sağlar. Ayrıca kan hücrelerinin üretim yeridir. Bütün bu özellikleri ile büyümede görev alan ana dokudur[45], [46].

Kemik hücreleri; osteosit, osteoblast, osteoklast ve periosteal hücrelerden oluşur. Kemik matriksi ise organik ve inorganik bileşenleri içerir. Morfolojik açıdan bakıldığında kemik dokusu lameller (örgü), kortikal (kompakt) ve süngerimsi (trabeküler) tabakalardan oluşmaktadır. Lameller kemik embriyojenik evrede, hiperparatiroidizm olgularında ve fraktür sonrası iyileşen kemikte görülür[47]. Kortikal tabaka kemiğe mekanik dayanıklılık sağlarken, süngerimsi tabaka ise kemik metabolizmasıyla yakından ilişkilidir[43].

2.2. Kemik Matriksi

Kemik matriksinin inorganik bileşen oranı %65-70 iken organik bileşen oranı %30-35 seviyesindedir. Erişkin memelilerde, organik bileşenlerin %95'ini kollojen meydana getirirken, % 5'ini kemik hücreleri ve su meydana getirir[48].

2.2.1. Organik Matriks

Kemiğin organik matriksinin %90-96'sı kolajenden oluşur. Matriksin %4-10'u ise protein yapıdan meydana gelir. Bu kolajenin büyük bir bölümü Tip 1 kolajenden oluşurken daha az miktarı tip 5 kolajenden oluşur. Kemikte bulunan kolajen, deride bulunan kolajene oranla daha yoğun, daha az çözünür ve mekanik olarak daha dirençli

bir yapıya sahiptir. Bu dirençli lifli yapı inorganik matriksin oluşabilmesi için gerekli çerçeveyi sağlar [49].

2.2.2. İnorganik Matriks

Hidroksiapatit (HA) kristalleri kemik inorganik matriksinin en önemli bileşenidir. İnorganik matriks kemiğin ağırlık olarak %50'sini ve hacim olarak %25'lik kısmını oluşturur[44], [50]. Kemiğe sertlik ve dayanıklılık kazandırır. HA kristallerinin kolajen lifler ile oluşturduğu sıkı bağlantı, kemiği; sıkışma ve gerilime karşı dirençli ve dayanıklı hale getirir.[44], [51].

2.3. Kemik Dokusu Tipleri

Kemik doku içindeki kolajen liflerinin dağılımı ve düzenine göre; primer ve sekonder kemik olarak iki farklı tipte ele alınır[52].

2.3.1. Primer Kemik Doku

İlk oluşan kemik dokusu olmakla birlikte, embriyonik dönemde gözlenir. Organik matriks düzensizdir. Hücre sayısı fazladır ve zaman içinde sekonder kemiğe dönüşür. Embriyojenik dönem dışında, yetişkinlerin maksilla ve mandibula alveolar proseslerinde ve yassı kafatası kemiklerinde de gözlenir[53].

2.3.2. Sekonder Kemik Doku

Embriyojenik gelişim süresince primer kemik yerini sekonder kemiğe bırakır. Sekonder kemik; spongioz ve kortikal kemik olmak üzere iki tipe ayrılır[52].

2.3.3. Kortikal Kemik

Kortikal kemik; uzun kemiklerin gövde kısmını, tüm kemiklerin dış yüzeyini oluşturur ve kemik iliği boşluğunu, trabekül plakaları çevreler. Yetişkin iskeletinin %80'nini meydana getirir. Kompakt ve sıkı bir görünüme sahiptir. Mikroskopik incelemede uzun eksene paralel yerleşim gösteren Havers kanalları ile düzenli yerleşim gösteren kanal ve lameller sistemi içerir. Havers kanalları Volkman besleyici kanalları denilen ve kemiğin enine yerleşim gösteren yan kanallarla birbirine bağlanır. Böylece kemik iliği boşluğu ile periost arasındaki bağlantı sağlanmış olur. 4-20 kanaldan oluşan Havers kanal sistemi kemiğin biyolojik ve fonksiyonel kuvvetlere yanıt vermesini sağlar. Lameller üzerinde kemik hücreleri bulunur. Bu hücreler, birbirlerine ve kan damarı içeren kanallara ince

kanalcıklar ile bağlanırlar. Kan damarları, sinirler ve areolar bağ dokusu bulunduran kanallar endosteum ile örtülüdür[54], [55].

2.3.4. Spongioz Kemik

Gelişmekte olan uzun kemiklerin uç kısımları ile yassı kemiklerin iç kısmında yer alır. Süngerimsi veya kansellöz kemik olarak da isimlendirilmektedir. Süngerimsi yapı trabeküllerin birbiriyle anastomoz yapması ile meydana gelir[47]. Bu trabeküller arasında içinde kemik iliğini içeren boşluklar bulunur. Kompakt kemiği destekler ve beslenmesine yardımcı olur. Vücutta bulunan tüm kemiklerin yaklaşık %20'sini oluşturur. Mekanik kuvvetlere karşı dirençsizdir[56].

2.4. Kemik Hücreleri

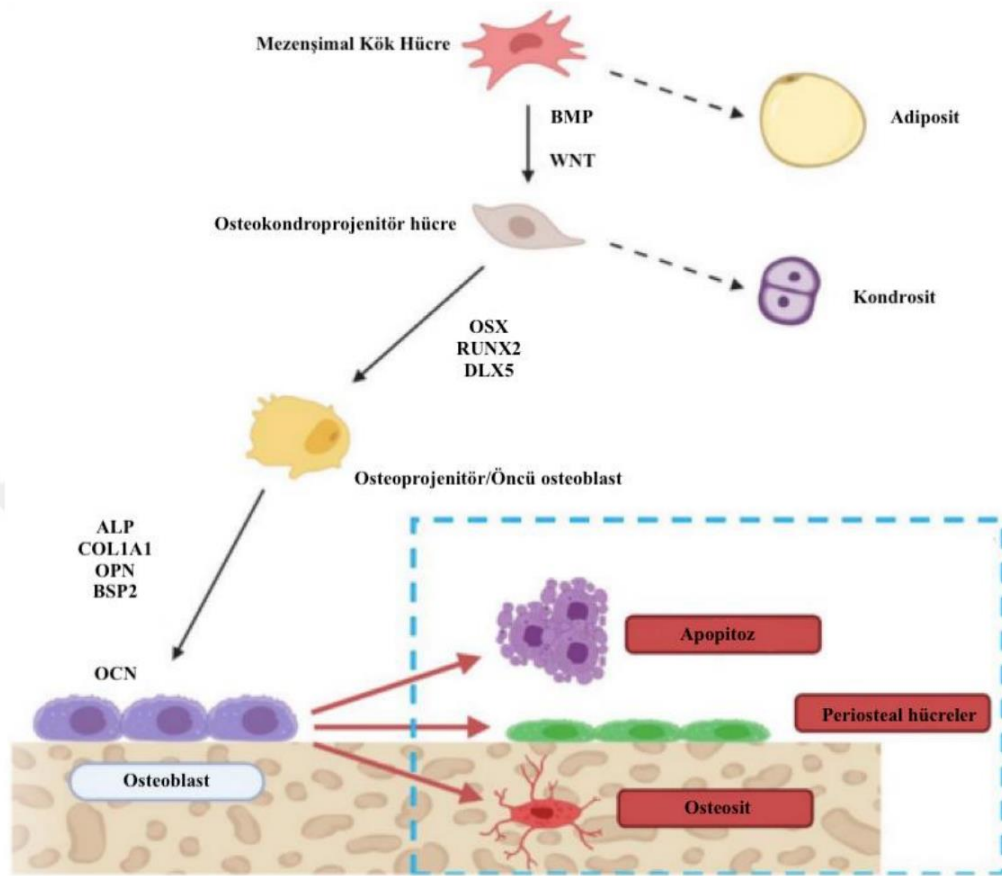
Kemik Dokusu 4 farklı hücre türü içerir. Bu hücreler; osteositler, osteoblastlar, periosteal hücreler ve osteoklastlardır[57]. Kemik hücreleri kökenlerine göre farklı diferansiyasyon potansiyeli gösterirler. Mezenşimal kök hücrelerden köken alanlar; osteoblast, osteosit, periosteal hücrelerdir. Osteoklastlar ise hematopoetik kök hücrelerden köken alır. Hücreler kemikte bulundukları yerlere göre de farklılık gösterirler. Osteoblast, osteoklast ve periosteal hücreler kemik yüzeyinde bulunurken osteositler kemiğin içerisinde yer alır[58].

2.4.1. Osteoblastlar

Kemik iliği, endosteum, periosteum ve kemik kanallarında bulunan osteoblastlar andiferansiye mezenşimal hücrelerden üretilir(şekil 1). Çevre dokulardan ve kan damarlarından göç eden bu hücreler; “Preosteoblastlar” olarak da adlandırılırlar. Mezenşimal hücreler yıldız şeklindedir. Az miktarda sitoplazma ve organelleri bulunur. Tek çekirdeğe sahiptirler. Mezenşimal hücrelerin osteoblastlara dönüşümü ve çoğalması, intramembranöz ve endokondral kemikleşme esnasında meydana gelir[43], [59].

Elektron mikroskopunda osteoblastlar sıkıca paketlenmiş ve kemik yüzeyinde sıralanmış olarak görünürler. Aktif osteoblastlar fazla miktarda endoplazmik retikulum, mitokondri ve golgi aygıtı içerir. Oval şeklindedirler ve çekirdekleri hücrenin tam ortasında bulunur. Osteoblastlar fonksiyon olarak protein ve polisakkaritlerden oluşan organik matriksin sentezinden sorumludur[60]. Lokal sitokinlerin ve paratiroid hormonun etkisi ile aktive olan osteoblastların, osteoklastları aktive eden medyatör ekspresyonu yaptığına dair kanıtlar mevcuttur[43]. Osteoblastlar üç yoldan birini takip eder. Bu hücreler aktif

osteoblastlar olarak kalabilir, matriks ile çevrenip osteositler haline gelebilir veya nispeten inaktif hale gelerek periosteal hücreleri oluşturabilir.



Şekil 1. Osteoblast oluşumu[61]

2.4.2. Periosteal Hücreler

Olgun kemikte kemik yüzeyinde bulunan ince, uzun hücrelerdir. Sitoplazmik uzantıları ve boşluk bağlantıları sayesinde birbirleriyle veya osteositlerle iletişim kurarlar. Metabolik olarak inaktif oldukları için osteoblastlardan daha az organel ve sitoplazma içerirler. Bazen “dinlenme halindeki osteoblastlar” veya “yüzey osteositleri” olarak adlandırılırlar[57], [58], [60].

2.4.3. Osteositler

Yetişkin bir iskelettaki kemik hücrelerinin yüzde doksandan fazlasını osteositler meydana getirir. Olgunlaşmamış osteositler, osteoblastlara benzemekle birlikte daha az miktarda mikrotübül, mikrofilament, lizozom; yüksek miktarda endoplazmik retikulum, büyük

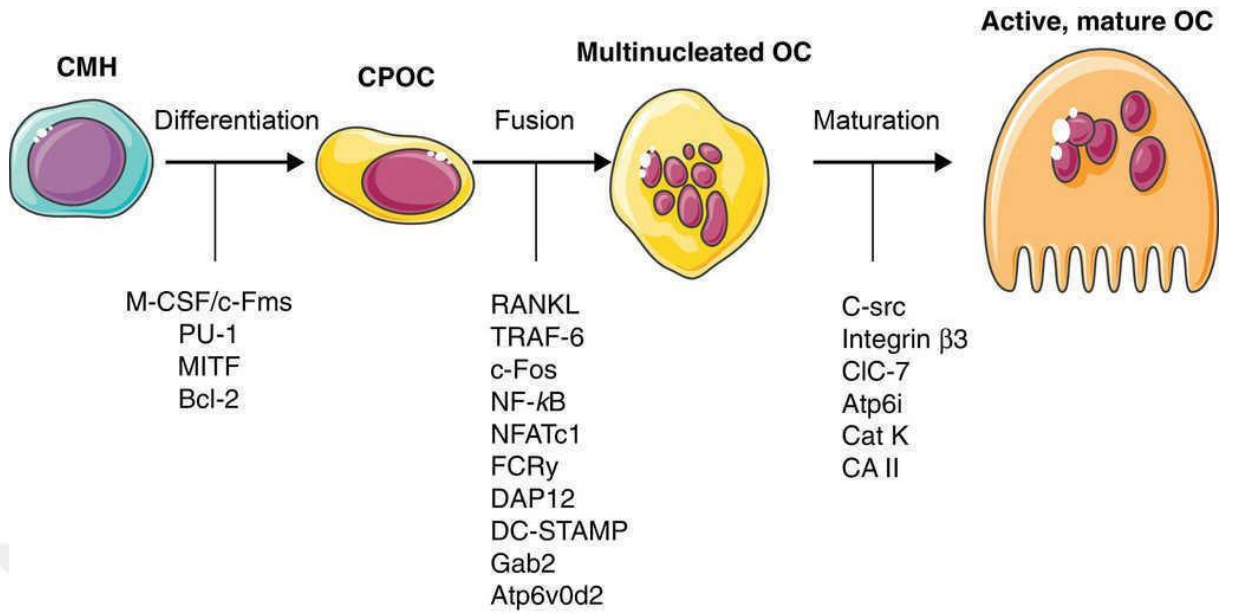
golgi aygıtı ve mitokondri içerirler. Bu hücreler olgunlaştıkça kemik dokusunda daha derine yerleşir ve sitoplazmalarını kaybederek küçülürler. Matriks içindeki kanalcıklar boyunca uzanan ve bitişik hücrelerin temas halinde olmasını sağlayan uzun sitoplazmik uzantılara sahiptirler. Bu bağlantıların mineralize bir matriks içinde hücresel iletişim ve beslenmede son derece önemli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, bu önemli hücresel ağı, kemikteki sıvılar ve vasküler beslenme arasında hücre aracılı mineral alışverişine izin verdiği düşünülmektedir. Hücresel ağı, kemik oluşumuna ve rezorbsiyonuna yol açan kemik içindeki mekanik deformasyonu algıladığına inanılmaktadır[43], [57], [58], [60].

2.4.4. Osteoklastlar

Osteoklastlar çok çekirdekli dev hücreler olup, normal ve patolojik koşullar altında kemik rezorbsiyonundan sorumludur. Kemik iliğindeki monosit ve makrofajlardan köken alırlar(Şekil 2.) Boyut olarak, diğer kemik hücrelerine göre daha büyüktürler. Kemik içerisinde Howship lakünaları adı verilen yüzeysel çıkıntılara yerleşmişlerdir. Ortalama 3 ile 20 arasında çekirdeği bulunan osteoklastlar oval hücre olma eğilimindedir. Mitokondri, osteoklastlarda vücuttaki diğer hücre tiplerinden daha fazla sayıdadır. Çekirdekler arasında, sayıca nispeten küçük olan golgi aygıtı vezikülleri bulunur. Birçok lizozomal vakuol tipi mevcuttur ve bu durum sitoplazmanın genel olarak “köpüklü” olarak tanımlanmasına yol açar[43], [62].

Kemik remodelingine aktif bir şekilde katılırlar. Osteoklastlar; koloni stimule edici faktör-1 (CSF1R), osteoklast-stimule edici faktör (OSF), osteoprotegerin (OPG) ve kalsitonin hormonuna karşı yüzey reseptörleri içerirler. Osteoklastlar içerdikleri çok sayıda lizozom organeli ile asit fosfataza karşı reaksiyon gösterirler. Villus benzeri uzantıları ile belirgin bir kutuplaşma eğilimi gösterirken, bu villuslardan; proteolitik enzimler, sitrik ve laktik asit gibi asitleri salgırlar. Bu enzimler kemiğin organik matriksinin sindirimi ve rezorbsiyonunda rol alır. Asitler ile kemik tuzları rezorbe edilir. Osteoklastlar kemik matriksini ve kristalize yapısını fagosite ederek açığa çıkan ürünleri kana verir. İnorganik matriksin şekilsiz kısmı, kristalize HA ve organik matriks sırasıyla ortamdan uzaklaştırılır[44], [51], [63].

Bifosfonatlar, östrojen hormon ve kalsitonin uyarısıyla osteoklast aktivitesi baskılanırken, paratiroid hormon ve D vitamini uyarısı ile aktive olur[64].



Reumatol Clin. 2013;9:303-15

Şekil 2. Osteoklastların oluşumu[65]

2.5. Kemik Apozisyon ve Rezorbsiyon Döngüsü

Sağlıklı kişilerde kemik apozisyon(yapım) ve rezorbsiyon(yıkım) mekanizması denge altındadır. Kemik apozisyon ve rezorbsiyonu aynı miktarda olduğu için total kemik kütlesi aynı kalır. Kemik gelişimi sırasında küçük yoğun kitleler halinde olan osteoklastlar kemiği 3 hafta boyunca fagosit ederek küçük tüneller açarlar. 3 hafta sonunda kaybolan osteoklastların yerine osteoblastlar alır ve yeni kemik yapımı başlar. Tünellerde kemik depolaması aylarca devam eder ve lameller şeklinde meydana gelen yeni kemik, beslenmede görevli Havers kanallarına ulaşınca sona erer. Oluşan yeni kemik adalarına osteon adı verilir. Kemikte ömür boyu devam eden bu süreç kemik apozisyon ve rezorbsiyon döngüsü olarak adlandırılır[51], [66].

Apozisyon ve rezorbsiyon kemikte pek çok önemli fizyolojik fonksiyona sahiptir. Strese maruz kalan kemik orantılı olarak öncelikle gücünü artırır ve kalınlaşır. Daha sonra kemik fiziksel dayanıklılığını dengelemek için maruz kalınan strese göre şeklini yeniden düzenler. Kırılğanlaşan ve organik matriksi azalan kemik, yeni organik matriks sentezine ihtiyaç duyar. Kemiğin doğal dayanıklılığı bu yol ile devam ettirilir. Kemiğin apozisyon ve rezorbsiyon hızı çocuklarda yetişkin bireylere oranla 200 kat daha hızlıdır. Bu nedenle çocuk kemikleri yetişkin bireylerin kemiklerine göre daha az kırılğandır.

Kemik apozisyon ve rezorbsiyon döngüsünde belirleyici faktörleri arasında; kas dağılımı ve hareketlerin oluşturduğu çekme ve gerilim kuvvetleri, hormonlar, hamilelik ve büyüme faktörleri sayılabilir. Mandibular alveol kemiğin maruz kaldığı çekme ve gerilim kuvvetlerinin sürekli yüksek olması nedeniyle, apozisyon ve rezorbsiyon döngüsü tibiaya oranla 10 kat daha hızlıdır[67]. Kemik apozisyon ve resorbsiyon döngüsü üzerine, paratiroid hormon artışı, kalsitonin ve insülin benzeri büyüme faktörünün de önemli etkileri olduğu bildirilmiştir[68].

2.6. Alveolar Kemik

Çene kemiklerinde dişleri destekleyen en önemli yapı alveolar kemiktir. Dişlerin sağlıklı bir şekilde ağız içerisinde bulunması için alveolar kemik, periodontal ligament ve sementten oluşan yapı gereklidir[69]. Morfolojisi ve hücre yapısı ile vücuttaki diğer kemiklere benzemesine rağmen, alveolar kemiğin fizyolojik ihtiyaçları ve işlevsel farklılıkları onu tüm kemik dokular arasında eşsiz kılmaktadır[70]. Anatomik olarak, maksilla ve mandibulaya özgü olan alveolar kemik, bazal kemikten oklüzal yönde büyüyerek dişlerin gelişimini destekler. Diş kaybını takiben alveolar kemik yıkıma uğrar[70].

Alveol kemiğin %23'nü inorganik bileşenler, %37'sini organik matriks ve %40'ını su meydana getirir[71]. Alveol kemikte yer alan inorganik bileşenler; hidroksiapatit, fosfor, kalsiyum, hidroksil, sitrat, karbonat ve eser miktarda sodyum, magnezyum ve florudur. Organik bileşenini hücresel yapılar, tip 1 kolajen ve kolajen olmayan proteinler meydana getirir. Alveolar kemikteki hücre tipleri arasında; osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar ve kemik iliği adipositleri ile vasküler endoteli gösterilebilir. Osteoblastlar, tek çekirdekli hücrelerdir, kemik yapımından sorumludurlar ve feed-back mekanizmasıyla osteoklastik aktiviteyi de düzenlerler. Sitoplazmalarında alkalen fosfataz içeriği zengindir ve paratiroid hormon ve östrojen için yüzey reseptörlerine sahiptirler[71]. Osteositler, kanaliküller aracılığıyla birbirine bağlanan sitoplazmik iletişim ağı oluşturan ve Havers kanallarının çevresine yerleştirilmiş yıldız hücrelerdir. Oldukça dinamik yapıları ve remodeling yetenekleri nedeniyle osteositler, mekanoreseptör olarak kabul edilirler. Osteositlerin bu özelliği, kemik rezorpsiyonu ve apozisyonu için osteoklastları ve osteoblastları yönlendirir [72]. Osteoklastlar büyük, çok çekirdekli dev hücrelerdir. Sitoplazmaları asit fosfataz açısından zengindir. Kemik rezorpsiyonu için gerekli iyonların, proteinlerin ve salgı veziküllerinin taşınmasından sorumludur. Aktin-vinkulin-

talın içeren bölgenin varlığı, aktif olarak kemik rezorbsiyonuna katılan osteoklastların eşsiz bir özelliğidir[71]. Alveolar kemiğin organik matriksi Daha çok tip I kolajen (%95) ve tip V kolajenden (%5) oluşur. Alveolar kemikteki osteoblastlar tip I, V ve XII kolajen sentezinden sorumluyken, fibroblastlar tarafından tip III kolajen salgılanır. Ayrıca alveolar kemik, osteokalsin, osteonektin, osteopontin, sialoproteinler, proteoglikanlar, fosfoprotein ve kemik morfojenik proteinler (KMP) gibi çok sayıda protein içerir [68]. Öncelikle proteoglikanlar ve glikoproteinler olarak sınıflandırılan bu kolajen olmayan alveolar kemik proteinleri, organik matriksin yaklaşık %8'ini oluşturur[71].

2.7. Kemik İyileşmesi

Travmaya uğrayan kemiğin iyileşme ve onarım süreci bir dizi karmaşık biyolojik rejenerasyon olayını içerir. Kemik iyileşmesi 3 evrede incelenir. Bunlar; enflamasyon evresi, onarım evresi ve yeniden şekillenme evresidir.

Kemik iyileşmesini geciktiren faktörler arasında; kan desteğinin yetersizliği, yumuşak doku yetersizliği, yaralanmanın şiddeti, enfeksiyon ve kemikle ilişkili hastalıkların varlığı sayılabilir. Süngerimsi kemiğin metabolik aktivitesi kortikal kemiğe oranla daha yüksektir. Bu nedenle kemik iyileşmesi süngerimsi kemikte daha erken olmaktadır[73], [74].

2.7.1. Enflamasyon Evresi

Bu evre travma sonrası ilk beş günde görülür. Kemiğe gelen travma sonrasında endosteum, periosteum, kas ve yumuşak dokularda hasar meydana gelir. Bölgedeki damarların rüptürasyonu ile hematoma oluşumu başlar. Travmaya sonucu hasar gelişen bölgeye ilk üç günde farklılaşmamış mezenkimal hücre göçü olur. Dokuda bulunan mast hücreleri ve bazofiller tarafından salgılanan histamin, bradikinin gibi inflamatuvar mediatörler damar permeabilitesini artırır. Hematomun organizasyonu ile granülasyon dokusu oluşur. Granülasyon dokusunun neden olduğu iskemi sonucu kemik ve yumuşak doku yıkımı gözlenir. Çıkan nekrotik dokular lenfositlerin fagositozuyla ortamdan uzaklaştırılır.

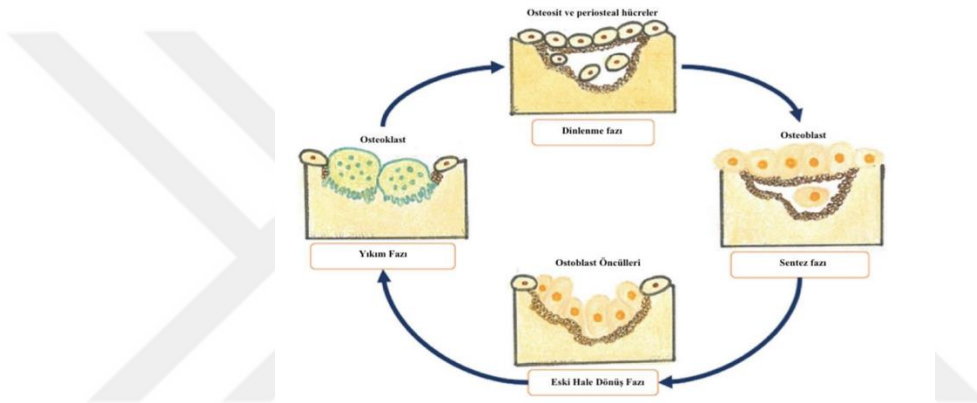
2.7.2. Onarım Evresi

Hematoma oluşumu ile başlayıp kallus oluşumu ile sona eren bu evre yaklaşık 4-40. Gün arasında sürer. Bölgedeki mezenkimal hücreler osteoblastlara ve fibroblastlara farklılaşır. Fibroblastlar, kolajen lifleri ve kondroblastları oluştururlar. Osteoblastlar ise mineralize

osteoiti oluşturur. Fibroblastlar ve kondroblastlar yaklaşık bir hafta içerisinde maksimum miktarda matriks sentezler ve bölgede yeni kemiğe dönüşecek olan yumuşak kallusu oluştururlar. Kallus dokusu oluştuktan sonra üç-altı hafta süresince endokondral kemikleşme sonucu osteoit doku mineralizasyonu başlar. Bölgenin periost ile çevrelenmesi ile bu evre sonlanır.

2.7.3. Yeniden Şekillenme Evresi

Konsolidasyon dönemi dördüncü haftadan itibaren başlayan lameller kemik oluşumu dönemidir. Bu evrede lameller ve medullar kanal yeniden oluşur(Şekil 3)[73].



Şekil 3. Alveolar kemiğin fizyolojik yeniden şekillenme döngüsü

2.8. Diş Çekim Soketinin İyileşmesi

Diş çekimi sonrası meydana gelen kanama ile eritrositler kümelenerek yara bölgesine çöker. Periodontal ligamenlerde bulunan damarlar büzülür ve fibrin ağları oluşur. Diş çekimi ile meydana gelen orta seviyede doku hasarı sonucunda inflamatuvar yanıt gelişir[75].

- 1. gün:** 24 saat sonra damar permeabilitesinin artar ve çevre dokulardan pıhtıya doğru lökosit göçü başlar. Lökositler bölgedeki bakterileri fagosite eder. İyileşmenin temelini alveolü dolduran fibrin oluşturur.
- 2. gün:** Fibrin içerisine periodontal dokularda fibroblast göçü gerçekleşir. Yüzey epiteli proliferasyona başlar. Dişin etrafını sarmış olan alveol kemiğindeki osteoklastik aktivite ile kemik yıkımı başlar.
- 3. gün:** Çevre dokulardan fibroblast ve kan damarları gelişimi, pıhtı granülasyon dokusu ile yer değiştirene kadar devam eder.

5. gün: Yara tabanında fibroblastlardan ve damar endotellerinden oluşan doku meydana gelir. Kalın bir lökosit tabakası yara yüzeyinde oluşur ve yara kenarlarında yüzey epiteli çoğalması görülür.

7. gün: Fibrin ağı içindeki fibroblastlar sayıca artarak organize olmaya başlar. Yeni kapillerlerin sayısı artar. Yüzey epiteli ilerler ve küçük yaralarda epitelizeasyon bitmiş olabilir. Çekim esnasında zarar gören küçük alveol kemiği parçacıkları ya rezorbe olur ya da sekestr olarak atılır.

14. gün: Pıhtının yerini olgunlaşmış granülasyon dokusu almaya başlar. Yaranın çevresinde henüz mineralize olmamış genç trabeküller görülür. Periodontal doku artıklarındaki potansiyel hücrelerin osteoblastlara farklılaşması yeni kemik trabekülleri oluşur. Yeniden yapılan alveol kortikal kemik eski vertikal seviyeye ulaşamaz. Yüzeysel epitelizeasyon tamamlanır. Alveol kemiğin normal şekli 14. günde meydana gelmeye başlar.

21. gün: Kemik yapımı sonrası çekim soketi tam olarak mineralize olmayan kemikle dolar. Yaklaşık bir ayda çekim kavitesini dolduran primer kemik önce rezorbe olur sonra normal şeklini alana kadar trabeküler kemik yapımı devam eder. Kısmen mineralize olan trabeküller radyografik olarak izlenebilir.

2.9. Osteonekroz

Osteonekroz; çeşitli nedenlere bağlı olarak kemiğin kanlanmasının bozularak canlılığını kaybetmesidir[76].

Osteonekroz, kemiklerde yapısal özelliklerin bozulmasına bağlı gelişen ilerleyici bir süreç olarak bilinmektedir[77]. Osteonekrozu meydana getiren etiyolojik faktörler; travma, glikokortikoid tedavileri, orak hücreli anemi gibi hematolojik hastalıklar, sistemik lupus eritematozus gibi otoimmün hastalıklar ve alkol tüketimi gibi alışkanlıklar sayılabilir. Bunun dışında diabet, organ nakli, romatolojik hastalıklar, renal yetmezlik ve maligniteler de risk faktörleri arasındadır[77], [78].

Post-travmatik osteonekroz olarak adlandırılan osteonekroz vakalarının en önemli ve öncelikli etkeni travma olarak gösterilmiştir. Herhangi bir travma veya cerrahi bir müdahale bu osteonekroza neden olabilir. Alkol kullanımı, hematolojik bozukluklar, glikokortikoid kullanımı ve organ nakli sonrası meydana gelen osteonekroz vakaları ise ‘travmatik olmayan osteonekroz’ olarak adlandırılır[78].

Son yıllarda tanımlanan bir diğer osteonekroz ise medikal ilaç kullanımına bağlı olarak çenelerde görülen osteonekrozdur. İlaç kullanımına bağlı olarak çenelerde görülen osteonekroz klinik semptomlar ve radyografik bulgular olarak osteoradyonekroz ile oldukça benzerlik göstermesine rağmen ayırıcı tanıda hastadan alınan anamnez önemli rol oynar[79].

2.10. Medikal İlaçlarla İlişkili Çene Osteonekrozu (MRONJ)

18. yüzyılda, kibrit sanayisinde çalışan işçilerin çenelerinde endemik olarak osteonekroz bulguları veren bir hastalık tanımlanmıştır. İlk kez fosfor elementine maruz kalınması sonra görülen ve çene kemiklerinde nekroz ve enfeksiyon ile karakterize olan hastalık ‘phossy jaw’ olarak adlandırılmıştır. [80], [81]. Bisfosfonat kullanan hastalarda da benzer semptomların görülmesi ile yeniden gündeme gelmiştir.

2003 yılında bisfosfonat tedavisi uygulanan hastalarda ilk kez osteonekroz tanımlandığında, ilaca bağlı çene osteonekrozunun yalnızca bisfosfonat tedavisine bağlı olarak geliştiği düşünülüyordu[1]–[4]. Bu nedenle Amerikan Ağız Diş ve Çene Cerrahları Derneği (AAOMS) 2007 kılavuzunda bu durum çenenin bisfosfonata bağlı osteonekrozu (BRONJ) olarak tanımlamıştır[82].

İlerleyen zamanlarda, çene osteonekrozunun sadece bisfosfonat tedavisi alan hastalarla sınırlı olmadığı; denosumab (nükleer faktör κ B ligandının (RANKL) reseptör aktivatörünün bir inhibitörü gibi diğer antirezorptif ilaçlarla tedavi edilen hastalarda ve bevacizumab gibi anjiyogenez inhibitörleri ile tedavi edilen hastalarda da geliştiği gösterilmiştir. Bu bulgular sonucunda, AAOMS 2014 kılavuzunda, bu durumun etiyolojisini daha doğru bir şekilde yansıtmak için terminolojinin ilaca bağlı çene osteonekrozu (MRONJ) olarak değiştirilmesini önermiştir.[5], [6].

2.11. Bifosfanatlar

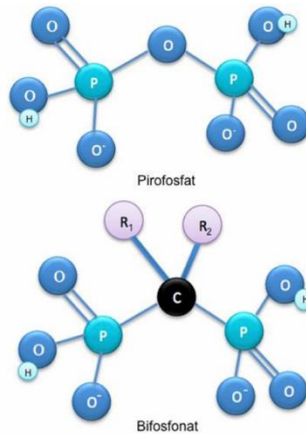
2.11.1.Bifosfonatların Tarihçesi

Alman kimyagerler tarafından ilk olarak 1865 yılında sentezlenen bifosfanatlar(BP), kalsiyum karbonat depolanmasını engellemeleri amacıyla petrol borularında kullanılmışlardır[83]. Ayrıca lehimleme sırasında kalsiyum karbonat azalmasını amacıyla da kullanılmaktadır. Tekstil, gübreleme, yağ endüstrisi gibi birçok endüstride korozyon önleyici ve bileşik oluşturuca ajan olarak da kullanılmışlardır.

Bifosfonatlar tıp alanında ilk kez böbrek taşı oluşumunu önlemek için kullanılmıştır[84]. İlerleyen yıllarda kalsiyum, fosfat gibi iyonlara yüksek afiniteleri olması nedeniyle kemiksel gama grafileri elde edilmesinde de BP kullanılmaya başlanmıştır. Diş macunu üreticileri dental plağı ve diş taşlarını önlemek için bifosfonatlardan yararlanmıştır. 1987 yılından itibaren osteoklastik aktiviteyi baskılayarak sağladıkları antiresorbtif etki nedeniyle kemiği ilgilendiren birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır[83].

2.11.2. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı

Bifosfonatlar endojen inorganik pirofosfatların analogudur. Kemikte osteoklast inhibisyonu ile rezorbsiyonu engelleyerek ve stabil kemik mineralizasyonunu düzenleyerek etki gösterirler. Pirofosfatlardan farkı merkezi karbona bağlı iki fosfonat grubu içermeleridir. Pirofosfatlar da ise merkezde karbon yerine fosfonatları bağlayan oksijen atomu içermesidir(Şekil4). Bifosfonatların içerdiği merkezi karbon atomunun varlığı, iki tane yan zincirin bağlanmasına olanak sağlar ve bu farklılık sayesinde asidik ortamda pirofosfatlara göre daha zor hidrolize olurlar. Böylece dokularda daha uzun süre kalabilirler. Bifosfonatlar, şelasyon yeteneğine sahip kalsiyum iki değerlikli katyonlarla üç boyutlu yapılar oluşturabilirler. Bu nedenle remodelasyona uğrayan kemik yüzeyleri başta olmak üzere kemiklere güçlü afiniteleri vardır. Bifosfonatlar kemikteki hidroksiapatitlere merkezlerindeki karbon atomu ile bağlanır. İki farklı değişken periferel zincirleri (R1, R2) vardır. Kemik resorbsiyonunu engelleyici etkiden sorumlu asıl zincir azot grubu içeren R2 zinciridir [85], [86].(Tablo1).



Şekil 4. Bifosfonatlar ve pirofosfatların kimyasal yapıları[86]

Bifosfanatlar nitrojen atomu içerenler ve içermeyenler olarak, kimyasal içerikleri ve moleküler etki mekanizmalarına göre olarak iki gruba ayrılır;

Grup 1: Nitrojen içermeyen bifosfonatlar

- Klodronat
- Medronat
- Etidronat
- Tiludronat

Birinci kuşak olarak da bilinen en eski bifosfonat grubu nitrojen içermeyen bifosfonatlardır. Merkezdeki karbon atomuna bağlanan basit zincirden (klodronat, medronat, etidronat) ve klorofenil grubu içeren zincirden (tiludronat) oluşurlar. Klinik olarak otuz yıldan fazla süredir kullanımları mevcuttur. Vücutta hızlıca metabolize olabilirler ve en düşük etkinliğe sahip bifosfonat grubudur [87].

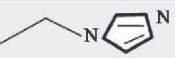
Grup 2: Nitrojen içeren bifosfanatlar (Aminobifosfonatlar)

- Pamidronat
- Alendronat
- Risedronat
- Ibandronat
- Zolendronat

Bu bifosfonatların merkezi karbon atomuna bağlı nitrojen içeren uzun R2 zincirleri vardır. Bu nitrojen içeren zincir sayesinde birinci kuşak bifosfonatlardan 100- 2000 kat daha etkilidirler. İkinci kuşak bifosfonatlar olarak adlandırılan alendronat ve pamidronat basit alifatik zincirli tek bir nitrojen atomu içeren kimyasal yapıya sahiptir[88].

Üçüncü kuşak bifosfonatlar olarak adlandırılan risedronat, ibandronat ve zolendronatın potensi daha yüksektir. Risedronat heterosiklik halka yapısındayken; zolendronat iki nitrojen atomu içeren beş üyeli imidazol halka yapısına sahiptir[89].

Tablo 1. Bifosfonatların R1, R2 zincirlerinin moleküler yapıları, potensleri ve osteonekroz oluşturma riskleri

	R1 zinciri	R2 zinciri	Potens	Osteonekroz oluşturma riskleri sıralaması
Etidronat	OH	—CH ₃	X1	8
Klodronat	Cl	—Cl	X10	7
Tiludronat	H	- S -  - Cl	X10	6
Pamidronat	OH	—CH ₂ —CH ₂ —NH ₂	X100	5
Alendronat	OH	—(CH ₂) ₃ —NH ₂	X1000	4
İbandronat	OH	-CH ₂ -CH ₂ N  CH ₃ (CH ₂) ₄ -CH ₃	X5000	3
Risedronat	OH		X5000	2
Zoledronat	OH		X10,000	1

Bifosfonatlar vücuda uygulama şekillerine göre; oral yolla uygulananlar ve intravenöz yolla(iv) uygulananlar olmak üzere de iki gruba ayrılırlar. Oral yoldan uygulanan BP'ler içerisinde risedronat, alendronat, tiludronat ve etidronat bulunur. İntravenöz yoldan uygulanan BP'ler ise pamidronat ve zoledronik asitti içerir. İbandronat ve klodronat hem oral hem de iv yoldan uygulanabilmektedir[90].

2.11.3. Zoledronik Asit

Üçüncü kuşak bifosfonatlardan olan zoledronik asit, iki nitrojen atomu içeren 5 üyeli imidazol halkasına sahiptir. Kimyasal formülü C₅H₁₀N₂O₇P₂.H₂O şeklindedir. Zoledronatin molekül ağırlığı 290,1 gram olup, kristal beyaz toz yapısındadır. Su ve sodyum hidroksit çözeltilerinde çözünme kabiliyetine sahiptir. Tüm bifosfanatlarda olduğu gibi zoledronik asit de osteoklast aktivitesini ve dolayısıyla kemik rezorbsiyonunu inhibe etme özelliğine sahiptir. Zoledronik asitin ticari formu olan Zometa, 2001 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. Aynı zamanda bugüne kadar hazırlanan en güçlü bifosfonat preparatıdır[91].

2.11.4. Bifosfanatların Farmakolojik Özellikleri

İlacın biyoyararlanımının düşmemesi adına oral yolla kullanılan bifosfonatlar uzun süreli açlıktan sonra kullanılmalıdır ve sonrasında 30-60 dakika boyunca yiyecek ve içecek tüketilmemelidir. Sistemik olarak metabolize olmazlar ve plazma yarı ömürleri uzun değildir. Bağırsaklardan emilen dozun yarısı kemiğin remodeling gösteren aktif bölgelerinde kemik yüzeyine bağlanır. Kemiğe bağlanma bölgeleri hiçbir zaman doygunluk göstermezler. Kemiğe bağlanmayan diğer yarısı vücutta serbest olarak dolaşır ve böbreklerden atılır[92].

İskelet yapısı içerisinde BP'lerin dağılımı homojen değildir. İlaç, kemikteki minerallerin çevre vücut sıvılarına difüze olduğu kemik bölgelerini hedef alır. Kemiklere bağlanma derecesi kemik apozisyon rezorbsiyon döngüsünün hızına bağlıdır. Fizyolojik kemik döngüsünün yıkım aşamasında kemiğe bağlanan BP'ler serbest hale gelirler. İskeletsel bölgelerin kemik remodeling sürecine göre ilacın yarı ömrü değişmektedir. Sıçan ve farelerde yapılan deneylerde iskeletsel yarı ömür 3-12 ay arasında değişiklik gösterirken, insanlarda 10 yıldan fazla sürebilmektedir[10], [93].

BP'lerin vücutta etki süresi tedavi için uygulanma süresinden çok daha uzundur. Tedavinin sonlandırılmasından beş yıl sonra bile alendronatın kemikte izlendiği gösterilmiştir. Tek doz olarak uygulanan zoledronatın takip eden on iki ay boyunca kemik rezorbsiyonunu azaltmaya devam ettiği gösterilmiştir[90].

2.11.5. Bifosfonatların Etki Mekanizması

Sağlıklı bireylerde kemiğin remodelingi bir denge içerisinde gerçekleşir. Bifosfonatlar bu dengenin bozulmasına neden olur. Bifosfonat alan hastalarda uygulanan bifosfonat hızlıca kemik içerisinde ve osteoklast hücrelerinin yakınında depolanarak, yoğunlukla kemik üzerinde etki gösterir. Bifosfonatların osteoklastlara doğrudan etkisi bilinmektedir.

Osteoklastların kemik rezorbsiyonuna başlamaları ile matrikse bağlanan bifosfanatlar serbestleşir ve osteoklastlarca fagosite edilirler. Fagositoz sonucu bifosfonat içeriği artan osteoklastlarda şekil değişikliği ve apoptoz oranlarında artış görülmeye başlanır[9]. Aynı zamanda BP'ler osteoklastların migrasyon, adhezyon kabiliyeti ve aktivitesi üzerinde etkili olarak osteoklast öncü hücrelerinin toplanmalarını ve proliferasyonlarını engeller [10], [11]. Bifosfonatlar kemik üzerindeki rezorbsiyonu baskılayıcı etkilerini bu şekilde göstermektedir[9], [10]. İlacın kullanılmaya başlanması ile kemik rezorpsiyon oranı azalır ve kemik apozisyon-rezorbsiyon dengesi bozulur. Bu etkinin dışında azalan anjiyogenez ile birlikte kan akımının azalması sonucu kemiğin iyileşme kapasitesinde düşüş gözlenir[94].

İskeletsel komplikasyon görülme riski kemik metastazı olan kanser hastalarında daha yüksektir. Bu hastalarda uygulanan BP tedavisi serum kalsiyum seviyesini azaltarak komplikasyonları azaltır ve geciktirir. Hastaların radyoterapi ve ameliyat gereksinimini de azaltır[95].

2.11.6. Zoledronik Asitin Etki Mekanizması

Zoledronik asitin bildirilen etki etme mekanizması;

- a) Osteoklast olgunlaşmasının engellenmesi[96]
- b) Osteoklastların kemik rezorbsiyon bölgesine kümelenmesinin engellenmesi[96]
- c) Olgun osteoklastların fonksiyonlarının inhibisyonu[97]
- d) IL-6 gibi sitokinlerin salgılanmasının azalması [98]
- e) Sitostatik ve sitolitik mekanizmalarla doğrudan anti-tümör etkisi[99]
- f) Tümör hücrelerinin yayılmasını ve kemik matrikse bağlanarak yerleşmesinin engellenmesi[100]
- g) Tümör üzerinde anti-anjiyojenik etkisinin olması[101] şeklinde sıralanabilir.

Zoledronik asitin moleküler olarak asıl hedefi osteoklastlarda bulunan farnesil pirofosfat sentaz enzimidir. Yapılan prelinik çalışmalarda Zoledronik asitin, osteoklasta bağlı kemik resorbsiyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir[97].

2.11.7. Bifosfonatların Klinik Kullanım Alanları

Günümüzde osteoporoz profilaksisi ve tedavisinde bifosfonatlar yaygın bir şekilde kullanılmaktadır[102]. Genellikle postmenapozal osteoporoz, kemik stabilitesinin azalmasına sebep olur. Bifosfonat tedavisinde amaç trabeküler kemiğin osteoklastlar tarafından rezorpsiyonunu azaltarak kemik yoğunluğunu korumaktır. Bu ilaçlar yaşlanmaya, glukokortikoid kullanımına ve östrojen seviyelerindeki azalmayla gelişen kemik yoğunluğunun azalmasını engeller[103].

Bifosfonatların oral ve iv olmak üzere iki uygulama yolu bulunur. Malignite sonrası görülen hiperkalsemi tedavisinde, kemik ağrılarının azaltılmasında ve meme, prostat, multipl myelom gibi kanserlerin kemik metastazlarının tedavi ve engellenmesinde aylık iv zoledronik asit ve pamidronatın uygulamalarının başarılı olduğu Amerikan Klinik Onkoloji Derneği tarafından gösterilmiştir[104]. Ayrıca omurilik sıkışmaları ve patolojik kırıklar gibi yaşamı tehlikeye atan komplikasyonların da azaltılmasında da bifosfonatlar kullanılmaktadır[105]. Paget hastalığı, fibröz displazi, ankilozan spondilit, osteogenezis imperfekta ve osteopeni gibi kemik hastalıklarının tedavisinde bifosfonatlar oral olarak da kullanılmaktadır. [102], [106]–[108]. Osteoporotik kemik lezyonlarının geliştiği Gaucher hastalarının tedavisinde de bifosfonatlar kullanılmaktadır[109].

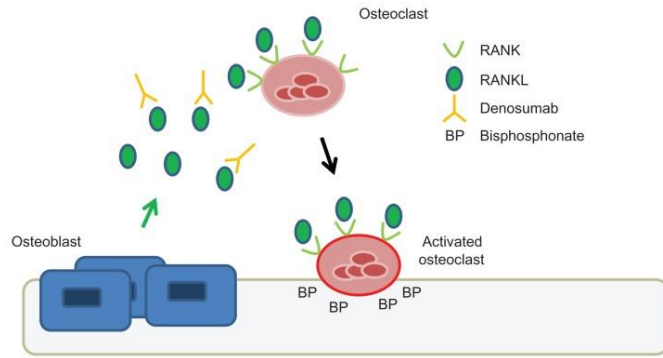
2.11.8. Bifosfonatların Sistemik Yan Etkileri

Oral olarak bifosfonat uygulamalarından sonra midede şişkinlik, bulantı, kusma, ağrı ve ishal gibi gastrointestinal yan etkileri olduğu bildirilmiştir[110]. İv uygulama genellikle oral yoldan ilacı kullanamayan hastalarda ya da daha yüksek konsantrasyonlarda uygulama yapılması gereken hastalarda tercih edilmektedir. İv uygulanan bifosfonatlar hastalar tarafından daha iyi tolere edilmelerine karşın yine de bazı yan etkileri görülmektedir. Bu yan etkiler hastaların % 20sinde görülmekle birlikte; ateş, kemik ağrısı, renal toksisite, grip benzeri halsizlik, akut böbrek yetmezliği veya geçici hipokalsemi olarak sayılabilir[84], [108]. İv bifosfonatların uygulanmasından sonra plazma kreatinin seviyesinin ölçülmesi gerekmektedir. Üveit, iridosiklit, miyozit ve sklerit gibi oftalmolojik yan etkilerde literatürde bildirilmiştir. Bu komplikasyonların verilen doza göre değiştiği, böbrek fonksiyonlarında meydana gelen bozulma sonucu ortaya çıktığı belirlenmiştir[111]. Bu nedenle böbrek yetmezliği tanısı olan hastalar da serum elektrolit düzeyi ve albuminüri değerleri takip edilmelidir. Bu hastalarda daha düşük dozlarda ve uzun infüzyon süreleri ile bifosfanat verilmesi uygun olabilir. Ayrıca böbrek üzerindeki etkileri daha az olan bifosfontlar bu hastalarda tercih edilmelidir. [112].

Tüm bu sistemik yan etkilerin dışında BP kullanımının en önemli yan etkilerinden biri de çene osteonekrozudur[113].

2.12. RANK Ligand İnhibitörleri (Denosumab)

Denosumab(Prolia, Xgeva);, Nüklear faktör kappa-B ligand (RANK-L) inhibitörlerinin aktivatör reseptörü olarak görev yapan antirezorbtif bir ilaçtır. 2010 yılında FDA) tarafından onaylanmıştır. Osteoporoz hastalarında ve kemik metastazlarının tedavisi için meme, prostat kanseri hastalarında denosumab kullanılmaktadır. Denosumab; osteoklast formasyonunu, fonksiyonu ve pro-osteoklastojenik faktör olan RANKL' inhibe ederek antirezorbtif özellik gösteren hümanize IgG2 monoklonal antikordur[114],[115]. RANKL'ın RANK'a bağlanmasını engelleyerek, TNF ailesine ait sitokinlerden osteoprotegerine benzer şekilde davranır(şekil5.) Denosumab RANKL reseptörleri için RANKL ile yarışır ve osteoklast aracılı kemik yıkımını önler[116].



Şekil 5. Zoledronik asit ile denosumabın etki mekanizması karşılaştırması[117].

Osteoporoz hastalarının tedavisinde, altı ayda bir 60 mg olarak subkutan enjeksiyon şeklinde uygulanır[116], [118]. Solid tümör metastazlarının neden olduğu kemik hastalıklarına bağlı şikayetleri aylık uygulamalar ile azalttığı görülmüştür. Multiple myeloma hastalarında denosumab kullanım endikasyonu yoktur[119].

Subkutan uygulanan denosumabın biyoyararlanımı %61'dir. Uygulamadan bir saat sonra kan serum konsantrasyonu ölçülebilir [120], [121]. Denosumab maksimum serum konsantrasyonuna genellikle 5 ila 21 gün arasında ulaşır ve konsantrasyon 9 ay veya daha uzun bir süre boyunca serumda ölçülebilir. [122]. Denosumab büyük olasılıkla minimal renal filtrasyon ve atılım ile retiküloendotelial sistem tarafından temizlenir[123], [124]. Denosumab'ın yarılanma ömrü yaklaşık 25-32 gün arasındadır. Bifosfonatlar gibi RANK-L inhibitörleri kemiğe bağlanmaz. Tedavi bırakıldıktan altı ay sonra kemik döngüsü üzerindeki etkileri geriler[6], [125]. Bifosfonatlarla karşılaştırıldıklarında nefrotoksik etkileri daha azdır, bu nedenle böbrek yetmezliği olan hastalarda zoledronik asit yerine kullanılabilir. Son yapılan çalışmalarda, kemik metastazı olan meme kanseri ve prostat kanseri hastalarında, iskeletsel yayılımı engellemede ve geciktirmede zoledronik aside kıyasla biraz daha etkili olduğu görülmüştür. Denosumabın kemik metastaza bağlı kemik ağrılarını azalttığı gösterilmiştir[126].

Postmenopozal kadınlarla yapılan çalışmalarda tespit edilen yaygın yan etkiler; eklem ağrısı (% 25), baş ağrısı, bel ağrısı, üst solunum yolu enfeksiyonu, farenjit, kabızlık, idrar yolu enfeksiyonu ve omuz ağrısını içerir[115], [127], [128]. Denosumab kullanan hastalarda asemptomatik hipokalsemi gelişebildiği bildirilmiştir[116]. Şimdiye kadar denosumab için bildirilen ilaç etkileşimi yoktur. Ciddi hipokalsemisi olan hastalarda denosumab kullanımı kontrendikedir[116]. Böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda hipokalsemi nedeniyle dikkatli kullanılmalıdır. Denosumab kullanımı ile cilt

enfeksiyonları gibi dermatolojik bulgular artabilir. Bağışıklık sistemi zayıflamış veya immünosupresan kullanan hastalarda denosumab uygulamasının yarar ve riskleri gözden geçirilmelidir. Egzama, dermatit gibi dermatolojik yan etkiler, denosumab ile ilişkilendirilmiştir[116].

2.13. Antianjiogenik İlaçlar

Anjiogenezis sinyalizasyon döngüsünün farklı sinyal verici moleküllerine bağlanarak yeni kan damarı oluşumunu azaltan ilaçlar anjiyogenezis inhibitörleri olarak adlandırılırlar. Böbrek kanseri, mide ve bağırsak kanserleri, endokrin tümörler ve diğer hastalıkların tedavisinde bu ilaçlar kullanılmaya başlanmıştır[6].

2.13.1. Bevasizumab

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve anjiopietin (ANG) gibi proanjijogenik faktörler; endotel hücre büyümesi, hücre göçü ve damar formasyonunu etkileyerek birçok dokuda olduğu gibi kemikte de damarsal gelişimin düzenlenmesinde önemli rol oynar[129], [130]. Bevasizumab; insan vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF) izoformlarını inhibe eden hümanize monoklonal bir antikordur. Bu antikor anjiogenezis inhibisyonu ile tümörün beslenmesine, metastazına ve invazyonuna engel olur[131]. Ayrıca kemoterapi ajanlarının tümöre ulaşım ve etkileşimini, tümörün interstisyel basıncını düşürerek ve tümörün oksijenlenmesini artırarak sağladığı bildirilmiştir[132]. Akciğer, prostat ve kolorektal kanseri tanısı olan yetişkin hastaların tedavisinde ve pediatrik hastalarda kemoterapiyle kombine bevasizumab kullanımı 2004 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. [133].

Bevasizumab, berrak ve renksiz bir çözüldür. Kemoterapi ile birlikte 5, 7.5 veya 15 mg/kg'lık dozlarda intravenöz olarak uygulanır[134]. Kronik diffüz diyabetik makula ödemi ve yaşa bağlı maküler dejenerasyonu olan hastalarda 1.25 mg'lık intravitreal kullanımı umut vaat eden sonuçlar vermiştir[135].

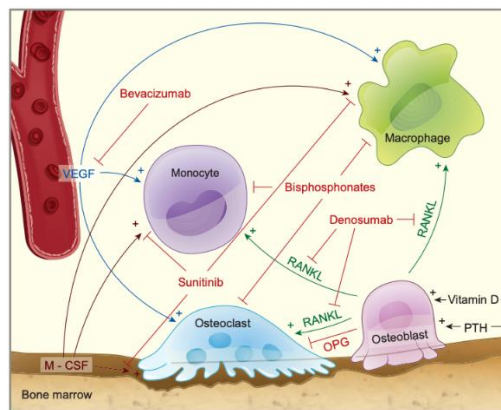
Bevasizumab kullanımı sonrası yan etki olarak MRONJ gelişme olasılığı %0.2 olarak bildirilmekle birlikte, literatürde 2008 yılında tek başına bevasizumab kullanımı sonrası MRONJ geliştiği bildirilen vaka raporu bulunmaktadır[136].

2.14. Tirozin Kinaz İnhibitörleri

Tirozin kinaz, protein kinazların alt sınıfında yer alan ve hücredeki proteinleri fosforilleyerek hücrenin spesifik fonksiyonlarını aktive eden, biyokimyasal kaskadı meydana getiren bir enzimdir. Tirozin Kinaz İnhibitör'leri, tirozin kinazları inhibe ederek sinyal iletimi kaskadını baskılayan anti-neoplastik ilaçlardır. Aynı zamanda anti-anjiyojenik özellikleri de bulunmaktadır. Sunitinib, sorafenib, pazopanib, axitinib, cabozantinib çeşitli kanser türlerine yönelik hedefe yönelik tedavi için kullanılan tirozin kinaz inhibitörleridir[137], [138].

2.14.1. Sunitinib

İlk defa 2006 yılında kullanılmaya başlan sunitinib yeni geliştirilen bir tirozin kinaz inhibitörüdür. Uzun süreli yan etkileri tam olarak bilinmemektedir[139]. Kullanım endikasyonu olan hastalıklar arasında gastrointestinal stromal tümörlerin dirençli formları ve renal hücreli karsinom sayılabilir. Sunitinib; tirozin kinaz ile vasküler endotelial büyüme faktör reseptörü(VEGFR), platelet türevli büyüme faktörü reseptörü(PDGFR), koloni-stimüle edici faktör tip 1 reseptörü (CSF-1R), stem-cell faktör reseptörü inhibisyonu yapar. Sunitinib anjiogenezi indüksiyonu yaparak ve komşu dokulardaki fibroblast ve endotel hücrelerini inhibe ederek tümörün gelişimini etkiler. Ağrı, yüksek tansiyon, sindirim sistemi bozuklukları, proteinüri, nörotoksisite, burun kanaması, koagülasyon bozuklukları, hipotiroidi, tat almada azalma ve oral mukozit sunitinibe karşı geliştiği bilinen yan etkilerdir. Yan etkiler genellikle geri dönüşümlü olduğundan, sunitinibin tamamen kesilmesini gerektirmez(Şekil 6)[140].



Şekil 6. Kemik homeostazis fizyolojisi ve kemik döngüsü ile ilaç etkileşimlerinin mekanizmaları (M-CSF = makrofaj koloni uyarıcı faktör, OPG = osteoprotegerin, PTH = paratiroid hormonu, RANKL = nükleer faktör κ -B ligandının reseptör aktivatörü)[140].

Intravenöz bifosfonat tedavisi alan hastalarda ek sunitib tedavisi başlanması oral mukozit görülme riskini arttırmaktadır. Yapılan çalışmalar; oral mukozite neden olan sunitibin MRONJ için olası bir risk faktörü olabileceğini göstermektedir[141], [142].

2.15. Tümör Nekroz Faktörü Alfa(TNF- α) İnhibitörleri

Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) inhibitörleri, romatoid artrit (RA), spondiloartrit, sedef hastalığı ve inflamatuvar barsak hastalığı (IBD) dahil olmak üzere bir dizi inflamatuvar hastalık için kullanılan spesifik olmayan immünosüpresif ajanlardır[143]. TNF- α , ilk olarak seksenlerin ortalarında klonlanan bir proinflamatuvar sitokindir. Ağırlıklı olarak, travma veya bakteriyel enfeksiyona yanıtın erken safhasında ortaya çıkan makrofajlar tarafından salgınır[144], [145]. TNF- α 'nın bildirilen iki önemli etkisi; in vivo tümörlerin hemorajik nekrozunu indüklemeye ve in vitro olarak tümör hücrelerini öldürme yeteneğidir[146].

TNF- α , makrofajların ve fagozomların aktivasyonu, monositlerin makrofajlara farklılaşması, nötrofillerin ve makrofajların toplanması ve granülomların oluşumu için önemlidir[147]. Şu anda, onaylanmış beş biyolojik tedavinin TNF'nin aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir. Bunlar; adalimumab, certolizumab pegol, etanersept, golimumab ve infliximab.

Anti TNF ilaçları ile tedavi edilen hastalarda bir dizi yan etki (en yaygın olarak enfeksiyonlarla ilişkili) bildirilmiştir[148]. Bu yan etkiler sıklıkla enjeksiyon yerinde(subkutan) ağrı, kızarıklık, ödem olmakla birlikte nadiren de olsa lupus benzeri bir sendrom, lenfomanın ilerlemesi ve pansitopeni de bildirilmiştir[149]. Bu yan etkilerden farklı olarak yakın zamanda idiopatik artrit tedavisi için Adalimumab tedavisi gören hastada MRONJ geliştiği bildirilmiştir[150]. TNF- α inhibitörü kullanan hastalarda MRONJ gelişim riskini değerlendiren sistematik inceleme bu ilaçların kullanımının MRONJ açısından potansiyel risk faktörü olabileceğini söylemektedir[151].

2.16. MRONJ Gelişimine Yol Açabilen Diğer Ajanlar

Literatürde mTOR (mammalian target of rapamycin) inhibitörleri ve rekombinant monoklonal anti-neoplastik antikorlar olarak adlandırılan hedefe yönelik tedavi (Target Therapy) ile ilişkili birkaç MRONJ vakası bildirilmiştir[152], [153]. mTOR inhibitörlerinden everolimus için ilk osteonekroz vakası, üç yıl boyunca günde 10 mg everolimus dozu ile tedavi edilen tiroid kanserli bir hastada bildirilmiştir. İkinci

osteonekroz vakası, günde 20 mg everolimus alan meme kanseri hastasında bildirilmiştir[154]. Yapılan prelinik çalışmalar, mTOR inhibisyonunun osteoklastların olgunlaşmasını azalttığını ve apoptozunu arttırdığını göstermiştir [155], [156], Bu mTOR inhibitörleri ile ilişkili osteonekroz gelişiminin altında yatan mekanizma olabilir.

TT ile tedavi edilen malignitelerde MRONJ gelişim riskine daha fazla dikkat etmelidir. Ayrıca, TT ile ilişkili MRONJ için insidans ve risk analizleri için daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.17. MRONJ Tanısı ve Görülme Sıklığı

2022 yılında AAOMS tarafından yayınlanan makalede MRONJ tanısını koymak için gereken klinik kriterler önceki yıllarda belirtildiği gibi değişmeden kalmıştır[6]. MRONJ vaka tanımı, aşağıdaki 3 unsuru içerir:

1. Devam eden ya da geçmişte uygulanmış antirezorptif ve ya anti-anjiojenik ilaç tedavisi varlığı,
2. Daha önce baş ve boyun bölgesinden radyoterapi almamış olmak ve metastatik hastalık öyküsü bulunmaması,
3. Maksillofasiyal bölgede 8 haftadan uzun süredir devam eden, ağız içi veya ağız dışı fistül yoluyla da birlikte görülebilen ekspoz kemik varlığı.

MRONJ; kullanılan ilacın süresine, uygulama şekline(oral ve iv), dozuna, tipine göre farklı dönemlerde ve şiddetlerde ortaya çıkar. Hastanın var olan sistemik hastalıkları, eşlik eden diğer ilaç kullanımı, oral hijyeni ve uygulanan dental işlemlerde MRONJ'un gelişiminde etkilidir.

MRONJ gelişimi kadınlarda erkeklere göre daha sıktır. Kortikal yapısından dolayı mandibula, maksillaya oranla daha fazla etkilenmektedir. MRONJ mandibulada %55,5 ile %83,3 oranında görülebilirken bu oran maksillada %16,7 ile %38,8 arasında değişir. Maksilla ve mandibulada %5,7 ile %14 oranında birlikte görülebilir.

MRONJ, genel olarak diş çekimi gibi cerrahi işlemlerin ardından ortaya çıkar. Ancak %40 oranında spontan olarak meydana gelebildiği raporlarda bildirilmiştir. Kendiliğinden meydana gelen lezyonların prognozu genellikle daha kötüdür[157]. Posterior mandibular bölgede spontan lezyonlar daha sık görülür. Bunun nedeni bu

bölgede mukozanın ince olması, mandibular torus ve mylohiyoid çıkıntının varlığı olarak gösterilebilir.

MRONJ, intravenöz bifosfonat kullanan hastalarda %0.8 ila %28 arasında gözlenirken, oral bifosfonat kullanan hastalarda bu oran %0.09 ila %0.34 arasında değişmektedir [158].

Bifosfonat uygulamasına bağlı olarak gelişen osteonekrozların;

- %46.5'i multiple myeloma,
- %38.8'i meme kanseri,
- %6.2'si prostat kanseri,
- %4.1'i osteoporoz,
- %3.5'i diğer metastatik kanserler ve
- %0.8'i paget hastalığında görülmektedir[159].

2.17.1. Osteoporoz hasta popülasyonunda MRONJ görülme sıklığı

Bifosfonatlar veya ilişkili diğer ilaçlarla tedavi edilen hastalarda insidansı belirlemeyi amaçlayan prospektif kohort çalışma sayısının yetersizliği nedeniyle osteoporoz hasta popülasyonunda MRONJ insidansının doğru bir şekilde tahmin edilmesi zordur[5].

Literatürde MRONJ prevalansının oral bisfosfonatlarla tedavi edilen osteoporotik hastalarda %0-0.04 ve IV bisfosfonatlarla tedavi edilen hastalarda %0-0.35 arasında değiştiği bildirilmiştir[160]–[163]. Başka bir çalışmada, osteoporoz nedeniyle oral bisfosfonat alan hastalarda MRONJ insidansının yılda 100.000 hastada 1.04 ile 69 vaka arasında değiştiği ve intravenöz bisfosfonat kullanan hastalarda insidansın yılda 100.000 hastada 0 ila 90 vaka arasında değiştiği bildirilmiştir[161], [164]–[166]. Yayınlanan başka bir makalede osteoporoz hastalarında bifosfonata bağlı gelişen osteonekroz insidansı %0,01 ila %0,06 arasında değişmektedir, ancak Asya'daki insidans periodontal hastalığın daha yüksek olmasına bağlı olarak artacağı düşünülmüştür[167][168].

Papapoulos ve arkadaşları tarafından yapılan ve denosumab kullanan hastaları değerlendiren bir çalışmada yılda 30.000 hastada 8 osteonekroz vakası bildirilmiştir[169]. Yayınlanan başka bir çalışmada denosumab ile tedavi edilen osteoporoz hastalarında

tedavi almayan osteoporoz hastalarına kıyasla MRONJ gelişme olasılığı %0,63 olarak bildirilmiştir[170].

2.17.2. Kanser hasta popülasyonunda MRONJ görülme sıklığı

Onkoloji hastalarında insidans, osteoporoz hastalarından önemli ölçüde daha yüksektir. Spesifik olarak, intravenöz bisfosfonat ile tedavi edilen onkoloji hastalarında, MRONJ insidansı yılda 100.000 hasta başına 12.222 vaka olarak bildirilmiştir. Denosumab ile tedavi edilen onkoloji hastalarında ise MRONJ insidansının yılda 100.000 hasta başına 2.316 vaka olduğu tahmin edilmektedir[171].

Bevacizumab gibi antianjiyojenik ajanlarla tedavi edilen onkoloji hastalarında MRONJ riskinin %0,2 olduğu tahmin edilmektedir, ancak ek olarak bisfosfonat kullanımı durumunda risk %0,9'a çıkmaktadır[7]. Bu yüksek insidansın, osteoporozlu hastalarda kullanılan dozlara kıyasla, onkoloji hastalarında kısa bir süre içinde de olsa daha yüksek bisfosfonat dozlarının kullanılmasından kaynaklandığına inanılmaktadır. Osteoporoz hastalarına kıyasla onkoloji hastalarında daha yüksek MRONJ insidansına bir başka sebep olarak, bisfosfonat uygulama sıklığının daha yüksek olması ve ağırlıklı olarak intravenöz uygulama yolunun kullanılması gösterilebilir. Ayrıca onkoloji hastalarının çoğu, MRONJ gelişme riskini arttıran anti-kanser ilaçlar ve kortikosteroid rejimi de almaktadır[172]–[174].

2.18. Mronj Gelişiminde Rol Alan Risk Faktörleri

2.18.1. Diş Çekimi ve Travma

MRONJ, 2003 yılında Marx tarafından tanımlandığından beri, dentoalveoler cerrahi öyküsü ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir[2]. Birçok çalışma, dentoalveoler cerrahinin ve daha spesifik olarak diş çekiminin MRONJ gelişimi için yerel bir risk faktörü olduğunu bildirmiştir[16]–[18].

Bazı çalışmalar, MRONJ ile uygun olmayan protezler arasında ilişki bulmuştur ve hareketli protez kenarlarından gelen sürekli baskının, MRONJ gelişimi için olası risk faktörü olarak tanımlanmıştır[175].

2.18.2. Periodontal Hastalık

Klinik ve hayvan çalışmaları, potansiyel risk faktörü olarak periodontal hastalıklar gibi enflamatuvar diş hastalıklarının varlığını bildirmişlerdir[7], [176]. Aghaloo ve ark.

bifosfonat uyguladıkları ratlarda, oluşturdıkları deneysel periodontitisin osteonekrozu indüklediğini göstermişlerdir [176].

2.18.3. Cinsiyet

Cinsiyetin MRONJ için bir risk faktörü olduğuna dair literatürde kesin kanıtlar bulunmamaktadır. Fliefel ve arkadaşları tarafından yapılan sistematik derlemede cinsiyetin incelendiği MRONJ'lu 4481 hastanın %67'sinin kadın olduğunu bildirmiştir[177]. Ancak bu farkın incelenen hastaların var olan sistemik hastalıklarına ve anti rezorptif ilaç kullanma sebeplerine(osteoporoz, meme kanseri vb.) bağlı olduğu düşünülmektedir [3][7]. Fliefel makalesine dahil edilen hastaların %49'unda bu hastalıkların varlığı tespit edilmiştir.[177].

2.18.4. Sistemik Hastalıklar

Filleul ve ark. tarafından yayınlanan ve bisfosfonatlarla tedavi edilen 2400 MRONJ hastasının değerlendirdiği makalede, MRONJ'nin malign tümörleri olan hastalarda (%89) daha yaygın olarak ortaya çıktığını ve malign durumlar arasında multipl miyelomun vakaların çoğunu (%43) oluşturduğunu, ardından meme kanserinin (32 %) ve osteoporozun geldiğini bildirmişlerdir (%10)[178].

Onkoloji hastalarında diyabet ve anemi gibi ek hastalıkların varlığının da MRONJ riskini arttırdığı bildirilmiştir[179]. MRONJ hastalarının %45'inde anemi tanısı gösterilirken, 89 MRONJ hastasının %22,5'inde diyabet tanısı gösterilmiştir[180].Fliefel ve ark. yayınladıkları sistematik incelemelerinde, MRONJ insidansının, MRONJ'li hastaların %40'ında kemoterapi ile ilişkili olduğunu ve hastaların %25'inin kortikosteroid aldığını bildirmişlerdir[178].Saad ve ark. Antianjiyojenik ilaçların (genellikle kanser tedavisinde kullanılan) kullanımının, inceledikleri 89 vakanın %16'sında MRONJ ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır[180].

2.18.5. Antirezorptif İlaçlarla Tedavi Süresi

Endikasyondan bağımsız olarak antirezorptif ilaç kullanan hastalarda, antirezorptif ilacın süresinin MRONJ gelişme riski üzerinde önemli bir etkisi vardır[3]. Bisfosfonat veya denosumab tedavisinin sıklığı ve süresinin artması, onkoloji ve osteoporoz hastalarında MRONJ insidansında artış gösterir. Onkoloji hastalarında yapılan randomize klinik çalışma, ilk yılda bisfosfonat alan hastalarda MRONJ insidansının %0,5 olduğunu ve bu oranın iki yıl sonra ikiye katlanarak %1'e ve üç yılda %1,3'e ulaştığını bildirmiştir[181].

Aynı çalışma, denosumab alan hastalarda ONJ insidansının ilk yılda %0,8 ve ikinci ve üçüncü yılda %1,8 olduğunu göstermiştir[181].

2.18.6. Kullanılan Bifosfonatın Tipi

Fliefel ve arkadaşları tarafından yapılan sistematik incelemede MRONJ tanısı olan 4118 hastanın 2427'sine (%58,9) zoledronat, 571'ine (%13,9) pamidronat ve 523 (%12,7) hastaya alendronat verildiği bildirilmiştir. Ayrıca hastaların büyük çoğunluğu intravenöz bisfosfonat (%83,2) alırken, %16,8'i oral bisfosfonat almıştır[182].

2.19. MRONJ Fizyopatolojisi

MRONJ'nin ilk raporunun yayınlanmasından bu yana on yıldan fazla zaman geçmesine rağmen, hastalığın patofizyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır ve araştırmacılar ile klinisyenler arasında tartışma konusu olmaya devam etmektedir[3]. MRONJ'u açıklamak için önerilen hipotezler, kemik rezorpsiyonunun aşırı baskılanması, inflamasyon ve enfeksiyon, anjiyogenezin inhibisyonu, yumuşak doku toksisitesi ve doğal veya kazanılmış bağışıklığın baskılanmasını içerir[3], [7].

2.19.1. Birinci Hipotez: Kemiğin yeniden şekillenmesinin engellenmesi

Mineral homeostazına ek olarak kemiğin yapısal bütünlüğünü, boyutunu ve şeklini korumak için kemiğin yeniden şekillenme süreci kişinin yaşamı boyunca sürekli olarak gerçekleşir[16]. Fonksiyonel osteositler, osteoklastlar ve osteoblastların varlığı, kemiğin yeniden şekillenme sürecini sürdürmek için esastır[7]. Çiğneme kuvvetlerinin varlığı, ağız boşluğunda kemik döngüsünün artmasına neden olur[183].

Osteoblastlar, kemik matriksi proteinleri üretme, kemik matriksini mineralize etme ve osteoklastojenik faktörleri salma kapasiteleri ile karakterize edilen mononükleer hücrelerdir[184], [185]. Bir osteoblast, kemik matrisi içine gömülürse, osteosit olarak adlandırılır[185]. Osteositlerin, kemiğin resorpsiyonu gerektiğinde sinyal vermek de dahil olmak üzere kemiğin korunmasında yer aldığı düşünülmektedir. Osteoklastlar, kemik rezorpsiyonundan sorumlu çok çekirdekli hücrelerdir[185].

Kemik oluşumu ve yıkımı arasındaki dengesizlik, osteoporozdan osteopetroza kadar değişen iskelet problemlerine neden olur[185].

Primer kemik tümörleri, multipl miyelom ve litik kemik metastazları gibi tümöral hastalıklar ve osteoporoz, romatoid artrit ve Paget hastalığı gibi tümör dışı hastalıklar

osteoklastik aktiviteyi artırarak kemik rezorbsiyonunda önemli bir artışa neden olur. Bu rezorbsiyon artan kemik oluşumu ile yeterince dengelenmez ve net kemik kütlesinde kayba neden olur[185].

Kemik yeniden şekillenmesi iskeletin tamamında meydana gelse de, çenelerin osteonekrozu özellikle üst ve alt çenenin alveol kısmında meydana gelir[186]. Bu, alveol kemiğindeki yeniden şekillenme oranının diğer kemiklerin yeniden şekillenme hızına kıyasla daha yüksek olmasına bağlanmıştır. Böylece, antiresorptif ilaçların etkisi alveol kemiğinde diğer bölgelere göre daha belirgin olacaktır. Sonuç olarak bu, MRONJ'un neden sadece çenelerde oluştuğunu açıklayabilir[187]. Bisfosfonatlar ve Denosumab'ın kemik rezorbsiyonunu inhibe etme mekanizması farklı olsa da , her iki ilaç türü de kemiğin yeniden şekillenmesini baskılar ve bu durum kemiğin yeniden şekillenmesinin baskılanması hipotezini MRONJ gelişiminde güçlü bir aday yapar[8]. Bu durum, bir fare modelinde hem zoledronik asidin hem de Denosumab'ın spontan MRONJ'yi indüklemeye yeteneğini (zoledronik asit grubunda daha yüksek insidans ile) gösteren Molon ve arkadaşlarının çalışmasıyla daha da desteklenmektedir[188].

2.19.2. İkinci Hipotez: İnflamasyon ve Enfeksiyon

İnflamasyon ve enfeksiyonun MRONJ gelişimi üzerindeki etkisi hem klinik hem de hayvan çalışmalarında kanıtlanmıştır. Lopez, bisfosfonat ve doksametazon verilerek diş çekimi yapılan sıçanlarda, MRONJ insidansına antibiyotiklerin etkisini değerlendirdiği çalışmasında, antibiyotiklerin MRONJ insidansını azaltabileceğini ancak önlemediğini göstermiştir. Aynı çalışmada periapikal ve periodontal enfeksiyon varlığının MRONJ insidansını artırdığını da söylemişlerdir[15]. İlk çalışmalar , MRONJ'lu hastalardan alınan nekrotik kemik biyopsi örneklerinde bakterileri, özellikle Actinomyces türlerini tanımlamıştır[189].

Birçok klinik çalışma, antiresorptif ilaç tedavisi öncesinde ve sırasında ideal ağız hijyenini sağlamanın, MRONJ oluşumuna neden olabilecek patojenik bakterileri azaltarak MRONJ insidansını sınırladığını göstermektedir[190]. Ağız içinde var olan bir lezyon üzerinde antibiyotiklerin etkisi sorgulanabilir ve birçok çalışma, antibiyotiklerin tek başına mukozal iyileşmeyi destekleyemeyeceğini göstermektedir. Ayrıca antibakteriyel gargara ve yüzeysel debridmanın MRONJ'u önleyemeyeceği veya ileri evrelerde mukozal iyileşmeyi destekleyemeyeceği bildirilmektedir[6]. Bu gözlemler, enfeksiyonun varlığının MRONJ gelişiminde bir kofaktör olduğunu[15] ve bakterilerin

kemik ekspozuna neden olmamakla birlikte var olan ekspoz kemik üzerine yerleşerek biyofilm oluşturduğunu göstermektedir[186].

2.19.3. Üçüncü Hipotez: Anjiyogenez İnhibisyonu

Endotel hücrelerinin göçü ve farklılaşmasıyla yeni kan damarları oluşturma sürecine anjiyogenez denir[6]. Bisfosfonatlar, pro-anjiyojenik faktör VEGF'yi azaltarak anjiyogenezi inhibe etme yeteneğine sahiptir. Ayrıca, nitrojen içeren bisfosfonatlar, endotel hücrelerinin apoptozunu destekleyerek mikrodamar yoğunluğunun azalmasına neden olabilir[13].

Aguirre, bifosfonatın diş çekimi sonrası çekim soketi iyileşmesi ve alveolar kemik üzerindeki etkilerini incelerken, zoledronik asidin ekstraksiyon soketindeki vaskülariteyi, kemik oluşumunu ve interdental alveolar kemiğin rezorbsiyonunu baskıladığını bildirmiştir[12]. Kobayashi, zoledronik asit tedavisi sonrası, oral epitel hücrelerinin göç aktivitesinin inhibisyonu da dahil olmak üzere, çekim soketi iyileşmesi sırasında osteogenez ve mikrodamar gelişiminin önemli ölçüde inhibe edildiğini göstermiştir[15].

Bisfosfonatlar, tümörlerin etrafındaki anjiyogenezi inhibe ederek tümör büyümesini azaltmak ve premalign lezyonların ilerlemesini durdurmak için kullanılmıştır[176]. Bu nedenle, bisfosfonatların antianjiyojenik etkileri yoluyla MRONJ'yi indüklemesi mümkündür. Bu, MRONJ'nin anti-VEGF ilaçları ve tirozin kinaz inhibitörleri dahil olmak üzere anti-anjiyojenik ilaçlarla tedavi edilen hastalarda meydana geldiğini bildiren raporlar ile desteklenmektedir[6].

Bununla birlikte, herhangi bir anti-anjiyogenez özelliği olduğu bilinmeyen Denosumab, MRONJ gelişimi ile ilişkilidir[191], [192]. Ayrıca MRONJ örneklerinin incelendiği histopatolojik çalışmalar normal vaskülariteyi göstermiştir[176], [186], bu da en azından bu vakalarda anjiyogenez inhibisyonunun bir faktör olmadığını düşündürmektedir. Bu nedenle, anjiyogenezin inhibisyonu MRONJ gelişimine önemli bir katkıda bulunabilirken, MRONJ gelişiminde merkezi olması muhtemel değildir[176], [186].

2.19.4. Dördüncü Hipotez: Yumuşak Doku Toksisitesi

İn vitro çalışmalar, oral epitel hücrelerinin bifosfonatların varlığında kültürlendiğinde fibroblastlar ve makrofajlarda proliferasyonun azaldığını ve apoptozun arttığını göstermektedir[193]. Bisfosfonatların kemikte biriktiği ve kemik rezorpsiyonu ile salındığı uzun zamandır bilinmektedir. Bu nedenle, travmayı takiben bu birikme ve

salınımın, oral mukozada doğrudan toksisiteye neden olması muhtemeldir ve bu da yumuşak doku ve yara iyileşmesini tehlikeye atacaktır[194], [195].

Bu teori, denosumabın herhangi bir yumuşak doku toksisitesine sahip olduğuna dair bir kanıt bulunmadığından denosumab hastalarında MRONJ'nin neden ortaya çıktığını açıklamaz. Ayrıca hastalara uygulanan bifosfonatın plazmada daha düşük dozlarda bulunduğu ve birkaç saat içerisinde böbrekler yoluyla atıldığı da bilinmektedir. Sonuç olarak, bu nedenlerle yumuşak doku toksisitesinin geçerli bir hipotez olamayacağını belirten çalışmalar da bulunmaktadır[7], [191], [196].

2.19.5. Beşinci Hipotez: Doğuştan veya Kazanılmış Bağışıklık Bozukluğu

Genel olarak, MRONJ tanısı alan onkoloji hastalarının çoğu, immünosupresif etkisi olduğu bilinen kemoterapötikler ve kortikosteroidlerle tedavi edilir. İmmünsüpresyonun doku iyileşmesini bozduğu bilinmektedir. Birkaç hayvan modeli, bisfosfonatlar tarafından indüklenen MRONJ insidansının ve şiddetinin kortikosteroidlere maruz kalma ile arttığını göstermiştir. Ayrıca, klinik çalışmalar, kortikosteroidleri, MRONJ için ilaca bağlı risk faktörü olarak tanımlamaktadır[186].

Sonuç olarak, preklinik ve klinik çalışmalar, birbiriyle etkileşime giren mekanizmaların kombinasyonunun sonucu olarak MRONJ gelişiminde ve şiddetinde artış olduğunu göstermektedir[186]. Vakaların çoğunda tek başına antirezorbtiif kullanımı osteonekroza neden olmaz. Ancak hastada diş çekimi, periodontal veya periapikal hastalıktan kaynaklanan inflamasyon ya da enfeksiyon gibi durumların varlığında osteonekroz gelişebilir. Antianjiyojenik ilaçlara ek olarak steroidler gibi immünosupresanlar MRONJ insidansını ve şiddetini artırabilen önemli kofaktörlerdir. MRONJ patofizyolojisi henüz tam olarak belirlenememekle birlikte sistemik antiresorptif tedavi alan osteoporoz ve onkoloji hastalarında multifaktöriyel bir hastalık gibi görünmektedir[186].

2.20. MRONJ Klinik Bulguları ve Evreleri

AAOMS, 2022 yayınladığı kılavuzda 2014 kılavuzunda olduğu gibi MRONJ teşhis kriterlerini; daha önce baş boyun bölgesinden radyoterapi almamış ve metazastik hastalık öyküsü olmayan, daha önceden veya halen devam eden, tek başına ya da antianjiyojenik, immünmodülatörler ile kombine halde antirezorbtiif ilaç kullanımı öyküsü olan hastaların çenelerinde 8 haftadan daha uzun bir süredir ekstraoral ya da

intraoral fistül ile ilişkili olan ve ya olmayan ekspoz kemik varlığı olarak tanımlamıştır[6][197].

Hastaların erken evrelerinde MRONJ, maksillofasiyal bölgede açığa çıkan nekrotik veya ekspoz kemik ile kendini gösterebilir. Bu alanlar genellikle uzun süre asemptomatik kalabilir ve semptomların ortaya çıkmasının yıllar sürebileceğini öne süren raporlar vardır[19]. Bazen hastalar, lezyon klinik olarak tespit edilmeden önce ağrı, anormal diş mobilitesi, nörosensoriyel bozukluklar ve mukozal şişlik veya eritem gibi spesifik olmayan belirti ve semptomlarla başvurabilir[20].

Hastalık ilerledikçe, hastalarda giderek azalan yaşam kalitesinin belirtileri görülmeye başlar. MRONJ'lu hastalarda sıklıkla ağrı, şişlik, eritem, apse oluşumu, sekestrum ve komşu yumuşak doku ülserasyonu gibi sekonder enfeksiyon belirtileri ile başvururlar. Hastalığın maksilla ve mandibulanın alveoler prosesinin ötesine ilerlemesi, kronik sinüzit semptomlarına, kutanöz fistül oluşumuna, nörosensoriyel eksikliklere ve patolojik kırıklara neden olabilir [198], [199].

MRONJ için bir evreleme sistemi 2009 AAOMS kılavuzunda tanıtıldı ve ardından 2014 kılavuzunda MRONJ'nin klinik ve radyolojik belirtilerinin tüm yönlerini daha doğru bir şekilde karakterize etmek için değiştirildi. Evreleme sistemi, akılcı tedavi kılavuzlarının oluşturulmasını kolaylaştırır ve MRONJ hastalarının prognozunu ve sonuçlarını değerlendirmek için veri toplamaya rehberlik eder. Kılavuzun yayınlanan 2022 güncellemesinde evreleme sistemi değiştirilmemiştir[197]. AAOMS'un 2014 kılavuzunda MRONJ, risk grubu, evre 0, evre 1, evre 2, evre 3 olmak üzere 5 ayrı gruba ayrılmıştır[6](Tablo 0).

2.20.1. Risk Grubu

IV veya oral antiresorbtif ilaçlarla tedavi edilen, belirgin nekrotik kemik bulgusu olmayan asemptomatik hastalar.

2.20.2. Evre 0

Klinik olarak nekrotik kemik bulgusu olmayan ancak aşağıdaki spesifik olmayan semptom veya klinik ve radyografik bulgular gösteren hastalar:

Bulgular;

- Odontojenik bir nedenle açıklanamayan diş ağrısı.

- Çenede temporomandibular eklem bölgesine yayılabilen künt kemik ağrısı.
- Maksiller sinüs duvarının inflamasyonu ve kalınlaşması ile ilişkili olabilen sinüs ağrısı.
- Nörosensöryel fonksiyon değişiklikler.

Klinik Bulgular;

- Kronik periodontal hastalıkla açıklanamayan diş mobilitesi.
- Ağız içi veya ağız dışı şişlik.

Radyolojik bulgular;

- Kronik periodontal hastalıkla açıklanamayan alveolar kemik kaybı veya rezorbsiyon
- Kemiğin trabeküler yapısında sklerotik değişiklikler ve çekim soketlerinde yeni kemik oluşumu olmaması
- Alveolar kemiği ve/veya çevreleyen bazal kemiği içeren osteoskleroz bölgeleri.
- Periodontal ligament aralığında daralma ve lamina dura'nın kalınlaşması, sklerozu [20].

2.20.3. Evre 1

Aseptomatik ve enfeksiyon/enflamasyon bulgusu olmayan ekpoz nekrotik kemik veya fistülü bulunan hastalar. Bu hastalar ayrıca, Evre 0 için bahsedilen alveolar kemik bölgesinde lokalize radyografik bulgularla başvurabilirler.

2.20.4. Evre 2

Enfeksiyon/inflamasyon bulgusu olan ekspoze nekrotik kemik veya fistülü bulunan hastalar. Bu hastalar semptomatiktir. Bu hastalar ayrıca alveolar kemik bölgesinde Evre 0 için belirtilen lokalize radyografik bulgularla başvurabilirler.

2.20.5. Evre 3

Enfeksiyon/inflamasyon bulgusu olan ekpoz nekrotik kemik veya fistülü bulunan hastalarda ek olarak aşağıdaki bulguları olan hastalar;

- Alveolar kemik bölgesinin ötesine uzanan ekspoz nekrotik kemik (mandibulada bazal kemiğe ve ramusa, maksillada maksiller sinüs ve zigoma)
- Patolojik fraktür
- Ekstraoral fistül
- Oro-antral, oro-nasal açıklık
- Mandibula alt kenarına veya sinüs tabanına kadar uzanan osteolizis.

Tablo 2. Amerikan Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Birliği (AAOMS) 2022 yılı osteonekroz evrelerine göre risk kategorileri[197]

MRONJ Evresi	Bulgular
Risk Grubu Hasta	Osteonekroz ile ilgili herhangi bir belirti yoktur. Bu hastalar antirezorbaktif veya antianjiyogenik ilaç kullanan hastalar olduğu için risk grubu olarak değerlendirilir.
Evre 0	Ekspoze kemik veya nekrotik kemik yoktur. Bu hastalarda spesifik olmayan sinüs ağrısı, diş ağrısı gibi semptomlar olabilir
Evre 1	Ekspoze kemik alanı vardır, fakat enfeksiyon yoktur. Bu sebeple bu hastalar çoğunlukla asemptomatiktir
Evre 2	Ekspoze kemik alanına ek olarak enfeksiyon mevcuttur. Ekspoze kemik bölgesinde eritem ve ağrı ile seyreden semptomatik evredir.
Evre 3	Bu safhada aşağıdaki durumlardan bir veya birkaç tanesi bulunabilir: • Nekrotik alan alt çenede mandibular kanalın altına doğru, üst çenede ise maksiller sinüs ve zigomanın üst bölgelerine doğru ilerlemiştir • Patolojik fraktür • Ekstraoral fistül • Oronazal veya oroantral açıklık

2.21. MRONJ Hastalarında Görüntüleme

MRONJ'nin radyografik bulguları genellikle spesifik olmamakla birlikte, tedavi planlamasına yardımcı olmak, hastalığın yaygınlığını belirlemek için radyolojik

görüntüleme yararlıdır [200], [201]. Hastalığın varlığını, yaygınlığını ve kemik nekrozun boyutunu belirlemek için, periapikal ve ortopantograf film gibi konvansiyonel filmlerin kullanılması önerilmektedir. Hastalığın erken evrelerinde konvansiyonel filmler ile trabeküler yoğunluğun artması veya azalması, osteoliz, mandibular kanal ve sinüs tabanında kortikal kemik kalınlaşması, periosteal kemik oluşumu, kemik sekestrum oluşumu ve patolojik kırıklar gibi bulgular tespit edilebilir[202], [203]. Bilgisayarlı tomografiler (BT) ve konik ışınlı bilgisayarlı tomografiler (KIBT) lezyonun boyutunu daha iyi tanımlayarak cerrahi planlamayı kolaylaştırır. Bu üç boyutlu görüntüleme yöntemleriyle görüntülenen bulguların çoğu konvansiyonel filmlere kıyasla daha erken evrede ve daha az bozulma ile görüntülenecektir.

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI), kemik iliği ve çevresindeki yumuşak dokulardaki değişiklikleri daha iyi değerlendirmek için kullanımı önerilmektedir. Yaygın bir erken MRI bulgusu, T1 ağırlıklı görüntülerde kemik iliği sinyal yoğunluğunda azalmadır. Sekonder enfeksiyon varlığında çevre yumuşak dokulardaki kalınlaşmalar, lenf nodu büyümesi MRI ile değerlendirilebilir[201], [203], [204].

Literatürde kemik sintigrafisinin kullanımı da değerlendirilmiş ve sıklıkla lezyon alanında artmış nükleotid tutulumu gösterilmiştir. Bununla birlikte, osteomiyelit veya periodontal hastalık gibi çok sayıda başka durum da çenelerde artan tutulum gösterebileceğinden, kemik taramalarının bulgularının genellikle spesifik olmadığına dikkat etmek önemlidir[205]–[207].

2.22. MRONJ Biyobelirteçleri

MRONJ'nin çoğunlukla antiresorptif tedavi kullanımı ile ilişkili olduğu göz önüne alındığında, literatürde serum C-terminal telopeptid (CTX) değerlerinin seviyelerini ölçerek prognozu tahmin etmek için önerilerde bulunulmuştur[208]. N-terminal telopeptid (NTX), kemik alkalın fosfataz ve osteokalsin dahil olmak üzere birkaç başka biyobelirtecinde MRONJ gelişimi ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür[209]. Ancak 2014 AAOMS kılavuzundan bu yana, kemik turnover belirteçlerinden uzaklaşma olmuştur. Klinik olarak karar vermek için hiçbir biyobelirteç doğrulanmamıştır ve bu belirteçlerin MRONJ riskini tahmin etmede etkili araçlar olarak değerlendirilmesinden önce sürekli araştırmalar ve prospektif çalışmalar gereklidir[6]. Anjiyogenez, VEGF aktivitesi, endokrin fonksiyon ve PTH ile ilgili biyobelirteçler daha yakın zamanda tanımlanmıştır.

Bu belirteçler araştırma aşamasındadır ve henüz klinik karar verme için doğrulanmamıştır[210]–[212].

2.23. MRONJ Önlenmesi

MRONJ tedavisinin zorluğu göz önüne alındığında risk altındaki hastalarda MRONJ gelişimini önlemeye yönelik stratejilerin belirlenmesine daha çok odaklanılmıştır. Bugüne kadar literatürde, hasta ve klinisyenin eğitimi, antirezorptif veya antianjiyojenik ilacın kesilmesi, iyi ağız hijyeninin sağlanması ve sürdürülmesi ve invaziv bir oral prosedürden önce veya sonra antimikrobiyal kullanımın dahil olduğu çok sayıda strateji önerilmiştir.

2.23.1. Dental Tarama

Antirezorptif tedaviye başlamadan önce hastalara kapsamlı bir dental taramanın yapılması gerekliliği ile ilgili literatürde makaleler mevcuttur. Dimopoulos ve arkadaşları yayınladıkları makalede antirezorbtif ilaç başlamadan önce yapılan dental taramanın MRONJ insidansında 3 kat azalmaya neden olduğunu bildirmektedir[213]. Bonacina ve arkadaşları MRONJ açısından risk altındaki hastalarda yapılan dental taramalar sonrası hiçbir hastada MRONJ gelişmediğini bildirirken[214], Vandone ve arkadaşları MRONJ insidansında 2 kat azalma olduğunu göstermişlerdir[215]. Bir tarama yapıldığında, klinisyen ağız içi enfeksiyon odaklarını olan veya risk taşıyan bölgeleri belirlemeli, gerekli tüm tedavileri yapmalı ve hastalık gelişme riskini azaltmak için tüm uygun önleyici tedbirleri uygulamalıdır. Hastanın motivasyonu dikkate alınarak topikal florür uygulaması, klorheksidin antiseptik gargaralar ve düzenli hijyen kontrol randevuları gibi koruyucu önlemler planlanmalıdır. Ancak, diş çekimi gibi invaziv cerrahi prosedürler uygulanacaksa, antirezorbtif veya antianjiyojenik ilaçların başlanmasından önce yumuşak ve sert doku iyileşmesine izin vermek için ideal bekleme sürelerini öneren prospektif bir çalışma bulunmadığına dikkat edilmelidir[6], [21]. Bu nedenle, invaziv oral cerrahiyi takiben antirezorptif veya antianjiyojenik tedaviye başlama kararı verirken, klinisyenlerin tedaviyi geciktirmenin sistemik etkilerini göz önünde bulundurması, zarar değerlendirmesi yapması gereklidir[6], [21].

2.23.2. İlaç Tatili

Önleyici bir önlem olarak ilaç tatili, oral cerrahi prosedürlerden önce ve/veya sonra oral antiresorptif tedavinin geçici olarak kesilmesi olarak tanımlanır. 2009 yılında, AAOMS tarafından revize edilen kılavuzda, MRONJ gelişme riskini en aza indirmek için diş çekiminden önce ve sonra 3 ay süreyle ilaç tatili önerilmiştir[216]. Bunu takiben, 2011 yılında Amerikan Dişhekimleri Birliği (ADA) tarafından yapılan bir tavsiye, nispeten daha düşük kümülatif oral bisfosfonat veya denosumab dozları alan hastaların antiresorptif tedaviye devam edebileceğini belirterek ilaç tatili süresini 2 yılın altında olacak şekilde tanımlamıştır[217]. En son, AAOMS tarafından hazırlanan 2014 klavuzunda, yapılan tavsiye Damm ve Jones tarafından yapılan çalışmaya dayanmaktadır. Makalede bifosfonatların serumda 2 haftalık yarı ömre sahip olduğu tahmin edilerek, yeterli olması için invaziv bir prosedürden önce ve sonra 2 aylık bir ilaç tatili önermektedir[218]. Bununla birlikte, bisfosfonatların kemik matrisine güçlü bir afiniteye sahip olduğunu ve günümüzde yaygın olarak kullanılanların 10 yıldan daha uzun bir yarı ömre sahip olduğunun bilinmesi önemlidir[219].

Bisfosfonatların, kesildikten sonra bile uzun süreli etkileri olduğu teorize edilmiş olsa da, bu etkinin süresini veya yüksek kırık riski olan hastalarda ilaç tatilinin güvenliğini değerlendiren çok az çalışma vardır. Fracture Intervention Trial Longterm Extension çalışması, 5 yıl daha alendronat veya plasebo almadan önce 5 yıl boyunca alendronat almış 1199 hastayı randomize etti. Bu çalışma, tedavi grubunda klinik olarak tanınan vertebral kırık riskinin azaldığını bulmuştur (plasebo için %5,3 ve alendronat için %2,4), ancak vertebral olmayan kırık riski anlamlı ölçüde farklı değildir[220]. Benzer şekilde, 3 yıl zoledronik asit aldıktan sonra 3 yıl daha zoledronik asit veya plasebo kullanımını değerlendiren başka bir çalışma, vertebral kırık riskinin plasebo grubunda daha yüksek olduğunu göstermiştir (zoledronik asit için %3,0 ve plasebo için %6,2), ancak vertebral olmayan kırık riski anlamlı olarak farklı değildir[221]. Bu bulgular göz önüne alındığında, ilaç tatillerinin kırık riski yüksek hastalarda (özellikle vertebra kırıkları) risksiz olmadığına dikkat etmek önemlidir.

Malignite nedeniyle tedavi edilen hastalarda ilaç tatilinin etkinliğini değerlendiren az sayıda çalışma mevcuttur. Bu verilerin yokluğunda, klinisyenlerin, MRONJ'nin önlenmesi için ilaç tatili önermeden önce, hastanın yaşam kalitesi üzerindeki etkileri göz önünde bulundurmaları gereklidir[6].

Denosumabın monoklonal bir antikör olduğu düşünülürse kemiğe afinitesi yoktur ve yaklaşık bir aylık nispeten düşük yarılanma ömrüne sahiptir[222]. Bu nedenle, osteoporoz veya kanser tedavisi için denosumab kullanan hastalarda ilaç tatili tavsiyesi biyolojik olarak anlamlı olacaktır. Mevcut kanıtlar denosumab için ilaç tatilinin MRONJ'nin önlenmesindeki etkinliğini ispatlamaz, bu nedenle ilaç tatili kesin olarak tavsiye edilemez[223]. Benzer şekilde, antianjiyojenikler için ilaç tatilinin etkinliğini değerlendiren az sayıda çalışma vardır, bu nedenle önleyici etkinliğine ilişkin sağlam sonuçlara varmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır[6], [224].

2.23.3. Lokal ve Sistemik Antimikrobiyal Kullanımı

MRONJ riski taşıyan hastalarda invaziv dental prosedürlerden önce veya sonra verilen profilaktik topikal ve/veya sistemik antimikrobiyal tedavinin etkinliğini değerlendiren az sayıda çalışma mevcuttur. Montefusco ve arkadaşları diş çekiminden 1 gün önce ve/veya 3 gün sonraya kadar amoksisilin-klavulanat veya levofloksasin kullanımını değerlendirdikleri retrospektif çalışmada, antibiyotik kullanımının MRONJ gelişim riskini azaltabileceğini göstermişlerdir[225].

2.24. MRONJ Tedavisi

Bu patolojinin ilerleyici doğası ve yaşam kalitesi üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, tedavi hedefleri; mukozal kapanmayı sağlamak, kemik nekrozunu durdurmak, sekonder enfeksiyonu önlemek ve yönetmek, ağrıyı ortadan kaldırmak ve yaşam kalitesini iyileştirmektir[6], [21]. MRONJ tanısı olan hastaların tedavisi, maksillofasiyal cerrahi topluluğu içinde tartışmalı bir konu olmuştur.

Amerikan Oral ve Maksillofasiyal Cerrahlar Derneği (AAOMS)'nin ilk kez 2009 yılında olmak üzere daha sonra 2014 ve 2022 yılında güncellenen kılavuzunda MRONJ'un evreleri dikkate alınarak tedavi protokolü belirlenmiştir[6], [197], [216].

2.24.1. Risk Grubu İçin Tedavi Yaklaşımı

Antirezorptif veya antianjiyojenik tedavi alan veya almakta olan, osteonekroz bulgusu olmayan hastalara tedavi uygulanması gerekli değildir. Bu gruptaki hastalar ideal oral hijyen konusunda bilgilendirilmelidir. MRONJ oluşma riski, MRONJ'un semptomları konusunda eğitilmeli ve rutin dental kontrollerini yaptırmaları belirtilmelidir[6].

2.24.2. Evre-0 Grubu İçin Tedavi Yaklaşımı

Bu evredeki hastalara semptoma yönelik tedavi uygulanır. Diş çürüğü ve periodontal hastalık gibi lokal risk faktörleri elimine edilir. Kronik ağrı için analjezik, enfeksiyon kontrolü için antiseptik ve antibiyotik kullanımı önerilir. Hastalığın ileri evrelere ilerleme durumu nedeniyle bu hastalar yakın takip altına alınmalıdır [6].

2.24.3. Evre-1 Grubu İçin Tedavi Yaklaşımı

Semptom göstermeyen nekrotik kemik bölgeleri genellikle tedavi gerektirmezler. Bu hastalarda %0,12'lik klorheksidin ile günde üç kez ağız boşluğunun irrigasyonu önerilmelidir. Çoğu hastada ilaç tedavisinin, cerrahi tedavi ile desteklenmesi başarılı sonuçlar sağlar. Ancak flep açılması osteonekroz alanlarının tekrar gelişmesine neden olabilir. Cerrahi işlemin ilacı reçete eden hekim ile konsültasyon yapılarak ilaç tatili ile yapılması değerlendirilmelidir[6].

2.24.4.Evre-2 Grubu İçin Tedavi Yaklaşımı

Bu hastalarda antibiyotik ve gargaraların birlikte kullanılması faydalı sonuçlar vermektedir. Klinik tabloya sekonder enfeksiyon bulgularının dahil olması nedeniyle bu hastalarda antibiyotik kullanımı önerilmektedir. MRONJ lezyonlarından yapılan kültürlerde mikroorganizmanın penisilin grubu antibiyotiklere duyarlı olduğu bildirilmiştir. Penisilin grubu antibiyotiklere alerjisi olan hastalarda ise metranidazol, klindamisin, kinolon, doksisisiklin grubu antibiyotikler de kullanılabilir. Ağrı ve enfeksiyon kontrol altına alındıktan sonra ilacı reçete eden hekimin de onayı alınarak MRONJ'un cerrahi tedavisi medikal tedavi ile uygulanabilir. Cerrahi işlem olabildiğince travmatik yapılmalı ve mümkünse yara ağızları primer olarak kapatılmalıdır[6].

2.24.5. Evre-3 Grubu İçin Tedavi Yaklaşımı

Bu evrede tabloya fistül, osteolizis veya fraktür gibi daha kritik durumlar eşlik edebilir. Hastanın sistemik durumu cerrahi işleme elverişli değil ise sadece medikal tedavi ile hastanın takipleri yapılabilir. Hastanın onkoloğu ile konsültasyon yapılarak MRONJ'un medikal tedavisi ile birlikte marjinal veya segmental rezeksiyonu da içeren cerrahi tedavi planlanabilir[6].

2.25. MRONJ Hastalarında Antibakteriyel Tedavide Dikkat Edilmesi Gereken Unsurlar

MRONJ'un medikal tedavisinde penisilin grubu antibiyotikler ilk sırada yer almaktadır[158]. MRONJ tedavisi için başlangıçta 500 mg penisilin günde 4 kez olmak üzere önerilmektedir. Gerekli durumlarda enfeksiyon kontrol altına alınana kadar doz ve süre arttırılabilir. Penisilin iyi tolere edilebilmesi, direnç gelişim olasılığının az olması uzun süreli kullanımına olanak sağlar[158].

Penisilin grubuna alerji veya direnç söz konusu olduğu zaman aşağıda belirtilen antibiyotik seçenekleri kullanılabilir.

- Günde 3 kez 500 mg metronidazol yukarıda belirtilen antibiyotiklere tek başına cevap alınamadığı vakalarda antibiyotik rejimine en fazla 10 gün süre ile ekilebilir.
- Günde 1 kez 500 mg olarak levofloksasin kullanılabilir. Ancak levofloksasinin uzun dönem kullanımı toksisiteye neden olabilir.
- Günde 1 kez 100 mg olmak üzere doksisisiklin kullanılabilir [158].

2.26. MRONJ Tedavisinde Medikal / Cerrahi Tedaviye Destek Tedaviler

MRONJ tedavisinde medikal ve cerrahi tedavilerine ek olarak tedavi sürecini desteklemek ve iyileşmeyi hızlandırmak için alternatif tedavi yöntemleri önerilmektedir[1], [226]. Hiperbarik oksijen tedavisi (HBO), paratiroid hormon (PTH), trombositten zengin plazma (PRP), ozon tedavisi ve düşük doz lazer tedavisi (DDLTL) literatürde önerilen alternatif tedavi yöntemleridir.

Hiperbarik oksijen veya ozon tedavisi gibi yardımcı tedavilerin kullanımının MRONJ tedavisinde başarılı olduğunu gösteren çok az kanıt vardır. Daha büyük çalışmalar ve kontrollü deneyler yapılması gereklidir[227], [228].

Literatürde paratiroid hormonunun rekombinant bir formu olan teriparatid'in MRONJ hastalarının tedavilerinde kullanılan yayınlar mevcuttur. Teriparatid onkoloji hastalarında kontrendike olsa da, kemik birikimini indükleyerek kemik mineral yoğunluğunu arttırdığı gösterilmiştir[229]. Teriparatid, osteoporotik hastalarda MRONJ tedavisine yardımcı olarak umut vaat etmektedir[230].

E vitamini ve pentoksifilinin standart MRONJ tedavilerine ek olarak kullanımı sadece vaka çalışmalarında bildirilmiştir. E vitamini ve pentoksifilinin randomize, prospektif,

plasebo kontrollü bir çalışması devam etmektedir ve bu tedavi yöntemi hakkında ek bilgi sağlayacaktır [231].

Yapılan bir çalışmada, multiple myeloma hastalarında diş çekimi sonrası görülen MRONJ vakalarında yapılan cerrahi debridman sonrası PRP uygulaması ile olumlu sonuçlar aldıklarını söylemişlerdir[232]. Benzer olumlu sonuçları Curi ve ark.'nın ileri evre MRONJ lezyonlarına parsiyel rezeksiyonu takiben PRP uyguladıkları çalışmalarında bildirilmiştir[233].

Etkinliği kontrollü bir ortamda henüz doğrulanmayan diğer tedaviler arasında, yalnızca retrospektif veya vaka serilerinde etkili olduğu gösterilen düşük doz lazer tedavisi(DDLT) yer alır. MRONJ tanısı olan 20 hasta ile yapılan çalışmada, 904 nm dalga boyunda uygulanan lazer biyostimülasyonun lezyonların boyutu, şişlik ve ağız kokusu üzerine olumlu etkileri olduğu rapor edilmiştir[234].

2.27. Enamel Matriks Proteinleri

20 yıl kadar önce İsveç'te Lars Hammarström, Sven Lindskog ve Leif Blomloff'un da aralarında bulunduğu bir araştırmacı ekibi, enamel matriks proteinlerinin (EMP) periodontal rejenerasyon yeteneğine sahip biyolojik bir ajan olarak kullanılabileceğini keşfettiler[22], [23]. Yaptıkları gözlemler, EMP'lerin periodontal dokuların rejenerasyonunda rol oynayabileceği hipotezine yol açtı. Sonraki yıllarda EMP'lerin Hertwig'in epitel kök kını tarafından salgılanan ve periodontal rejenerasyonu teşvik edebilen proteinler olduğunu gösteren bir dizi biyolojik ve klinik çalışma yapıldı[235]–[237]. Gelişmekte olan domuz dişlerinin mine tabakasından elde edilen saflaştırılmış fraksiyona Enamel Matriks Türevi (EMD) adı verildi.

EMD'nin ana bileşenin %90'ından fazlasını hidrofobik protein ailesi olan amelogeninler oluşturur[24]. EMD'nin yapısında bulunan diğer proteinler; ameloblastin (amelin), amelotin, apin ve çeşitli proteinazlardır[25], [26]. Ana bileşeni oluşturan amelogeninler, prolinden zengin peptid ailesine ait olup, 5- kDa tyrosine-rich amelogenin peptit(TRAP) ve 6-8-kDa leucine-rich amelogenin peptit (LRAP) olmak üzere iki ayrı izorformda bulunabilir[238].

EMD'nin transkripsiyon faktörlerinin, büyüme faktörlerinin, sitokinlerin, hücre dışı matris bileşenlerinin ve kemiğin yeniden şekillenmesinin düzenlenmesinde yer alan diğer moleküllerin ekspresyonuna aracılık ederek birçok hücre tipinin davranışı üzerinde

önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir[37], [239]. Yapılan çalışmalarda, EMP'nin kemik metabolizmasında mineralizasyon aktivitelerinde rol aldığı ve bone sialoprotein (BSP), osteokalsin (OCN), Tip 1 kolajen (COL1), alkalen fosfataz (ALP) gibi kemiğe özgü belirteçlerin indüksiyonunda etkili olduğu bildirilmiştir[240]. Bununla beraber farklı çalışmalarda ise, EMP'nin kemik ile ilişkili markerları downregule ettiği gösterilmiştir[241], [242]. Kemik metabolizması üzerindeki etkisi tam olarak açığa kavuşturulamamakla birlikte, bu etkilerin farklı preparatların hazırlanmasına ve hazırlanan preparatlardaki bone morfojenik protein (BMP) ve transforming growth faktör beta (TGF- β) içeriklerine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda, hazırlanan preparatların heterojenliğinin ve farklı izoform içeriklerinin de etkili olabileceği bildirilmiştir[243], [244].

Mine matris türevleri, Emdogain adı altında, enjektabl hazır kullanılabilir preparatlar halinde piyasada mevcuttur.

2.27.1. Emdogain

Emdogain (EMD;Institut Straumann, Basel, İsviçre); EMP'nin liyofilize formu olarak hazırlanmış ticari bir preparattır. Emdogain'in tescilli yapısı nedeniyle prosedür adımları, reaktifler, belirli diş tipi kaynakları ile ilgili çok az ayrıntı halka açıktır. Emdogain, periodontal ligament (PDL), sement ve alveolar kemik dahil olmak üzere periodontal rejenerasyonu indükleyebilen bir ajan olarak kullanılmaktadır[23]. Emdogainin klinik kullanım amacı, periodontal ligament hücrelerinin çoğalmasını ve yara bölgesine göçünü arttırarak periodontal yara rejenerasyonunu sağlamaktır. Emdogain, uygulandığı ortama büyüme faktörlerini salgılayarak, periodontal ligament hücrelerinin gelişimini ve metabolizmasını, güçlendirmektedir[28]. Materyalin piyasadaki ilk şekli liyofilize formda sunulmuş, günümüzde ise enjektör içinde visköz kıvamda jel şeklinde bulunmaktadır.

Emdogainin ana bileşeni, toplam protein içeriğinin %90dan fazlasını oluşturan, tek bir genin ekspresyonunda kontrol edilen hidrofobik proteinlerin bir ailesi olan amelogeninlerdir [24]. Emdogain içerisinde amelogenin hem yüksek molekül ağırlıklı (TRAP) hem de düşük molekül ağırlıklı (LRAP) protein fraksiyonlarını barındırır[245]. Geri kalan %10; prolinden zengin nonamogeninler, tuftelinler ve diğer serum proteinleridir[24]. Bu proteinler, enamelın (ENAM), ameloblastin (AMBN), amelotin (ATMN), apin (ODAM) ve belirli proteinazlardan, yani MMP-20'den oluşur[246].

Emilebilir bir ürün olarak tanımlanan Emdogain, viskoz bir propilen glikol aljinat (PGA) taşıyıcı içinde dondurularak kurutulmuş enamel matriks proteinleri olarak üretilir. Asidik ortamda mine matriks türevlerinin PGA içinde çözünerek, oldukça kıvamlı bir hal aldığı, nötral bir ortamda ve vücut sıcaklığında ise bu kıvamın azaldığı ve PGA'nın ortamdan uzaklaşarak, mine matriks türevlerinin açığa çıktığı belirtilmiştir[247]. Taşıyıcı olarak kullanılan PGA'nın 2 gün içinde ortamdan uzaklaştığı emdogainin ise en az 2 hafta ortamda kaldığı belirtilmiştir[27]. Yara yüzeyine uygulanan emdogain jel, yaklaşık bir haftadan fazla süre çözünmeden bir protein matriksi şeklinde kalmaktadır[248].

Emdogain ile ilgili onlarca yıldır birikmiş bilgi olmasına rağmen, çeşitli hücre tiplerinde ve dokularda bireysel bileşenlerin spesifik rolleri tam olarak anlaşılamamıştır[23].

2.27.2. Emdogain Kullanım Güvenliği

Emdogainin dünya çapında bir milyondan fazla hasta üzerinde test edilen çeşitli araştırmalarla klinik olarak güvenli bir ürün olduğu ve yara iyileşmesi üzerinde hiçbir olumsuz etkisi olmadığı gösterilmiştir[249], [250]. Emdogain kullanımını içeren çok sayıda klinik çalışma, doğrudan Emdogainin neden olduğu herhangi bir yan etki veya alerjik reaksiyon bildirmemiştir[237], [251]. Emdogainin klinik tedavide kullanımı bu nedenle oldukça yaygındır ve kanıta dayalıdır. Emdogainin biyoyumluluğu amelogenin ailesinin, insan ve domuz da dahil olmak üzere çeşitli türlerde güçlü bir şekilde korunan genler tarafından kodlanması gerçeğinden kaynaklanmaktadır[237], [251]. Ayrıca Emdogainin periodontal tedavide kullanımı Health Canada tarafından onaylanmıştır[252].

2.27.3. Emdogainin Hücresel Etkileri

Emdogain, hücre iskeletinin temel proteinlerinden aktinin polimerizasyonunu uyarır ve epitel hücre adezyonunu destekler[253], [254]. Ancak, Emdogainin epitel hücre proliferasyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir. Böylece Emdogainin epitel hücreleri üzerinde sitostatik bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır[253]. Emdogain, epitelyal hücre DNA-sentezini azaltır[29]. Ancak Emdogain, tüm epitel hücreleri üzerinde aynı etkiye sahip değildir. Emdogain stimülasyonundan sonra, Malassez'in epitel hücre kalıntılarında DNA sentezinin önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir[254]. Hücre dışı proteinlerin ekspresyonu açısından Emdogain uygulaması, trombosit türevli büyüme faktörünün (PDGF) salgılanmasında önemli ölçüde artışa neden olmaktadır. Benzer

şekilde, Malassez'in epitel hücre artıklarından türetilen epitel hücrelerinin Emdogain ile tedavisi, osteopontin (OPN) sentezinde artışa neden olur[24], [254].

Emdogain uygulaması, insan diş eti fibroblastlarının proliferasyonunu doza bağımlı bir şekilde uyardığı ve DNA sentezini arttırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmektedir[29]. Emdogain fibroblastların tutunmasını ve yayılmasını da uyarır. İlginç bir şekilde bu etki, dişeti fibroblastlarına kıyasla PDL fibroblastlarında daha belirgindir. Ayrıca, integrinlerin Emdogain ve fibroblastlar arasındaki etkileşimde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur[30], [255]. Emdogainin insan diş eti fibroblastları tarafından TGF- β 1 salınımını uyardığı gösterilmiştir[30]. Emdogain ayrıca insan diş eti fibroblastları tarafından hem hyaluronan hem de OPN sentezini uyarır[31]. Emdogain, insan dişeti fibroblastlarındaki alkalen fosfataz seviyelerini başlangıça kıyasla önemli ölçüde uyardığı, ancak bu seviyelerin, insan PDL fibroblastları ile karşılaştırıldığında belirgin şekilde daha düşük olduğu gösterilmiştir[30].

Emdogain, insan kemik iliği stromal hücrelerinin proliferasyonunu doza bağımlı bir şekilde arttırır[32]. Emdogain uygulamasının insan osteoblastik hücrelerinin (Saos-2) proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir[33]. Benzer şekilde, fare preosteoblastik hücre dizisine (MC3T3-E1) Emdogain uygulandığında, önemli ölçüde artmış bir ALP aktivitesi ve tip I kolajen, bone sialoprotein (BSP), osteocalcin (OC), osteoprotegrin (OPG) ve IGF-1 mRNA ekspresyonunda yukarı yönlü regülasyon tespit edilmiştir[34].

Kemik homeostazının RANKL/OPG sistemi ile ilgili olarak, emdogainin OPG ve RANKL ekspresyonunu modüle ederek bu sistem üzerinde bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Birkaç çalışma RANKL'de bir yukarı regülasyon olduğunu öne sürerken[256], çoğu çalışma RANKL'de aşağı yönde regülasyon ve OPG'de yukarı yönde regülasyon olduğunu göstermiştir[37]. Bu, Emdogainin RANK-RANKL-OPG sistemini büyük olasılıkla kemik apozisyonuna doğru modüle ettiğini düşündürür. EMP'ler tarafından yukarı yönde regüle edilen bazı büyüme faktörleri ve sitokinlerin doğrudan OPG'yi yukarı yönde regüle ettiği ve RANKL üretimini aşağı yönde regüle ettiği dikkate alınmalıdır. Bu sebeplerle, EMP'ler, kemiğin yeniden şekillenmesinin düzenlenmesinde dolaylı olarak yer alıyor gibi görünmektedir[37].

Emdogainin osteojenik hücreler ve onların progenitörleri üzerindeki hücre proliferasyonu etkisinin, artan hücre farklılaşması ve olgunlaşma durumu ile azaldığı görülmektedir[37]. Emdogain'in, periodontal ligament fibroblastları, dişeti fibroblastları ve osteoblast

benzeri hücreler üzerindeki etkisiyle ilgili yapılan çalışmalarda, hücre çoğalmasını ve migrasyonunu arttırarak yara iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir[257]. Emdogain ve özellikle aracı PGA, antibakteriyel özelliklere sahiptir. PGA'nın antibakteriyel etkisi uzun yıllardır bilinmektedir[258]. Emdogain hücre dışı matris moleküllerinin (glikoproteinler ve proteoglikanlar) sentezini de arttırır[259].

Emdogainin farklı fraksiyonlarının analizi ve biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesi ile ilgili literatürde çok az çalışma vardır. Bir çalışma, kültürlenmiş insan PDL hücrelerinin farklı Emdogain fraksiyonları ile tedavisini incelemiştir. Hem yüksek hem de düşük molekül ağırlıklı proteinlerin Emdogainin biyoaktif etkisine katkıda bulunduğunu ve Emdogainin farklı fraksiyonları ile farklı bir sitokin salınım profili olduğunu göstermişlerdir[260]. Hem vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) hem de IL-6 salgılanması, yalnızca 20 kDa'dan büyük EMD bileşenleri tarafından uyarılmaktadır[260]. IL-6 eksikliği olan farelerde gecikmiş bir cilt yarası iyileşmesinin gösterildiği çalışmada, IL-6'nın yara iyileşmesi sırasında çok önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir[261]. Gözlenen bu etki, amelogeninin mikrovasküler endotel hücreleri üzerindeki proliferatif aktivitesini açıklayabilir[243]. Klasik inflamatuvar sitokinler, örneğin IL-1 β ve IL-6, yara iyileşmesinin inflamatuvar tepkisi sırasında erken salınır ve VEGF gibi diğer sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin üretimini uyarak inflamasyona, doku oluşumuna ve yeniden şekillenmeye yol açan bir dizi moleküler olay başlatır. Öte yandan, düşük molekül ağırlıklı bileşenler, hücre proliferasyonunu ve Monosit kemoatraktan protein 1 (MCP-1) ve IL-8'in salgılanmasını arttırırken, aynı anda IL-4 salınımını azaltır[260]. Kashefimehr ve arkadaşları mekanik debridman ile birlikte uygulanan Emdogainin peri-implant mukozitis hastalarındaki etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, emdogain uygulanan çalışma grubunda üç aylık takiplerde belirgin klinik iyileşme ve peri-implant sıvıdaki IL-17A ve IL-6 seviyelerinde anlamlı derecede azalma gözlemlenmiştir[38].

2.27.4. Emdogain ve Yara iyileşmesi

Emdogainin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri, bazı yazarların klinik sonuçlardaki iyileşmeyi kısmi olarak değerlendirmelerine rağmen önemlidir. Periodontal ligament hücrelerinin, dişeti fibroblastlarının ve bir osteosarkom hücre hattının (MG-63) emdogain ile tedavisi, yara iyileşme oranlarının artmasına neden olmuştur[257]. Bir in-vitro yara

iyileşme modeli, Emdogainin yara kenarındaki periodontal ligament hücre göçünü önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir[262].

EMD'nin insan mikrovasküler endotel hücreleri (HMVEC) üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Düşük emdogain konsantrasyonları, HMVEC proliferasyonunun ve kemotaksinin önemli ölçüde uyarılmasına neden olmuştur[35]. Ayrıca, test edilen tüm dozlar anjiyojenezi artırmıştır[35]. Benzer şekilde, emdogaine maruz kalan yetişkin insan dermal fibroblastlarında salgılanan VEGF'de önemli bir artış gözlenmiştir[36]. Emdogainin ayrıca fibroblastlardan ve insan mikrovasküler endotel hücrelerinden MMP-2 salınımını da önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir[36]. Emdogain muhtemelen endotel hücrelerinin sayısını artırarak vaskülarizasyonu teşvik etme eğilimindedir[37].

2.27.5. Emdogainin Bakteriler Üzerindeki Etkileri

Kronik periodontitisli 24 hastanın dental bakteri plağını kullanan çalışma, EMD'nin toplam bakteri plağı canlılığını %46 oranında azalttığını, EMD'nin PGA ile birleştirildiğinde bakterilerin yalnızca %21.4'nin hayatta kaldığını gösterdi[23]. PGA taşıyıcı tek başına kullanıldığında, plak bakterilerinin yalnızca %19,6'sının hayatta kaldığı gösterildi. Emdogainin (EMD+PGA) anti bakteriyel etkiye sahip olduğu ve PGA'nın bu özelliğe büyük katkı sağladığı ileri sürülmektedir. Emdogainin gram negatif periopatojenlerin (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Prevotella intermedia*) büyümesi üzerindeki etkisini değerlendiren bir in vitro çalışma, emdogainin bu mikroorganizmaların büyümesi üzerinde belirgin bir inhibitör etkisi olduğu söylenmiştir[39]. Emdogainin anti bakteriyel etkisi ve PGA'nın bu etkiye en büyük katkısı, diğer bağımsız yazarlar tarafından daha da doğrulanmıştır[40]–[42].

2.28. Emilebilir Kolajen Sünger

Kolajenin süngerlerin kullanımı doku mühendisliği alanında gittikçe artmaktadır. Bunun nedeni kolajen süngerlerin biyouyumlu olması, biyolojik olarak rezorbe olabilir olması ve hücre dışı matris oluşturmak için hücre penetrasyonunu arttırmasıdır[263]. Emilebilir kolajen süngerin bone morfolojik protein(BMP) gibi biyomedikaller için taşıyıcı olarak kullanılabileceği literatürde bildirilmiştir[264]. Oh ve arkadaşları zoledronik asit verdikleri ratlarda çekim soketine uygulanan BMP'nin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında, emilebilir kolajen süngerin BMP için taşıyıcı olarak kullanılabileceğini ve çekim soketi içerisinde iskele görevi gördüğünü açıklamışlardır[265].

2.29. MRONJ ve Emdogain

MRONJ'un gelişimi ile ilgili pek çok teori sunulmuş olmasına rağmen, patofizyolojisi halen tam olarak aydınlatılamamıştır[266]. Bununla birlikte bakteriyel enfeksiyonun MRONJ'un patofizyolojisinde önemli bir etken olduğu düşünülmektedir. Normal olarak oral mikroflorada baskın patojen olan *Aktinomiçes Israeli*, MRONJ vakalarında yapılan histopatolojik incelemelerde çok yüksek oranda izole edilmektedir[267], [268]. Mukoza bütünlüğünün bozulmasıyla birlikte *Aktinomiçes*lerin kemiğe yerleşerek kemikte osteomyelit benzeri bir tabloya sebep olduğu ve enfeksiyona bağlı osteonekroz oluşturduğu düşünülmektedir[269]. Aynı zamanda, MRONJ hastalarının, bifosfonat kullanan ama osteonekroz gelişmeyen hastalar ve sağlıklı kontrollerin dahil edildiği bir başka çalışmada, oral mikrobiyata kompozisyonunun benzer olduğu ve arada istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı da bildirilmiştir. Oral bakteriyel kompozisyonun daha çok sistemik lökositler ile ilişkili olabileceği düşünülmüş, bu nedenle oral mikrobiyatanın osteonekroz gelişiminde direkt etken olmadığı ancak konak cevabına etki eden bir faktör olabileceği düşünülmüştür[270].

Oral kavitenin sahip olduğu geniş mikroflora, aseptik şartları sağlamanın mümkün olmaması, alveolar kemiğin yapım ve yıkım hızının çok yüksek olması ve çene kemiklerindeki travmaya yatkınlığın, osteonekroz riskini artırdığı düşünülmektedir. Çene kemiklerinin iskelet sisteminden farklı olarak dişler aracılığı ile de sürekli oral kavite ile ilişki içinde olması diğer kemiklere oranla çene kemiklerinde osteonekroz görülme ihtimalini arttıran başka bir faktör olarak belirtilmektedir[93], [269].

Zhang ve arkadaşları, IL-17 bağlantılı T helper (TH) 17 hücrelerinin, MRONJ mukozasındaki M1 ve M2 tipteki makrofaj oranı ile ilişkili olduğunu, IL-17'nin M1 makrofaj polarizasyonunu STAT-1 yolağı üzerinden arttırdığını ve MRONJ mekanizmasında bu yoldan etkili olduğunu göstermiştir. IL-17 aktivitesindeki azalmanın, yüksek olan M1/M2 makrofaj oranını da azalttığını ve bu sayede MRONJ benzeri lezyonların azaldığını bildirmişlerdir[14].

MRONJ'un patofizyolojisindeki başka bir etkenin de anjiyogenezin engellenmesi olduğu düşünülmektedir. Anjiyogenez, endotelial hücrelerin büyümesini, göç etmesi ve farklılaşmasını kapsayan bir süreçtir. Osteonekroz klasik olarak damarsal beslenmenin yani kanlanmanın bozulması veya avasküler nekroz olarak kabul edilir ve bu nedenle nekrozun patofizyolojisinde anjiyogenezin engellenmesi hipotezi

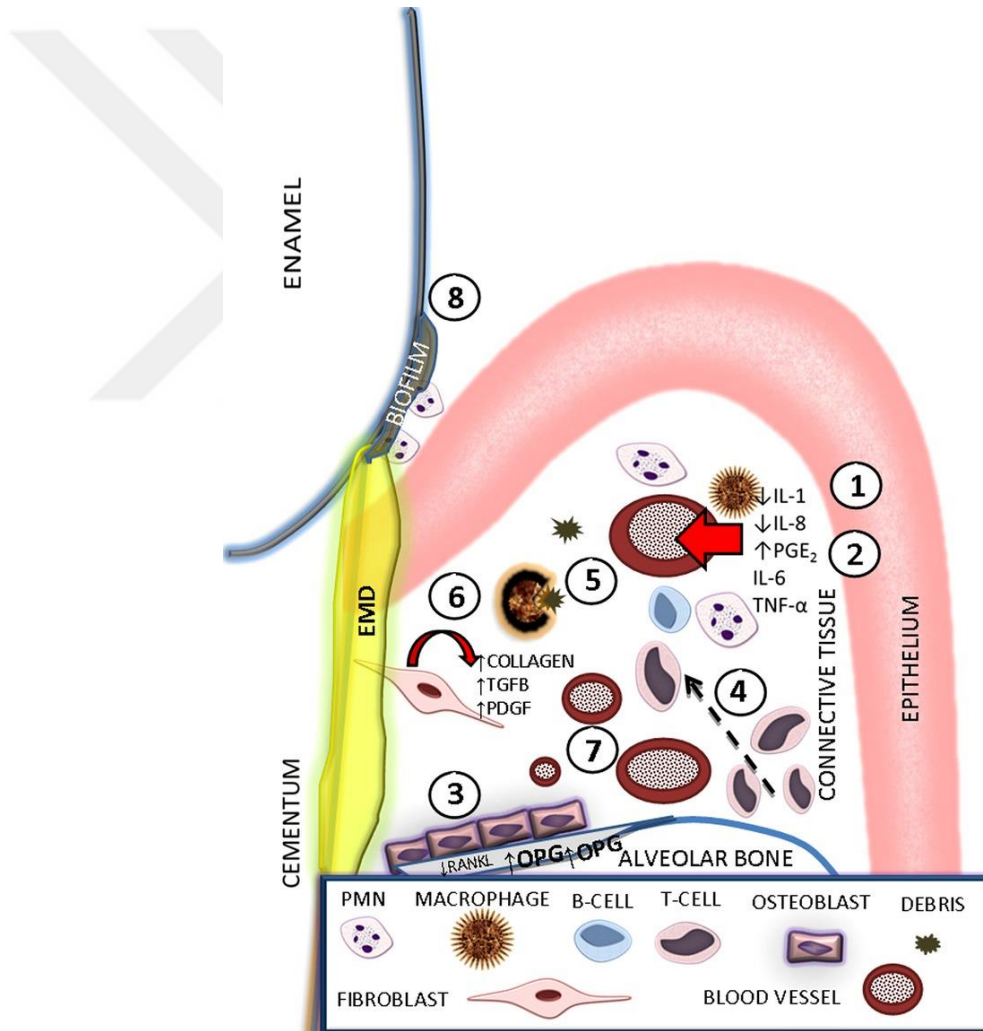
desteklenmektedir[271], [272].). Yapılan in-vitro çalışmalarda, zoledronik asitin anjiyogenezisi azalttığı bildirilmiştir[101]. Zoledronik asit ile tedavi gören onkoloji hastalarında yapılan çalışmalarda, dolaşımda vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) düzeyinin azalmış olduğu rapor edilmiştir.

Yumuşak doku toksisitesinin de MRONJ'un patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bifosfonatların kemikte belirli bir konsantrasyona ulaştıktan sonra kemiği örten yumuşak dokuda sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir[273]. Çeşitli çalışmalarda, bifosfonat uygulanan oral epitel hücrelerinin de içinde olduğu çeşitli hücre tiplerinde, hücre ölümünün arttığı ve hücre çoğalmasının azaldığı bildirilmiştir[274], [275]. Ağız yoluyla alınan bifosfanatların gastrointestinal sistem üzerindeki yan etkileri ve ağızda ülser lezyonlar oluşturması, bu ilaçların yumuşak doku toksisitesine neden olduğu görüşünü desteklemektedir. Alveol kemiğinde biriken bifosfonatın sitotoksik etki oluşturması nedeniyle yumuşak doku bütünlüğünün bozulmasıyla yara iyileşmesinin gerçekleşmediği ve böylece açığa çıkan çene kemiğinde sekonder enfeksiyonların geliştiği ve ilerleyen dönemde de osteonekroz meydana geldiği düşünülmektedir[273], [274].

Emdogainin oral bölgede kullanıldığı çalışmalar incelendiğinde, Emdogainin yara yeri iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerini bildiren raporlar bildirilmiştir. Maymon-Gil ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada, anterior dişsiz maksillada krestal insizyon yapılarak mukozal yara yeri oluşturulmuş ve emdogainin iyileşme üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda emdogain uygulanan bölgelerde, kan damarları ve kolajen miktarında belirgin bir artış gözlenmiş ve aynı zamanda emdogainin TGF- β 1, TGF- β 2, VEGF, MMP-1, interlekin-1 beta (IL-1 β), versican ve fibronektin ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir[276]. Benzer şekilde, Emdogainin yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin in-vitro olarak incelendiği başka bir çalışmada, 20 μ g/ml emdogainin insan fibroblast hücrelerinin proliferasyonunda ve migrasyonunda etkili olduğu gösterilmiştir[277].

Wachtel ve arkadaşları, periodontal kemik içi defektlerde emdogainin etkinliğini araştırdıkları çalışmada, kemik içi periodontal defekte sahip 11 hastada flep operasyonu ile kombine uygulanan emdogainin, yalnızca flep operasyonuna göre olan etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda periodontal cep derinliğini azaltmada emdogain ile kombine uygulanan flep operasyonunun, tek başına flep operasyonuna göre daha üstün

olduğu sonucuna varmışlardır[278]. Benzer şekilde Esposito ve arkadaşları yaptıkları sistematik derlemede, emdogainin plasebo veya kontrol gruplarına kıyasla, periodontal ataşman seviyelerinde belirgin bir artış sağladığı ve periodontal cep derinliğinde azalmaya yardımcı olduğu bildirilmiştir[279]. Kashefimehr ve arkadaşları, mekanik debridman ile birlikte uygulanan emdogainin peri-implant mukositis hastalarındaki etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, emdogain uygulanan çalışma grubunda üç aylık takiplerde belirgin klinik iyileşme ve peri-implant sıvıdaki IL-17A ve IL-6 seviyelerinde anlamlı derecede azalma gözlemlemişlerdir[38]. Miron ve arkadaşları emdogainin periodontal dokulardaki olası etkilerini Şekil 8 'de şematize etmişlerdir[23].



Şekil 7. Emdogain uygulamasını takiben, IL-1b ve IL-8 üretiminde azalma ve PGE₂ seviyesinde artış gözlenir. Emdogain ayrıca OPG/RANKL dengesini, OPG'nin artması ve RANKL'nin azalması şeklinde değiştirmektedir. Bu durum osteoklast aktivitesinde/formasyonunda azalma ile sonuçlanır. Emdogain aynı zamanda T lenfositlerin proliferasyon ve migrasyonunu da arttırmaktadır. Bununla birlikte, Emdogain mezenşimal kök hücrelerin sert doku oluşturu hücrelere farklılaşmasına katkı sağlayarak, periodontal ligament hücre

rejenerasyonunu artırır. Mikrovasküler hücre diferansiasyonu ve anjiogenezis artarken, bakteri sayısında azalma ile inflamatuvar durum geriler[23].

MRONJ patofizyolojisi ve Emdogainlerin yumuşak ve sert doku rejenerasyonundaki olumlu etkileri, birlikte ele alındığında;

- MRONJ'un, VEGF seviyesini azalttığı ve buna bağlı olarak anjiogenezisin de azaldığı düşünülmektedir. Aynı zamanda bifosfonatların, RANK/ RANKL/ OPG ekspresyonunu modüle ederek, RANKL bağımlı osteoklast diferansiasyonunu azalttığı ve kemik metabolizmasını etkilediği de bildirilmiştir.

- Emdogainin ise uygulandığı dokularda bakteri sayısını azalttığı, farklılaşmamış mezenşimal kök hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını indüklediği, VEGF seviyesi ve anjiogenezisi arttırdığı, OPG/RANKL dengesini OPG'nin artması şeklinde etkilediği ve bu yolla osteoklast aktivitesini de azalttığı daha önceki raporlarda gösterilmiştir.

Tüm bu benzer mekanizmalar göz önünde bulundurulduğunda, Emdogainin osteonekroz olgularında kullanıldığı takdirde, olumlu sonuçlar elde edileceği düşünülmüştür. Yapılan literatür incelemesinde, Emdogainin osteonekroz olgularında kullanımı ile ilgili herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, deneysel olarak oluşturulmuş MRONJ modelinde, emdogainin MRONJ'un önlenmesinde ve tedavisindeki etkinliğinin, histomorfometrik, immunhistokimyasal ve radyografik yöntemlerle değerlendirilmesidir.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Örnek Sayısının Belirlenmesi

Gerçekleştirilecek deneyde en küçük miktarda örneklem büyüklüğü elde edebilmek amacıyla güç analizi yapıldı. Power=85, $\alpha=0.05$ seçilerek ve Turcosa istatistik yazılımı kullanılarak yapılan güç analizinde, örneklem büyüklüğü $n=13$ olarak tespit edildi. Deney aşamasında hayvanların ölme riskine göz önüne alınarak her gruba ikişer hayvan daha ilave edildi ve toplam 75 adet rat kullanıldı.

3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan etik onay alınan(Karar no:20/145, Onay tarihi:04.11.2020) bu çalışma, TÜBİTAK 1002 hızlı destek programı kapsamında 321S185 Numaralı proje kodu ve Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimince TDH-2022-11679 numaralı proje kodu ile desteklendi.

Yapılan literatür araştırmasında, deneysel olarak oluşturulan bifosfanata bağlı osteonekroz hayvan modelinin ratlarda başarıyla oluşturulabildiği görülmüştür[280]. Bu nedenle bu tez çalışmasında deney hayvanı olarak Wistar Albino ırkı, yetişkin dişi ratlar (sıçan) kullanıldı. Denekler, Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (DEKAM) temin edildi. Tüm hayvanların doğum zamanları (8 hafta ve üzeri erişkin) ve mevcut ağırlıklarının (ortalama 200 gr) birbirlerine çok yakın olmasına özen gösterildi. Deney hayvanları, sabit oda sıcaklığında ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), 12 saatlik gece ve gündüz döngüsü altında, bağıl nem oranı kontrollü (%40-60), serbest şekilde su ve yeme ulaşabilecekleri DEKAM biriminde barındırıldı. Ratlar çalışma süreci boyunca düzenli olarak kilolarında azalma, genel halsizlik, yemek ve su alımında azalma, cilt değişiklikleri gibi kriterler yönünden değerlendirildi. Deneysel çalışmalar DEKAM bünyesinde bulunan ameliyathanede gerçekleştirildi.

3.3. Çalışma Grupları

Tüm denekler, her biri 15 adet rat içeren 5 gruba ayrıldı (tablo 2). Bu çalışmada deney süreci iki aşamalı olarak yürütüldü. Birinci aşamada zoledronik asit uygulanan ratlarda diş çekimi sonrası Emdogainin MRONJ gelişimini engelleyici etkisi değerlendirilirken, ikinci aşamada diş çekimi sonrası MRONJ gelişen deneklerde, Emdogainin tedavi edici etkisi değerlendirildi. Bu amaçla çalışmanın ilk 3 grubunda (Grup1, Grup 2, Grup 3) Emdogainin önleyici etkinliği ; 4 ve 5. Graplarda ise tedavi edici etkinliği değerlendirildi.

Grup 1 (Kontrol): Herhangi bir ilaç uygulanmayan 15 sağlıklı rattan sol mandibula 1. Ve 2. Molar diş çekimi yapıldı. Çekim soketinde rond frez kullanılarak, 1.4 mm'lik kemik defekti oluşturuldu. Çekim soketlerine serum fizyolojik(SF) emdirilmiş, rezorbe olabilen kolajen sünger yerleştirildi. Yerleştirilen kolajen süngerin soketten uzaklaşmasına engel olmak amacıyla 5,0 vicrl sütür kullanılarak çekim soketleri sütüre edildi. Cerrahi işlemin ardından ratların iyileşmesi takip edildi ve 8 hafta sonunda sakrifiye edildi.

Grup 2 (Bifosfonat grubu): Bu gruptaki 15 rata 8 hafta boyunca, haftada 3 kez, 0.1mg/kg dozda zoledronik asit (Zometa®, 4 mg flakon, Novartis, Türkiye) intraperitonel (ip) olarak enjekte edildi. Sekiz haftanın sonunda kontrol grubundaki gibi, ratların sol mandibula 1. Ve 2. Molar diş çekimleri yapıldı ve çekim soketinde rond frez ile 1.4 mm defekt oluşturuldu. Çekim soketlerine serum fizyolojik emdirilmiş rezorbe olabilen, kolajen sünger yerleştirildi ve çekim soketleri sütüre edildi. Cerrahi işlemin

ardından ratlar iyileşmenin takibi amacıyla 8 hafta daha hayatta tutuldu ve 8. Haftanın sonunda sakrifiye edildi.

Grup 3 (Emdogain Grubu): Bu gruptaki 15 rata 8 hafta boyunca, haftada 3 kez, 0.1mg/kg dozda zoledronik asit (Zometa®, 4 mg flakon, Novartis, Türkiye) İP olarak enjekte edildi. Sekiz haftanın sonunda ratların sol mandibula 1. Ve 2. Molar diş çekimleri yapıldı ve çekim soketinde 1.4 mm'lik defekt oluşturuldu. Çekim soketlerine 0,2 ml (30 mg/ml) Emdogain emdirilmiş rezorbe olabilen kolajen sünger yerleştirildi ve soketler suture edildi. Cerrahi işlemin ardından ratlar 8 hafta daha hayatta tutularak sakrifiye edildi.

Grup 4 (Osteonekroz grubu): Bu gruptaki 15 rata 8 hafta boyunca, haftada 3 kez, 0.1mg/kg dozda zoledronik asit (Zometa®, 4 mg flakon, Novartis, Türkiye) enjekte edildi. Sekiz haftanın sonunda ratların sol mandibula 1. Ve 2. Molar dişleri çekildi ve çekim soketinde 1.4 mm'lik defekt oluşturuldu. Çekim soketlerine herhangi bir ajan uygulanmadan sekonder iyileşmeye bırakıldı ve diş çekiminden sonra 8 hafta, osteonekroz gelişmesi için beklendi. Makroskopik olarak nekroz geliştiği doğrulanan deneklerde, nekrotik bölgeye cerrahi debridman uygulandı, nekrotik kemik uzaklaştırıldı ve bölgeye serum fizyolojik emdirilmiş rezorbe olabilen kolajen sünger yerleştirildi. Kolajen süngerin soketten uzaklaşmasına engel olmak amacıyla çekim soketi 5,0 vicri sütür kullanılarak suture edildi. Cerrahi işlemin ardından, ratlar 8 hafta daha takip edildikten sonra 8. haftanın sonunda sakrifiye edildi.

Grup 5 (Osteonekroz+Emdogain grubu): Bu gruptaki 15 rata 8 hafta boyunca, haftada 3 kez, 0.1mg/kg zoledronik asit (Zometa®, 4 mg flakon, Novartis, Türkiye) enjekte edildi. Sekiz haftanın sonunda ratların sol mandibula 1. Ve 2. Molar diş çekimleri yapılarak çekim soketinde 1.4 mm'lik defekt oluşturuldu. Çekim soketlerine herhangi bir ajan uygulanmadan sekonder iyileşmeye bırakıldı ve diş çekimi sonrası 8 hafta osteonekroz gelişmesi için beklendi. Nekroz geliştiği doğrulanan deneklerde, nekrotik bölgeye, cerrahi debridman uygulandıktan sonra 0,2 ml (30 mg/ml) Emdogain emdirilmiş rezorbe olabilen kolajen sünger yerleştirildi ve kolajen süngerin soketten uzaklaşmasına engel olmak amacıyla çekim soketi 5,0 vicri sütür kullanılarak suture edildi. Cerrahi işlemin ardından ratlar 8 hafta daha hayatta tutularak sakrifiye edildi.

Tablo 3. Çalışma grupları

Grup 1 (Kontrol) N=15	Herhangi bir ilaç verilmeden, sol alt molar dişler çekildi ve defekt oluşturuldu. Çekim soketlerine SF emdirilmiş kolajen sünger yerleştirildi.
Grup 2 (Bifosfonat) N=15	8 hafta boyunca, 3 günde bir 0.1mg/kg zolendronik asit verildi. Ardından sol alt molar dişler çekildi ve defekt oluşturuldu. Çekim soketlerine SF emdirilmiş kolajen sünger yerleştirildi.
Grup 3 (Emdogain) N=15	8 hafta boyunca, 3 günde bir 0.1mg/kg zolendronik asit verildi. Ardından sol alt molar dişler çekildi ve defekt oluşturuldu. Çekim soketlerine Emdogain emdirilmiş kolajen sünger yerleştirildi.
Grup 4 (Osteonekroz) N=15	8 hafta boyunca, 3 günde bir 0.1mg/kg zolendronik asit verildi. Ardından sol alt molar dişler çekildi ve defekt oluşturuldu. 8 hafta osteonekroz oluşması için beklendikten sonra, çekim bölgelerine cerrahi debridman uygulanarak SF emdirilmiş kolajen sünger yerleştirildi.
Grup 5 (Osteonekroz-Emdogain) N=15	8 hafta boyunca, 3 günde bir 0.1mg/kg zolendronik asit verildi. Ardından sol alt molar dişler çekildi ve defekt oluşturuldu. 8 hafta osteonekroz oluşması için beklendikten sonra, çekim bölgelerine cerrahi debridman uygulanarak Emdogain emdirilmiş kolajen sünger yerleştirildi.

3.4. İlaç Uygulamaları ve Cerrahi Prosedür

3.4.1. Ratlara Bifosfonat Uygulanması

Deneyisel aşamada kullanılacak ilaçlar ve tıbbi malzemeler (Bifosfonat, Emdogain, Emilebilir Kolajen Sünger ve Anestezik ilaçlar) işlem öncesi temin edildi ve deney hayvanları gruplandırıldı. Deneyisel osteonekroz modeli literatürdeki yöntemler referans alınarak belirlendi [281]. Osteonekroz modeli oluşturmak için, 2, 3, 4 ve 5. gruptaki ratlara, haftada 3 kez olmak üzere toplamda 8 hafta boyunca intraperitoneal yoldan 0.1 mg/kg Zoledronik Asit (Zometa, Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland) uygulandı (Şekil 8, Şekil 9). Enjeksiyonlar sırasında herhangi bir komplikasyona rastlanmadı.



Şekil 8. Ratlara uygulanan bifosfonat grubu ilaç



Şekil 9. Ratlara intraperitoneal yoldan zelodronik asitin uygulanması

3.4.2. Ratların Diş Çekimlerinin Yapılması ve Emdogain uygulaması

Diş çekim işlemi ilaç uygulamasının son bulmasını takiben gerçekleştirildi. Diş çekimleri asepsi ve antisepsi kurallarına uyularak yapıldı. Deney gruplarında yer alan tüm ratlara diş çekimleri öncesi kilolarıyla orantılı olarak premedikasyon için 8 mg/kg Xylazine HCl (Rompun-Bayer, Almanya) ve genel anestezi için 50 mg/kg Ketamine HCl (Alfamine-Alfasan International BV, Hollanda) ip olarak uygulandı(Şekil 10:). Anestezi derinliği göz kapağı refleksi ile kontrol edildi. Yeterli anestezi derinliği sağlanınca diş çekimine başlandı. Anestezi idame dozları gerekli durumlarda ilk dozun yarısı olacak şekilde uygulandı. Diş çekimi öncesi lokal anestezi ve kanama kontrolü sağlamak amacı ile 0.03 cc Articain HCl (Ultracaine®, sanofi-Aventis ilaçları, Levent, İstanbul) ile ilgili dişlerin

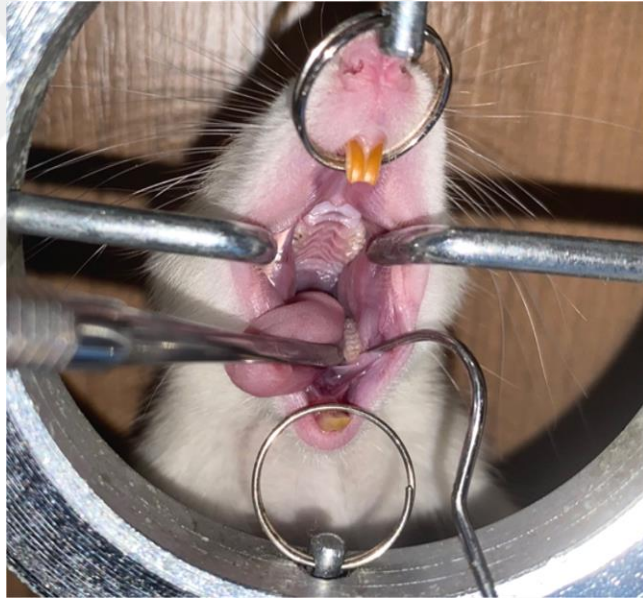
bukkal ve lingual mukozasına lokal infiltratif anestezi yapıldı. Ratlar, anestezi sonrası, özel olarak üretilen ekartör ile sabitlendi (Şekil 11:). Diş çekiminin yapılacağı sol alt çene posterior bölge ekarte edildi. Alt çene sol birinci ve ikinci molar dişler hareketlendirildikten sonra, ince uçlu bir sond kullanılarak kök eğimine uygun şekilde lüksasyon hareketiyle dişlerin çekimleri tamamlandı(Şekil 12, Şekil 13:). Diş çekimleri sonrası küçük rond frez yardımıyla çekim soketlerinde 1.4 mm defekt oluşturuldu(Şekil 14 ,Şekil 15). Deneyin birinci aşamasında 1. Ve 2. Gruptaki ratların çekim soketine serum fizyolojik emdirilmiş kolajen sünger, 3. Gruptaki ratların çekim soketine Emdogain emdirilmiş kolajen sünger yerleştirildi(Şekil 16, Şekil 17). Hayvanların beslenmesi sırasında yerleştirilen kolajen süngerlerin çekim soketinden uzaklaşmasına engel olmak amacıyla çekim soketleri 5.0 vicrl sütür kullanılarak sütüre edildi(Şekil 18:). Deneyin ikinci aşamasında 4 ve 5. Gruptaki ratların sol mandibula birinci ve ikinci azı dişleri çekilip çekim soketlerinde 1.4 mm defekt oluşturuldu. Sekiz hafta osteonekroz süresi beklendikten sonra ratlar tekrar genel anestezi altına alındı. Nekroz gelişen çekim soketleri cerrahi küretler kullanılarak debride edildi ve serum fizyolojik ile irrigate edildi(Şekil 19, Şekil 20). Ardından 4. Gruptaki ratların çekim bölgelerine serum fizyolojik emdirilmiş kolajen sünger yerleştirildi ve 5.0 vicrl sütür ile sütüre edildi. 5. Gruptaki ratlarda ise debridmanı takiben, bölgeye Emdogain emdirilmiş kolajen sünger yerleştirildi ve bölge 5,0 vicrl sütür kullanılarak sütüre edildi. 8 hafta daha iyileşme için beklenildi(Şekil 21).



Şekil 10. Genel Anestezi için kullanılan ilaçlar



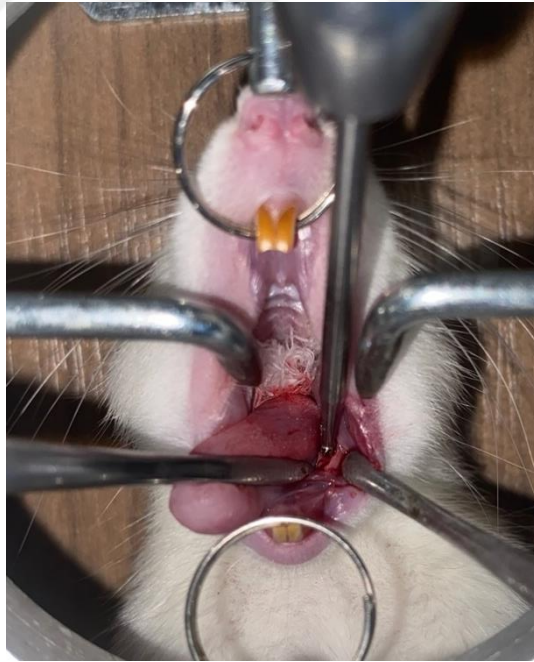
Şekil 11. Ratlar için özel hazırlanmış ekartör ile deney hayvanlarının sabitlenmesi



Şekil 12. Dişin ince uçlu sond ile lükse edilerek çekiminin gerçekleştirilmesi



Şekil 13. Çekilmiş Dişlerin Görüntüsü



Şekil 14. Diş çekimleri sonrası rond frez ile çekim soketinde defekt oluşturulması



Şekil 15. Çekim soketlerindeki defektin görüntüsü



Şekil 16. Emdogain emdirilmiş kolajen sünger



Şekil 17. Çekim soketine emdogain uygulanması



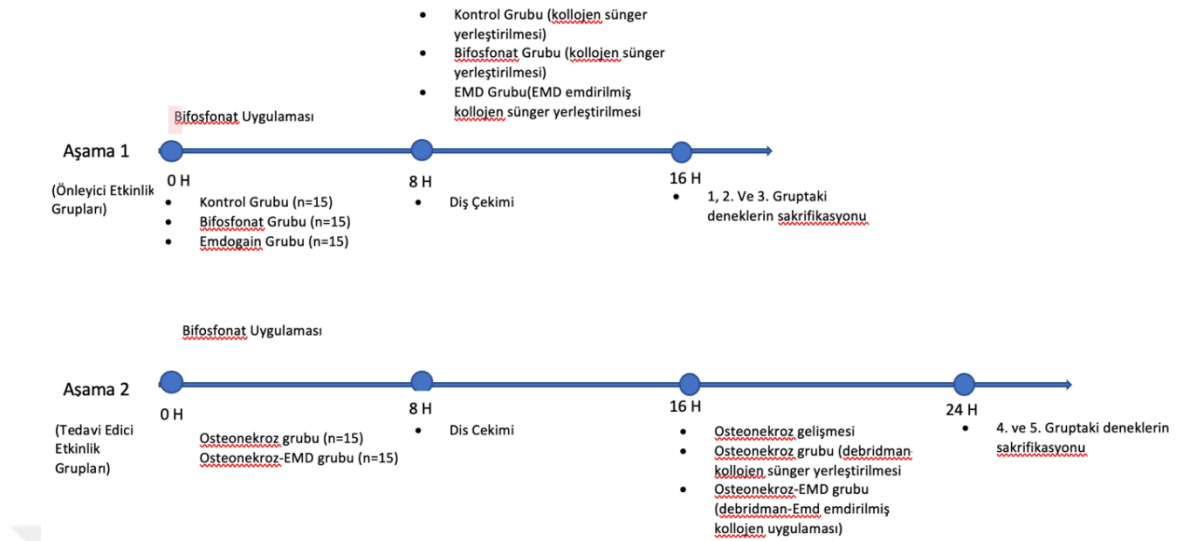
Şekil 18. Çekim soketine 5,0 vicryl ile suture atılması



Şekil 19. Grup 4(osteonekroz) osteonekroz bölgesinin debridmanı



Şekil 20. Grup 4(osteonekroz) debridman sonrası osteonekroz alanın görüntüsü daire içine alınmıştır.



Şekil 21. Ratlara uygulanan işlemler ve Deney akış şeması

3.4.3. Ratların Sakrifikasyonu ve Örneklerin Hazırlanması

Cerrahi prosedürler deney hayvanları tarafından genel olarak iyi tolere edilebildi. Ancak diş çekimleri sonrasında Emdogainin önleyici etkinliğinin değerlendirildiği ilk üç grupta; biri kontrol grubundan (1. Grup), biri bifosfonat grubundan (2. Grup), biri emdogain (3.grup) grubundan olmak üzere toplamda 3 adet denek kaybı yaşandı. Benzer şekilde, Emdogainin tedavi edici etkinliğinin değerlendirildiği 4 ve 5. Gruplarda da, 4. grupta iki ve 5. Grupta bir denek olmak üzere toplamda üç hayvan, anestezi uygulamaları sırasında öldüğü için çalışma dışı bırakıldı. Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'te yer alan ratlar 8 haftanın sonunda, Grup 4 ve Grup 5'te yer alan denekler ise 16. Haftanın sonunda DEKAM'da görevli veteriner hekim gözetiminde yüksek doz anestezi verilererek (Xylazine HCl ve Ketamin HCl) sakrifiye edildi ve alt çeneleri diseke edilerek çıkarıldı. Tüm örnekler %10'luk formaldehit içeren solüsyonun içinde radyografik ve histolojik incelemeler öncesinde fikse edildi.

3.5. Çalışmada Değerlendirilen Değişkenler

3.5.1. Çekim Soketlerinde Yumuşak Doku İyileşmesinin Klinik Olarak Değerlendirilmesi

Ratlar sakrifiye edildikten sonra örneklerin diş çekim bölgelerindeki yumuşak doku çıplak gözle makroskopik olarak muayene edildi. Mukozal açıklık, fistül yolu varlığı, apse ve açığa çıkmış nekroze kemik varlığı not edildi. Çekim soketlerinde yumuşak doku

iyileşmesinin klinik olarak değerlendirilmesi için mukozal kapanma varlığı incelendi. Değerlendirilme sonuçlarına göre (0) tam iyileşme, (1) kısmi iyileşme (apse ve pü olmadan mukozanın tam kapanmaması), (2) bozuk iyileşme (abse, pü ve fistül yolu varlığı, açığa çıkmış nekroze kemik) olarak değerlendirildi.

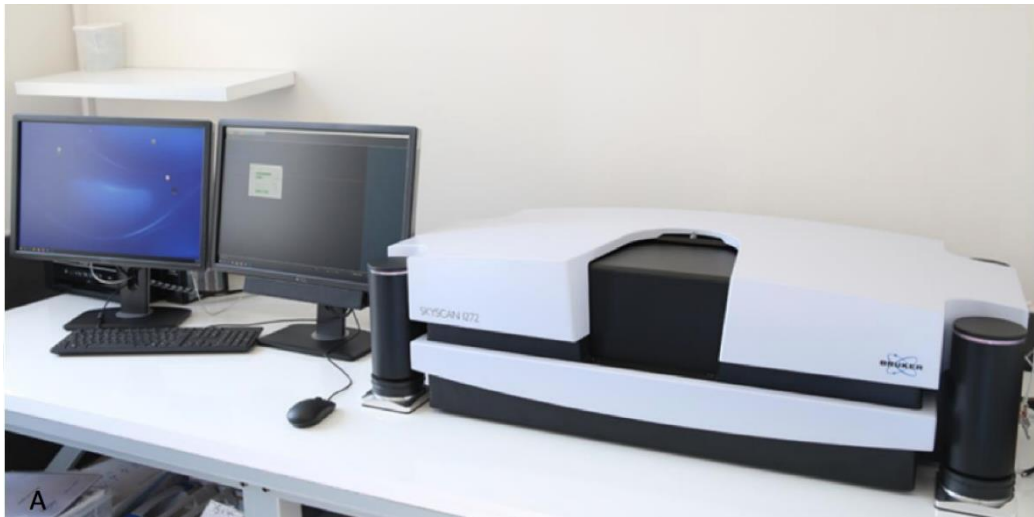
Tablo 4. Klinik Olarak Mukozal Kapanma Miktarının Skorlanması

	Tam İyileşme	Kısmi İyileşme	Bozuk iyileşme
Yumuşak Doku İyileşme Durumu	0	1	2

3.6. Radyolojik Analiz

3.6.1. Mikro-Bilgisayarlı Tomografi İncelemesi

%10 formaldehit ile fıkse edilen örneklerin radyolojik değerlendirme amacıyla mikro-BT çekimleri Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı bünyesinde bulunan Mikro-BT ((SkyScan-1272, Bruker, Kontich, Belçika) cihazı kullanılarak yapıldı(ŞEKİL 22). Mikro-BT çekim ve analizler deney gruplarındaki her bir örnek için aynı konumda, standart çekim prosedürü ve analiz yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

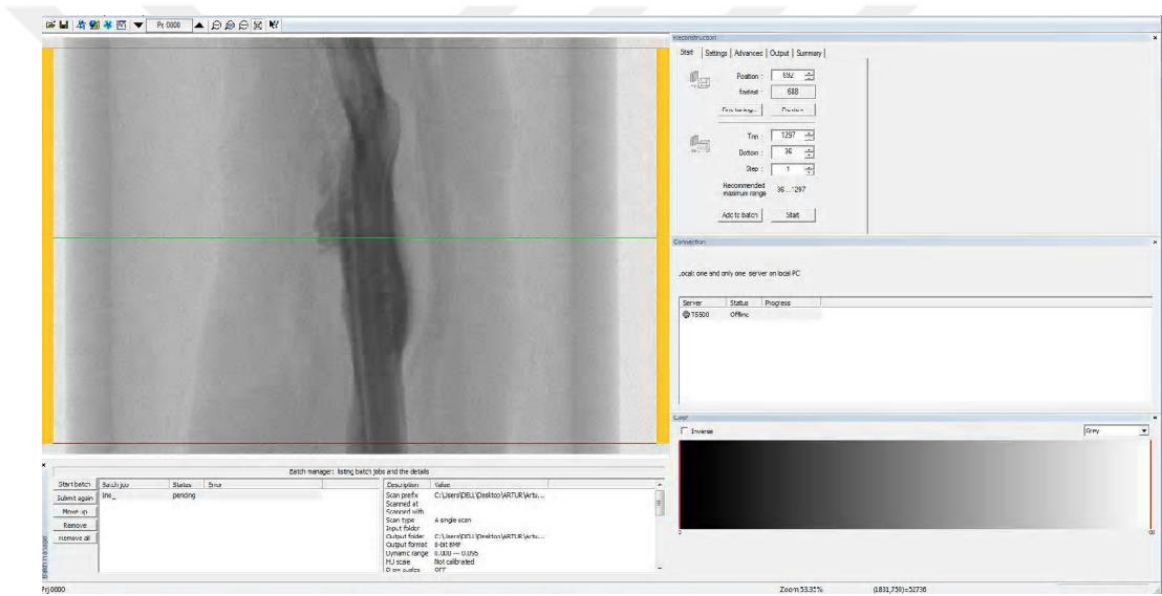


Şekil 22. Skyscan 1272 Mikro-Bilgisayarlı Tomografi cihazı

Örnekler tarama için Mikro-BT cihazına yerleştirildi ve 0,11 mm Bakır (Cu) filtre, 0,6 derece rotation adımı, 7.4 micron pixel size, 4K çözünürlük ve 360 derece olacak şekilde tarandı. Kesitlerden alınan DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine) uyumlu görüntüler TIFF (Tagged Image File Format) formatına dönüştürüldü.

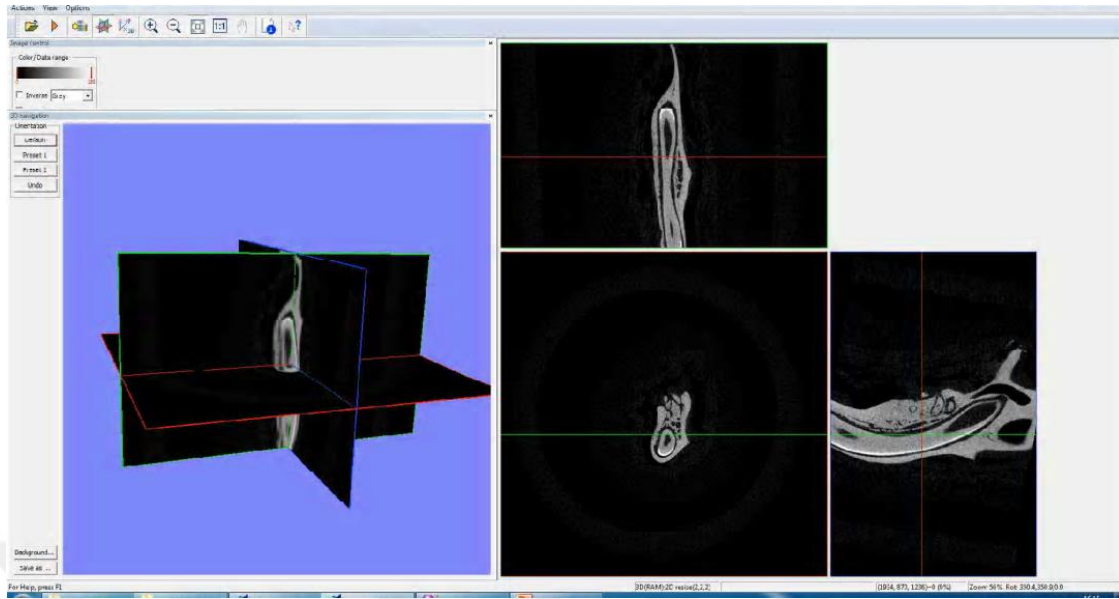
3.6.2. Mikro-BT Görüntülerinin Analizi

Mikro-BT ile taranan örneklerdeki verilerin görüntüye dönüştürülmesinde NRecon v.1.6.3 software (Bruker mikroBT) programı kullanıldı(ŞEKİL). Ham görüntülerdeki görüntü kirliliği ve radyolojik artefaktlar elimine edildi. Böylece görüntüler analize hazır hale getirildi(şekil 23).



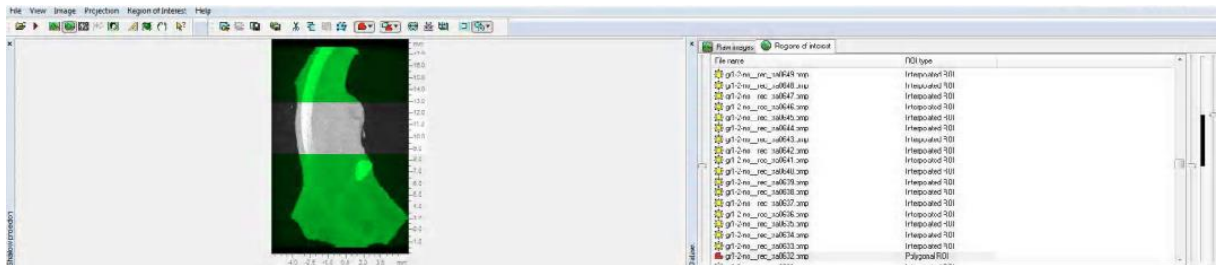
Şekil 23. NRecon v.1.6.3 programında görüntülerin hazırlanması

İşlenen görüntüler sagittal, transvers ve vertikal olarak uzayın her üç düzleminde konumsal ayarlamaları yapıldı. Görüntüdeki gereksiz bölgeler kesilerek çıkarıldı ve görüntü boyutu küçültüldü. Böylece görüntüler hızlı analiz yapılması için uygun hale getirildi(ŞEKİL 24).



Şekil 24. Konumsal hataların giderilmesi

Görüntülerin analizinde CTAn v.1.12 software (Bruker-mikroBT) programı kullanıldı. CTAn programında ilk olarak incelenecek alan belirlendi. Bu alan çekim socketinin başladığı ilk kesit ve bittiği son kesit olacak şekilde belirlendi (Şekil 25). Bütün örneklerde 115 kesit standart olarak elde edildi.



Şekil 25. İncelenecek alanın sınırlandırılması

Sonrasında “region of interest” sekmesinde iyileşmenin değerlendirilmesi için socketin içindeki trabeküler alan analiz edilecek kısım olarak belirlendi. Daha sonra analiz için uygun “threshold“ değeri belirlendi. 3D analiz yapılarak Bone Mineral Densitiy (BMD, Kemik mineral yoğunluğu), Kemik Doku Hacmi (BV), Yumuşak Doku Hacmi (TV), Percent Bone Volume (BV/TV), Trabeküler kalınlık (Tb. Th), Trabekül Sayısı (Tb. N), Trabeküler Ayrılma (Tb. Sp), Total porozite (Po.tot) değerleri analiz edildi.

3.7. Histolojik Analiz

Çekim socketlerinin olduğu bölge ve nekrotik saha rezeke edilerek çıkarılarak %4’ lük formaldehit içine alındı. Daha sonra %10’luk nitrik asit çözeltisine alınarak dekalsifiye

edildi. Dekalsifikasyon süreci takip edilerek dokular yumuşadığında çeşme suyunda yıkanarak %50 'lik, %70'lik, %80'lik, %96'lık ve 3 kere %100 'lük etanol çözeltisinden geçirilerek ksilene alındı. Sıvı parafin içerisinde bekletilerek ksilen uzaklaştırıldı ve bu işlemin ardından dokular parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak elde edilen kesitler H&E boyama ve immünohistokimyasal analiz için kullanıldı. (Amuk , Lekesizcan A vd., 2019). Parafin kesitler standart protokol gereği 2 saat boyunca etüvde 58⁰ C'de inkübe edildikten sonra ksilende 3 kez 15'er dakika bekletildi. Dokuyu suya doymuş hale getirmek amacıyla azalan alkol serilerinden (%100, %100, %96, %80, %70, %50) geçirilerek çeşme suyuna alındı. Genel histolojik yapıyı görmek amacıyla hematoksilin ve eozin solüsyonlarında boyanarak artan alkol serilerinden (%50, %70, %80, %96, %100, %100) geçirildi ve ksilene alınarak entellan ile kapatıldı. Dokulardaki değişimlerin histolojik analizi için mikroskopta (Leica DMRB, (Bx15)) incelenerek ve x4 ve x10 büyütmede çekim soketi alanlarının fotoğrafları çekildi fotoğrafları çekilerek analiz edildi.

3.8. İmmünohistokimyasal Analizler

Çalışma kapsamında Emdogainin osteonekroz üzerindeki etkinliğini immünohistokimyasal olarak değerlendirmek amacıyla hem osteonekroz mekanizmasında etkili olan hem de emdogainin uygulandıkları dokularda etki ettiği proteinlerin değerlendirilmesi amaçlandı. Bu nedenle OPG seviyeleri ile, IL-17A ve VEGF'nin dokulardaki ekspresyon düzeylerinin analizi yapıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirme için hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak polizlinli lamlara yayıldı. Hazırlanan lamalar standart histolojik yöntemler kullanılarak ksilol ile parafini uzaklaştırıldı ve dereceli alkol serilerinden geçirilerek primer antikörlerin optimizasyonu sağlandıktan sonra üretici firmanın talimatları doğrultusunda standart protokol uygulanarak immünohistokimyasal boyama işlemleri yapıldı (Tablo 4).

Hazırlanan preparatlardan Leica mikroskop ile gruptaki bütün hayvanların kesitleri boyanarak Image J programında epitel, bağ doku ve alveoler kemik alanlarından 10x büyütmede fotoğraflar çekilen fotoğraflar analiz edilerek VEGF, IL-17A ve OPG ekspresyon seviyeleri belirlendi[282]. Ölçüm sonuçları graphpad programında One Way Anova testi ile analiz edilerek grafikleri oluşturuldu.

Tablo 5. Immunhistokimyasal boyama tekniği

Sıra	Yapılan İşlem	Süre	Sıra	Yapılan İşlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	2 saat	18	Sekonder Antikor	10 dakika
2	Ksilen I	20 dakika	19	PBS	3x5 dakika
3	Ksilen II	20 dakika	20	Strepta Avidin	10 dakika
4	Ksilen III	20 dakika	21	PBS	3x5 dakika
5	Absolu Alkol I	20 dakika	22	DAB	1-5 dakika
6	Absolu Alkol II	20 dakika	23	Distile Su	2x3 dakika
7	%96 Alkol	20 dakika	24	Gill Hematoksilen	45 saniye
8	%70 Alkol	20 dakika	25	Akarsu	5 dakika
9	%50 Alkol	20 dakika	26	%50 Alkol	10 dakika
10	Distile Su	2x5 dakika	27	%70 Alkol	10 dakika
11	Hidrojen Peroksit	12 dakika	28	%96 Alkol	10 dakika
12	Distile Su	2x5 dakika	29	Absolu Alkol I	10 dakika
13	Sitrat Buffer	2x15	30	Absolu Alkol II	10 dakika
14	PBS	2x5 dakika	31	Ksilen I	20 dakika
15	Serum Blok	10 dakika	32	Ksilen II	20 dakika
16	Primer Antikor	1 gece	33	Kapatma	
17	PBS	3x5 dakika			

3.9. İstatiksel Analiz

Araştırma verileri SPSS 21.0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak araştırılmıştır. Araştırmanın tanımlayıcı istatistikleri için normal dağılıma uyan verilerde ortalama ve standart sapma, normal dağılıma uymayan verilerde ortanca, minimum ve maksimum kullanılarak gösterilmiştir. Bağımsız gruplarda sürekli değişkenlerin parametrik özellikleri taşıyanlarının karşılaştırılmasında Student-t Testi veya One Way ANOVA, bağımsız gruplarda sürekli değişkenlerin parametrik özellikleri taşımayanlarının karşılaştırılmasında Mann Whitney U Testi veya Kruskal Wallis Varyans Analizi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için p değerinin 0,05'den küçük saptanması koşulu aranmıştır.

4. BULGULAR

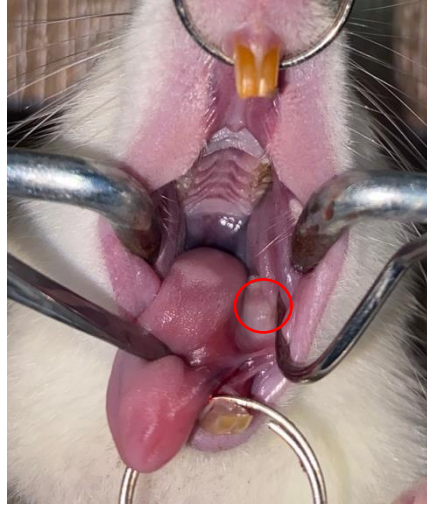
4.1. Yumuşak Doku İyileşmesinin Klinik Olarak Değerlendirilmesi

4.1.1. Emdogainin MRONJ Gelişimini Önleyici Etkinliğinin Değerlendirildiği Gruplarda Yumuşak Doku İyileşmesinin Klinik Olarak Değerlendirilmesi

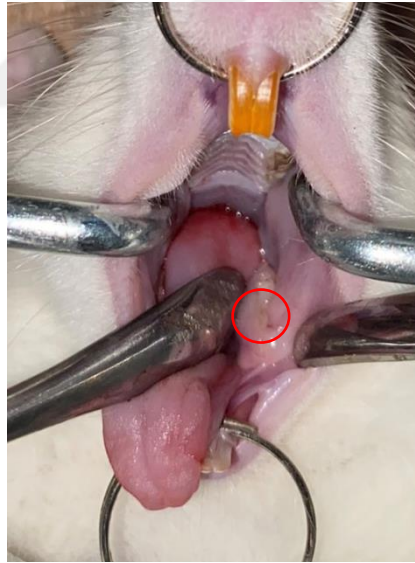
Ratların diş çekim bölgelerindeki yumuşak doku iyileşme miktarı klinik olarak değerlendirildiğinde; Grup 1(kontrol)'de yer alan 14 ratın tamamında çekim soketlerinin tamamen iyileştiği görüldü (Şekil 26). Grup 2(bifosfonat)'deki ratların 6'sında(%42,9) mukozanın tamamen iyileştiği, 2(%14,3) ratın mukozasında kısmen iyileşme(Şekil 27) olduğu ve 6(%42,9) ratın mukozasında iyileşme olmadığı ve açık kemik yüzeyi olduğu görüldü (Şekil 28). Ayrıca Grup 2'de 5 ratta pü akışı olduğu 1 ratta ise ekstra-oral apse geliştiği tespit edildi(Şekil 29, Şekil 30). Grup 3(Emdogain)'teki ratların 11'inde(%78,6) mukozanın tamamen iyileştiği, 3(%21,4) ratta ise mukozada iyileşme olmadığı ve mukozal kapanmanın gerçekleşmediği görüldü(Tablo 5). Grup 3'teki hiçbir ratta pü akışı tespit edilmedi((Şekil 31). İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, Grup 1'deki klinik iyileşme yüzdesi , istatistiksel olarak grup 2' den yüksek bulundu ($p=0.012$). Grup 1 ve 3 arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p=0.618$).

Tablo 6. Kontrol ve deney grupları örneklerinin diş çekim bölgelerindeki yumuşak doku iyileşmesinin klinik olarak değerlendirilmesi.

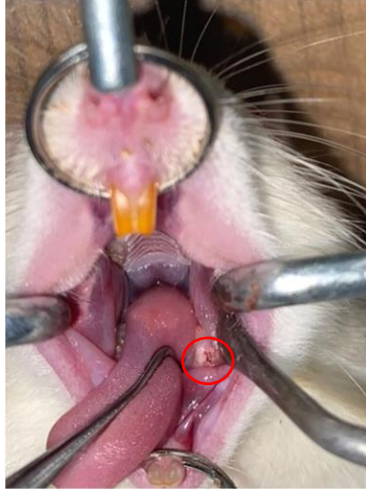
Gruplar	Yumuşak Doku İyileşmesi			P değeri
	(n,%)			
	Tamamen İyileşme	Kısmi İyileşme	Bozuk İyileşme	0.02
Grup 1	14(100)	0	0	
Grup 2	6(42,9)	2(14,3)	6(42,9)	
Grup 3	11(78,6)	0	3(21,4)	



Şekil 26. Grup 1(kontrol) diş çekiminden 8 hafta sonra tamamen iyileşen mukozanın görüntüsü daire içinde gösterilmiştir.



Şekil 27. Grup 2(bifosfonat) diş çekiminden 8 hafta sonra mukozanın kısmi iyileşme görüntüsü daire içinde gösterilmiştir.



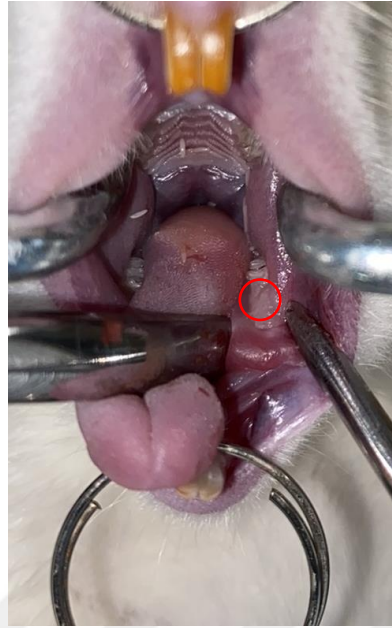
Şekil 28. Grup 2(bifosfonat) diş çekiminden 8 hafta sonra gelişen açık nekrotik kemik daire içinde gösterilmiştir.



Şekil 29. Grup 2(bifosfonat) ekstra-oral apse gelişen rat ok ile gösterilmiştir.



Şekil 30. Grup 2(bifosfonat) Grup 2 diş çekiminden 8 hafta sonra çekim soketinde pü akışı ok ile gösterilmiştir.



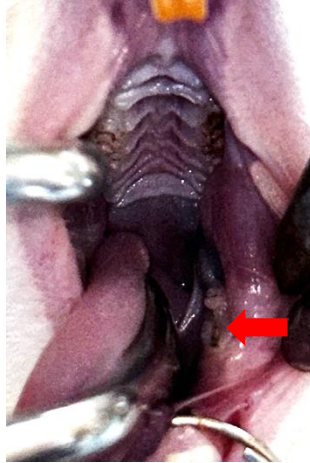
Şekil 31. Grup 3(Emdogain) diş çekiminden 8 hafta sonra tamamen kapanan mukoza görüntüsü daire içinde gösterilmiştir.

4.1.2. Emdogainin MRONJ Üzerindeki Tedavi Edici Etkinliğinin Değerlendirildiği Gruplarda Yumuşak Doku İyileşmesinin Klinik Olarak Değerlendirilmesi

Osteonekroz gelişen ve debridman sonrası tedavi uygulanmayan grup 4'te yer alan ratların 1 tanesinde mukozanın tamamen kapandığı, 6 ratta kısmi mukozal kapanma olduğu kalan 6 ratta ise pü akışı ve açık kemik varlığı gözlemlendi(Şekil 32, Şekil 33). Debridman sonrası emdogain emdirilmiş kolajen sünger yerleştirilen grup 5'te yer alan ratlardan 9'unda mukozanın tamamen kapandığı, 2 ratta kısmi mukozal kapanma olduğu ve 3 ratta ekspoz kemik ve pü akışı olduğu gözlemlendi. İyileşme oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Grup 5'teki iyileşme oranı, Grup 4'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek idi ($p=0.03$) (Şekil 34)(Tablo 6).

Tablo 7. Emdogainin tedavi edici etkisinin değerlendirildiği grupların diş çekim bölgelerindeki yumuşak doku iyileşmesinin klinik olarak değerlendirilmesi.

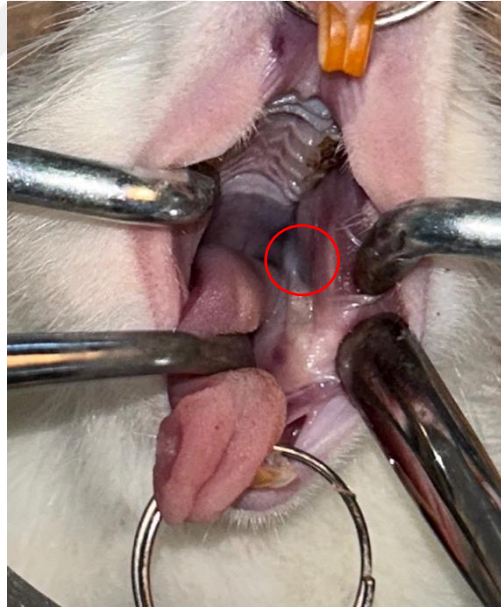
Gruplar	Yumuşak Doku İyileşmesi (n,%)			P değeri
	Tamamen İyileşme	Kısmi İyileşme	Bozuk İyileşme	
Grup 4	1 (8)	6 (46)	6 (46)	0.03
Grup 5	9 (64)	2 (14)	3 (22)	



Şekil 32. Grup 4(osteonekroz) debridmandan 8 hafta sonra mukozal açıklık ve nekrotik kemik ok ile gösterilmiştir.



Şekil 33. Grup 4(osteonekroz) debridmandan 8 hafta sonra diseke edilen rat çenesinde mukozal açıklık ve nekrotik kemik daire ile gösterilmiştir.



Şekil 34. Grup 5(osteonekroz-Emdogain) debridmandan 8 hafta sonra tam kapanan mukoza görüntüsü daire içinde gösterilmiştir.

4.2. Radyolojik Bulgular

4.2.1. Emdogainin MRONJ Gelişimini Önleyici Etkinliğinin Değerlendirildiği Gruplarda Radyolojik İnceleme Bulguları;

Rayografik analizlerde Bone mineral Density, Tissue Volume(TV), Bone Volume (BV), Percent Bone Volume (BV/TV), trabeküler kalınlık (TbTh), Trabekül sayısı (TbN) , trabeküler seperasyon (Tb. Sp) ve Total porozite(potot) değerleri incelendi.

BMD incelemesinde; Grup 1(kontrol)'deki BMD değerinin Grup 2 ve Grup 3'ten istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$). Grup 3'deki BMD değeri istatistiksel olarak anlamlı derecede Grup 2(bifosfonat)'den yüksek bulundu ($p=0.03$). Tissue Volume(TV), Bone Volume(BV) ve Percent Bone Volume(BV/TV) değerleri incelendiğinde; tüm değerlerin Grup 1'de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde Grup 2 ve grup 3'ten yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$). Grup 3'te Tissue Volume(TV), Bone Volume(BV) ve Percent Bone Volume(BV/TV) değerleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde Grup 2'den daha yüksek bulundu($p<0,05$). Tüm veriler tablo 7'de gösterildi.

Tablo 8:Gruplara göre BMD,TV,BV ve BV/TV değerlerinin karşılaştırılması,

	Grup 1(kontrol)	Grup 2(bifosfonat)	Grup 3(emdogain)	p
BMD	0,793±0,155 ^a	0,360±0,860 ^b	0,437±0,930 ^c	<0,001
TV	10,957±3,313 ^a	8,998±2,190 ^a	12,080±2,240 ^b	0,012
BV	7,526±2,003 ^a	3,215±1,272 ^b	6,169±1,497 ^a	<0,001
BV/TV	70,951±14,115 ^a	35,933±13,636 ^b	51,570±10,998 ^c	<0,001

Aynı satırda yer alan benzer harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler gruplar arası farklılığı göstermektedir.

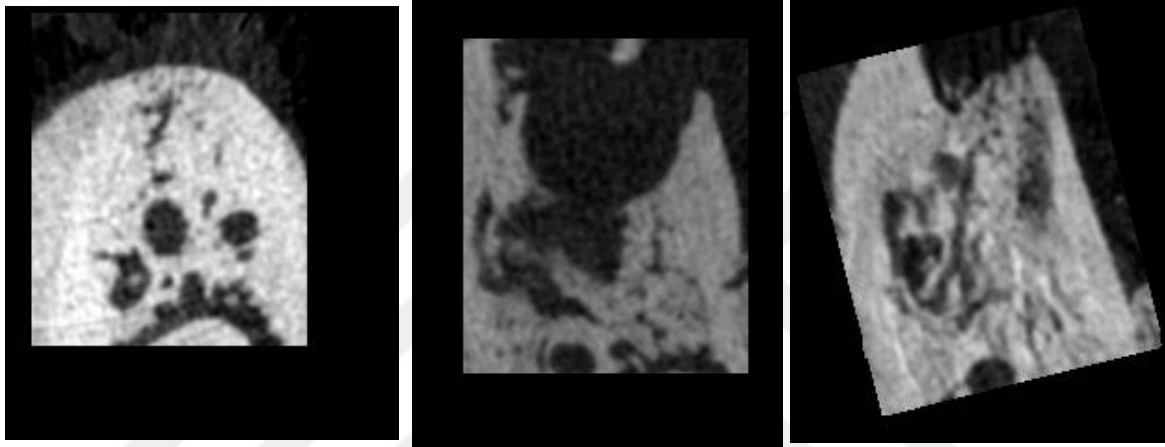
Trabeküler kalınlık(TbTh) değerleri incelendiğinde Grup 1'in trabeküler kalınlık ortalaması, Grup 2 ve Grup 3'ten istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu($p<0,001$). Benzer şekilde, Grup 3'ün TbTh değeri de Grup 2'den anlamlı derecede yüksek idi($p=0,05$).

Trabekül sayısı(TbN) değerleri incelendiğinde, Grup 2 deki trabekül sayısı, Grup ve 3'e göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0,001$). Trabeküler seperasyon(Tb.Sp) değerleri incelendiğinde Grup 1'in trabeküler seperasyon ortalaması, Grup 2 ve 3'e göre anlamlı derecede düşük bulundu (0.057). Total porozite (potot) değerleri incelendiğinde ise, Grup 2'nin ortalama değerlerinin, Grup 1 ve 3'e göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). (Tablo 8)(şekil 35)

Tablo 9. Gruplara göre Tb.Th, Tb.N, Tb.Sp, Po.tot değerlerinin karşılaştırılması

	Grup 1(kontrol)	Grup 2(bifosfonat)	Grup 3(emdogain)	p
Tb.Th	0,489±0,122 ^a	0,265±0,070 ^b	0,324±0,052 ^c	<0,001
Tb.N	1,493±0,324 ^a	1,338±0,243 ^{ab}	1,586±0,223 ^a	0,057
Tb.Sp	0,343±0,251 ^a	0,916±0,272 ^b	0,770±0,322 ^b	<0,001
Po.tot	29,048±14,115 ^a	64,066±13,636 ^b	48,429±10,998 ^c	<0,001

Aynı satırda yer alan benzer harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler gruplar arası farklılığı göstermektedir.

**Şekil 35:**

- A: Grup 1(kontrol) diş çekiminden 8 hafta sonra çekim soketi mikro-Bt görüntüsü
 B: Grup 2(Bifosfonat) diş çekiminden 8 hafta sonra çekim soketi mikro-Bt görüntüsü
 C: Grup 3(Emdogain) diş çekiminden 8 hafta sonra çekim soketi mikro-Bt görüntüsü

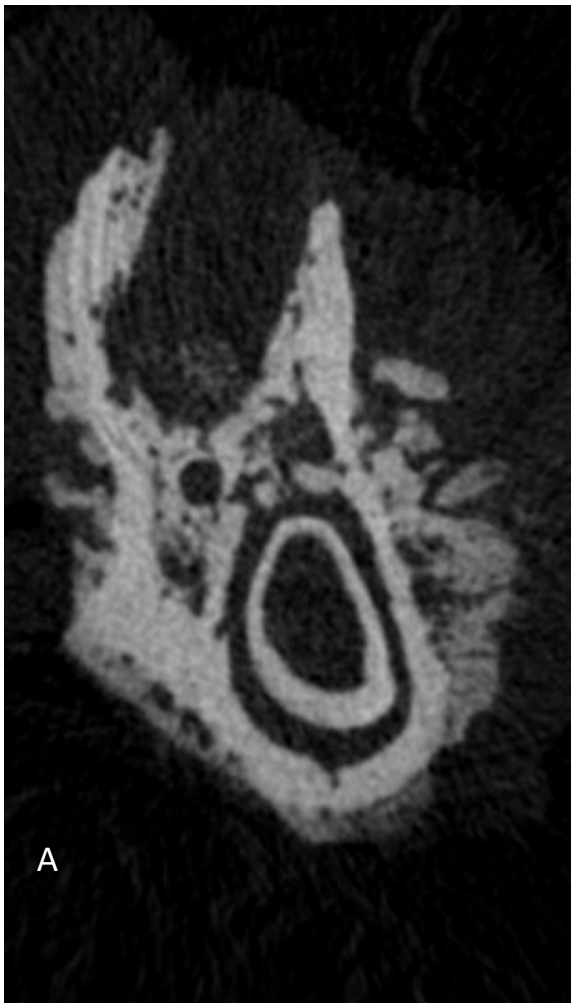
4.2.3. Emdogainin MRONJ Üzerindeki Tedavi Edici Etkinliğinin Değerlendirildiği Gruplarda Radyolojik İnceleme Bulguları

Daha önce emdogainin önleyici etkinliğinin değerlendirildiği gruplardaki radyolojik analizlere benzer şekilde, yine BMD, TV, BV, BV/TV, TbTh, Tb.N , Tb. Sp ve Po.tot değerleri incelendi.

Grup 5'in BMD, Tb.Th ve Tb.Sp değerleri Grup 4'ten yüksek olmasına rağmen, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. TV, BV ve BV/TV , TbN, değerleri ise Grup 5'te, anlamlı derecede yüksek bulundu. Tüm veriler Tablo 9 'da gösterildi(Şekil 36).

Tablo 10. Grup 4 ve 5'teki radyografik bulguların karşılaştırılması

	Grup 4(osteonekroz)	Grup 5(osteonekroz-emdogain)	p
BMD	0.253(0.236- 0.325)	0.376(0.309- 0.408)	0.05
TV	9.865±2.760	14.247±2.824	<0.001
BV	4.417±2.125	8.252±1.555	<0.001
BV/TV	44.111±15.562	58.217±4.874	0.004
Tb.Th	0.259(0.227-0.288)	0.290(0.266-0.307)	0.492
Tb.N	1.699±0.521	2.043±0.256	0.008
Tb.Sp	0.542(0.408-0.672)	0.425(0.367-0.612)	0.363
Po.tot	55.888±15.562	41.781±4.875	0.004

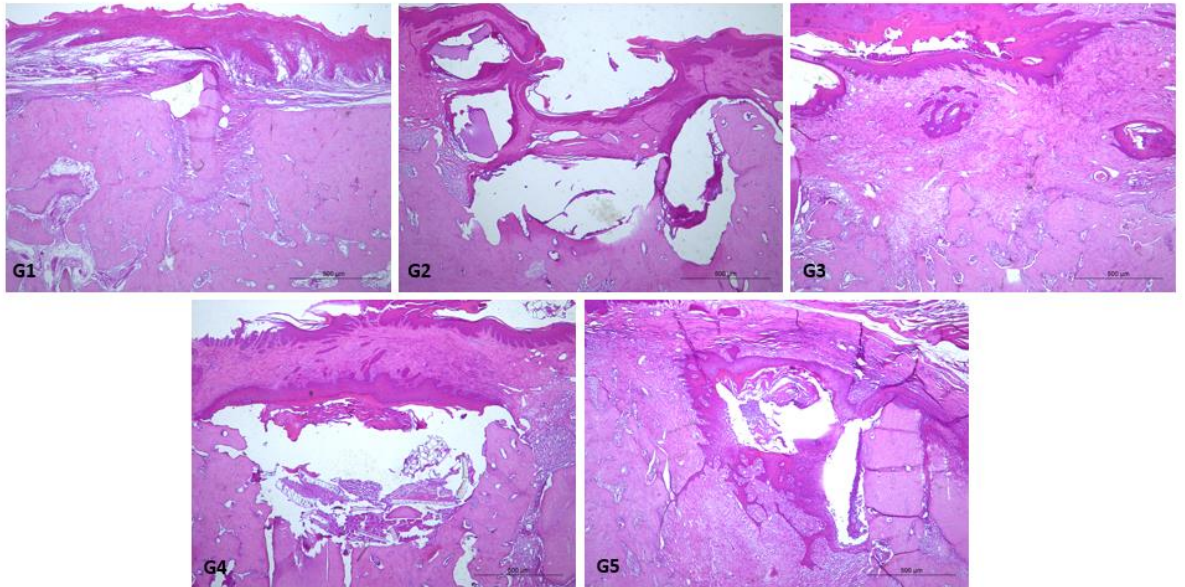
**Şekil 36.**

A: Grup 4(osteonekroz) debridmandan 8 hafta sonra çekim soketi mikro-Bt görüntüsü

B: Grup 2(osteonekroz-emdogain) debridman ve emdogain uygulamasından 8 hafta sonra çekim soketi mikro-Bt görüntüsü

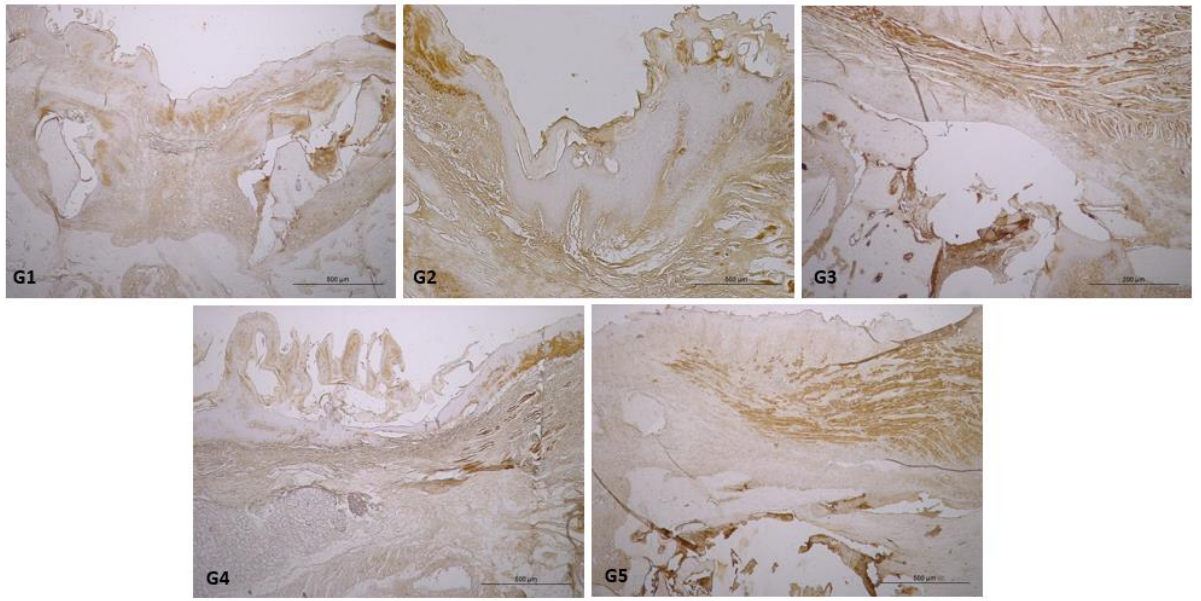
4.3. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular

Çalışmada deney gruplarında çekim soketine ait alanlar histolojik olarak değerlendirildiğinde reepitelizasyonun bütün gruplarda tamamlandığı görüldü. Kontrol grubunda epitel dokusunun altında organize olgun kas tabakası yer almaktaydı. Kontrol (Grup 1) grubunda çoğu çekim soketi yumuşak doku ile kaplanmış düzenli bir görünüme sahip idi. Bisfosfonat (Grup 2) grubunda çekim soketinde reepitelizasyon tamamlasa da çekim soketi alanında bağ doku oluşumu yeterli olmadığı için çekim soketleri boşluklu alanlar şeklinde gözlemlendi. Emdogain(Grup 3) grubunda çekim soketi düzenli epitel sınırları ve daha stabil dermis katmanları altında bağ dokusu olgun düzenli fibriler yapıya sahip olup; olgun kas tabakası da yapıyı desteklemekteydi. Yer yer osteoblastik aktivitenin yoğun olduğu gözlenen kemik sınırlarında yeni küçük kemik dokuları yer almaktaydı. Osteonekroz(Grup 4) grubunda ise diş çekimi sonrası epitel tabakasının oluşumunu tamamladığı ve düzenli epitelyal sınırlara sahip olduğu gözlemlendi. Çekim soketi boşluğunda ise düzenli bir bağ doku yapılanması olmadığı görüldü. Emdogain uygulanan osteonekroz grubunda(Grup 5) ise çekim soketi boşluğunda düzensiz bağ dokusu içinde diğer gruplara göre yeni kemik dokusu oluşumunun daha belirgin olduğu gözlemlendi (Şekil 37).

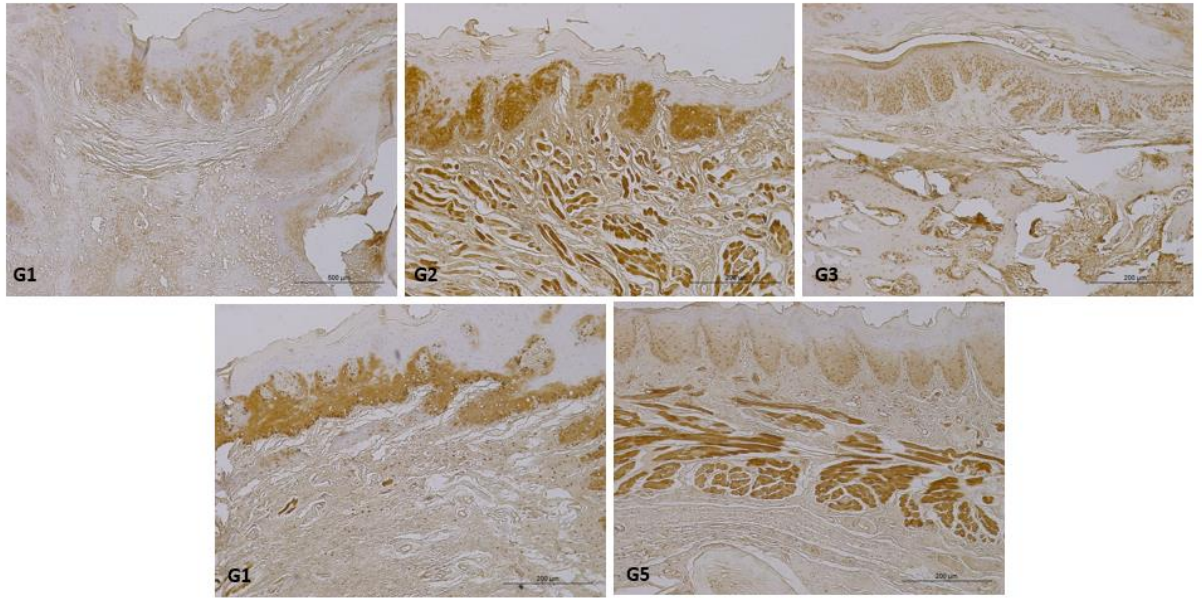


Şekil 37. Deney gruplarında çekim soketinin histolojik gösterimi. **G1:** Kontrol grubu(Grup 1), **G2:** Bifosfonat grubu(Grup 2), **G3:** Emdogain Grubu(Grup 3), **G4:** Osteonekroz grubu(Grup 4), **G5:** Osteonekroz-Emdogain grubu(Grup 5). (H&E boyama, $\times 4$; ölçek çubuğu, 500 μm).

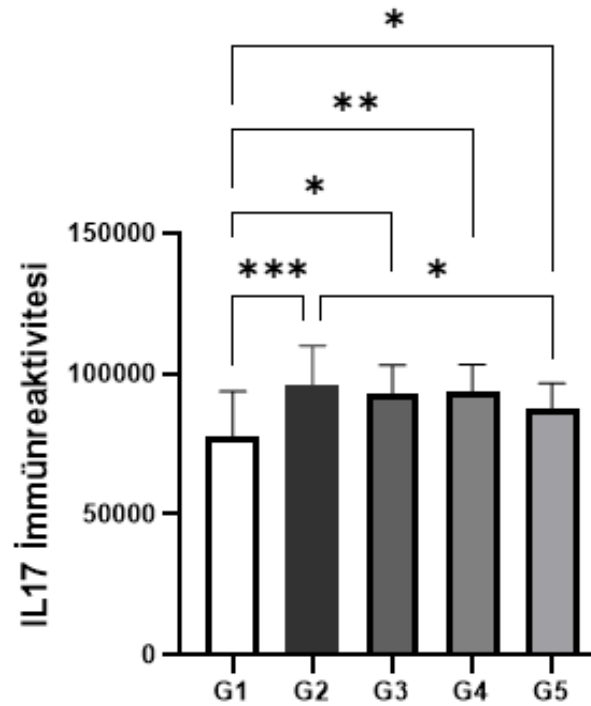
Deney gruplarında çekim soketi ve mukoza IL-17 ekspresyon seviyeleri incelendiğinde bifosfonat(Grup 2) ve osteonekroz(Grup 4) grubunda IL-17 ekspresyon seviyesinin belirgin olarak arttığı, Emdogain(Grup 3) ve Osteonekroz sonrası Emdogain uygulanan Grup 5'te ise ekspresyon seviyelerinin azaldığı görüldü(Şekil 38, Şekil 39). Kontrol (Grup 1) ve osteonekroz (Grup 4) grubunda IL-17 ekspresyon seviyesi artışı, emdogain (Grup 3) ve osteonekroz sonrası emdogain uygulanan Grup 5'teki ekspresyon seviyesi azalması ile karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı(Grafik 1).



Şekil 38. Deney gruplarında IL-17 çekim soketi ekspresyon seviyelerinin gösterimi. **G1:** Kontrol grubu(Grup 1), **G2:** Bifosfonat grubu(Grup 2), **G3:** Emdogain Grubu(Grup 3), **G4:** Osteonekroz grubu(Grup 4), **G5:** Osteonekroz-Emdogain grubu(Grup 5). (Immunohistokimyasal boyama, $\times 10$; ölçek çubuğu, 500 μm).

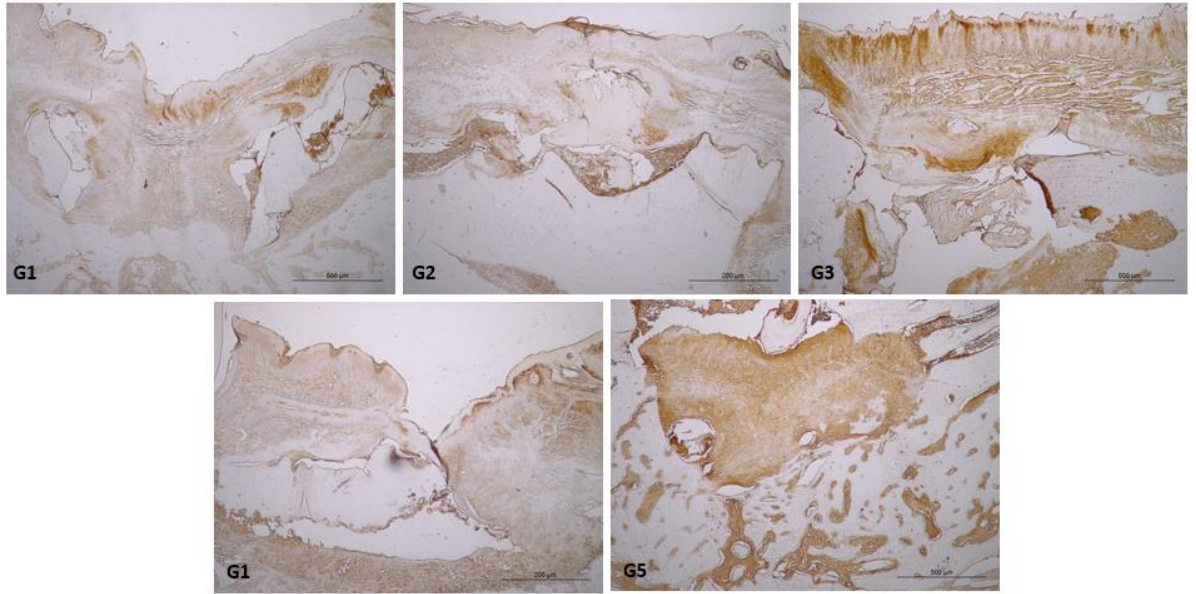


Şekil 39. Deney gruplarında IL-17 mukoza ekspresyon seviyelerinin gösterimi. **G1:** Kontrol grubu(Grup 1), **G2:** Bifosfonat grubu(Grup 2), **G3:** Emdogain Grubu(Grup 3), **G4:** Osteonekroz grubu(Grup 4), **G5:** Osteonekroz-Emdogain grubu(Grup 5). (Immunohistokimyasal boyama, $\times 10$; ölçek çubuğu, 500 μm).

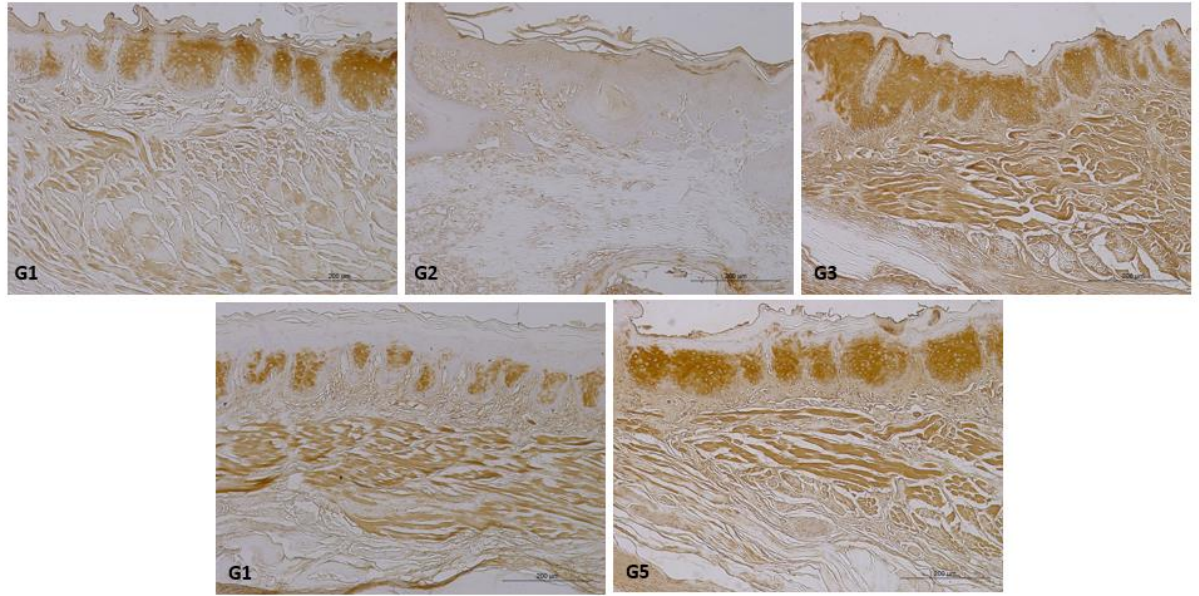


Grafik 1. Deney gruplarında IL17 protein ekspresyonlarının istatistiksel analiz grafikleri. **G1:** Kontrol grubu(Grup 1), **G2:** Bifosfonat grubu(Grup 2), **G3:** Emdogain Grubu(Grup 3), **G4:** Osteonekroz grubu(Grup 4), **G5:** Osteonekroz-Emdogain grubu(Grup 5). (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ *** $P < 0.003$, **** $P < 0.0001$).

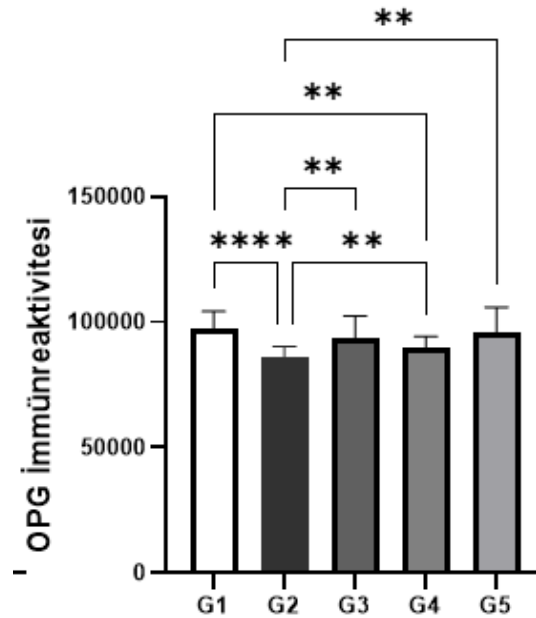
Deney gruplarında çekim soketi ve mukoza OPG ekspresyon seviyeleri incelendiğinde bifosfonat(Grup 2) ve osteonekroz(Grup 4) grubunda OPG ekspresyon seviyesinin azaldığı, Emdogain(Grup 3) ve Osteonekroz sonrası Emdogain uygulanan Grup 5'te ekspresyon seviyelerinin arttığı görüldü(Şekil 40, Şekil 41). Kontrol (Grup 1) ve osteonekroz (Grup 4) grubunda OPG ekspresyon seviyesi azalması, emdogain (Grup 3) ve osteonekroz sonrası emdogain uygulanan Grup 5'teki ekspresyon seviyesi artması ile karşılaştırıldığında, aradaki fark yine istatistiksel olarak anlamlı idi(Grafik 2).



Şekil 40. Deney gruplarında OPG çekim soketi ekspresyon seviyelerinin gösterimi. . **G1:** Kontrol grubu(Grup 1), **G2:** Bifosfonat grubu(Grup 2), **G3:** Emdogain Grubu(Grup 3), **G4:** Osteonekroz grubu(Grup 4), **G5:** Osteonekroz-Emdogain grubu(Grup 5). (Immunohistokimyasal boyama, $\times 10$; ölçek çubuğu, 200 μm).

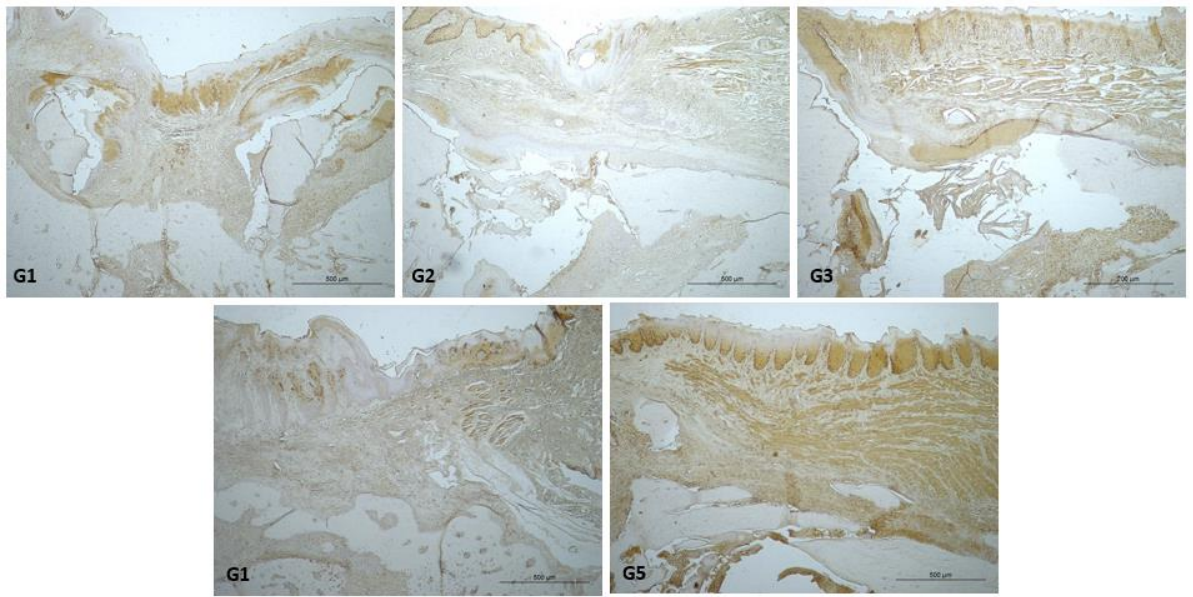


Şekil 41. Deney gruplarında OPG mukoza ekspresyon seviyelerinin gösterimi. . **G1:** Kontrol grubu(Grup 1), **G2:** Bifosfonat grubu(Grup 2), **G3:** Emdogain Grubu(Grup 3), **G4:** Osteonekroz grubu(Grup 4), **G5:** Osteonekroz-Emdogain grubu(Grup 5). (Immunohistokimyasal boyama, $\times 10$; ölçek çubuğu, 200 μm).

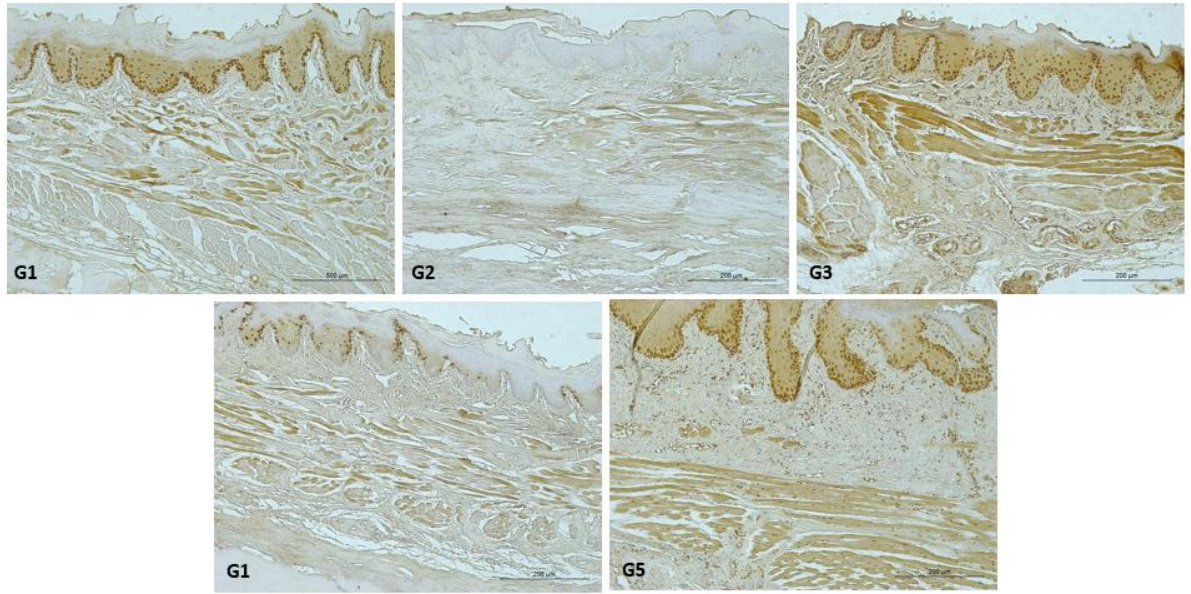


Grafik 2. Deney gruplarında OPG protein ekspresyonlarının istatistiksel analiz grafikleri. **G1:** Kontrol grubu(Grup 1), **G2:** Bifosfonat grubu(Grup 2), **G3:** Emdogain Grubu(Grup 3), **G4:** Osteonekroz grubu(Grup 4), **G5:** Osteonekroz-Emdogain grubu(Grup 5). (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ *** $P < 0.003$, **** $P < 0.0001$).

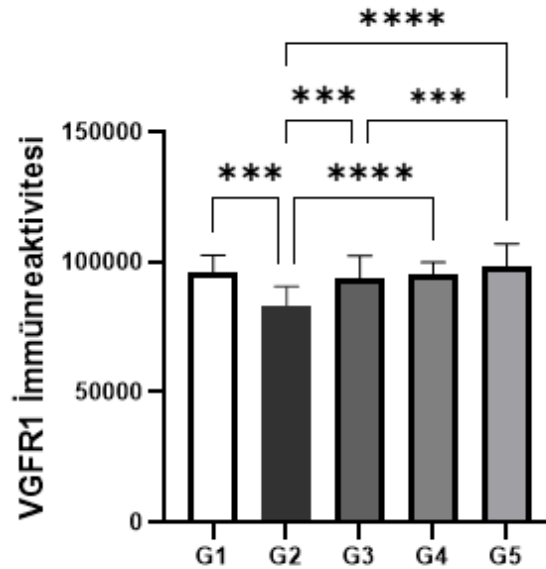
Deney gruplarında çekim soketi ve mukoza VEGF ekspresyon seviyeleri incelendiğinde bifosfonat(Grup 2) ve osteonekroz(Grup 4) grubunda VEGF ekspresyon seviyesinin azaldığı, Emdogain(Grup 3) ve Osteonekroz sonrası Emdogain uygulanan Grup 5'te ekspresyon seviyelerinin arttığı görüldü(Şekil 42, Şekil 43). Kontrol (Grup 1) ve osteonekroz (Grup 4) grubunda VEGF ekspresyon seviyesi azalması, emdogain (Grup 3) ve osteonekroz sonrası emdogain uygulanan Grup 5'teki ekspresyon seviyesi artması ile karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı(Grafik 3).



Şekil 42. Deney gruplarında VGFR1 çekim soketi ekspresyon seviyelerinin gösterimi. . **G1:** Kontrol grubu(Grup 1), **G2:** Bifosfonat grubu(Grup 2), **G3:** Emdogain Grubu(Grup 3), **G4:** Osteonekroz grubu(Grup 4), **G5:** Osteonekroz-Emdogain grubu(Grup 5). (Immunohistokimyasal boyama, $\times 10$; ölçek çubuğu, 200 μm).



Şekil 43. Deney gruplarında VGFR1 mukoza ekspresyon seviyelerinin gösterimi. **G1:** Kontrol grubu(Grup 1), **G2:** Bifosfonat grubu(Grup 2), **G3:** Emdogain Grubu(Grup 3), **G4:** Osteonekroz grubu(Grup 4), **G5:** Osteonekroz-Emdogain grubu(Grup 5). (Immunohistokimyasal boyama, $\times 10$; ölçek çubuğu, 200 μm).



Grafik 3. Deney gruplarında VGFR1 protein ekspresyonlarının istatistiksel analiz grafikleri. **G1:** Kontrol grubu(Grup 1), **G2:** Bifosfonat grubu(Grup 2), **G3:** Emdogain Grubu(Grup 3), **G4:** Osteonekroz grubu(Grup 4), **G5:** Osteonekroz-Emdogain grubu(Grup 5). (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ *** $P < 0.003$, **** $P < 0.0001$).

5. TARTIŞMA

MRONJ baş ve boyun bölgesinde radyasyon tedavisi öyküsü olmayan, anti-rezorbtiif veya anti-anjiyojenik ilaç kullanan hastalarda, maksillofasiyal bölgede sekiz haftadan uzun süre devam eden ekspoz nekrotik kemik varlığı olarak tanımlanır[6]. MRONJ gelişiminde birincil lokal risk faktörü olarak diş çekimi rol oynamaktadır[21]. Anti-rezorbtiif veya anti-anjiyojenik tedavi gören ve diş çekimi yapılması planlanan hastalarda MRONJ riskini azaltmak için alınabilecek önlemlerle ya da MRONJ geliştikten sonra patolojinin tedavisinde kullanılabilecek ajanlarla ilgili literatürde fikir birliği bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı bifosfonat uygulanan ratlarda diş çekimi sonrası emdogainin MRONJ gelişme riskini önleyici ve osteonekroz oluşturulan ratlarda tedavi edici etkinliğinin değerlendirilmesidir.

MRONJ patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır ve insanlar üzerinde yapılacak çalışmalar ile ilgili kısıtlamalar bulunmaktadır. Bu nedenle farklı tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesi için güvenilir ve uygulama kolaylığı sağlayan hayvan deney modelleri geliştirilmiştir. Ayrıca laboratuvar hayvan deneyleri birçok insan hastalığının araştırılması için kullanılmaktadır[280]. MRONJ alanında hayvan araştırmaları, deney modelleri geliştirmek, önleyici ve tedavi edici yöntemleri test etmek ve risk faktörlerini araştırmak için sıklıkla tercih edilir[283]–[286]. MRONJ ile ilişkili yapılan deneylerde rat, tavşan, köpek, koyun ve domuz gibi çeşitli hayvanlar kullanılmaktadır[283]. Ancak bu hayvanlar içerisinde en sık tercih edileni ratlardır[283]. Ratlar gibi küçük omurgalı hayvanların sık kullanılmasının nedenleri arasında nispeten hızlı çoğalıyor olmaları, karmaşık laboratuvar alt yapısı gerektirmemeleri, basit bakım koşulları ve deney uygulama kolaylığı sayılabilir[287]. Ayrıca ratların uzun deney sürelerine daha dayanıklı oldukları da yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Yapılan literatür araştırmasında MRONJ ile ilgili hayvan çalışmalarının %60'ında 8-12 haftalık yetişkin diş ratların tercih edildiği görülmüştür[288]–[292]. Biz de çalışmamızda emdogainin MRONJ gelişimini önleyici

ve tedavici etkinliğini değerlendirmek amacıyla dişi ratların kullanıldığı in-vivo deney modelini tercih ettik.

MRONJ için sistemik risk faktörü olarak ilaç uygulamasında başta bifosfonatlar olmak üzere anti-rezorbtiif ilaçlar ve RANKL antikorunun anti-reseptör aktivatörleri(denosumab) kullanılmaktadır. Anti-anjiyojenik ilaçlar genellikle MRONJ modeli oluşturmak için kullanılmazlar. Literatürde MRONJ modeli oluşturmak için yaygın olarak bifosfonatlar kullanılmıştır [293]. Çeşitli bifosfonatlar arasında Zoledronik asit, klinik olarak en yüksek MRONJ gelişim riski oluşturan indüksiyon ilacıdır[294], [295]. Ratlar için zoledronik asitin indüksiyon dozu, osteoporoz veya kemik tümörü hastalarında kullanılan doz ile ilişkilidir[296]. Kim ve arkadaşları, ilaç indüksiyon dozunu belirlerken; insanlarda kullanılan zoledronik asit dozlarının, ratların kemik metabolizmasının nispeten hızlı olmasının, ilaç uygulama yolu ve nispeten kısa deney süresi boyunca ilaç maruziyetinin en yüksek seviye çıkarılmasının göz önünde bulundurulması gerektiğini belirtmişlerdir[297]. MRONJ modelinde ratlara ilaç uygulama yolları göz önüne alındığında, yüksek doz gerektirmesine rağmen intraperitonel yol en basit tekniktir. İntravenöz uygulama daha fazla hassasiyet gerektirir ancak en yüksek biyoyararlanıma sahiptir. Subkutan ve intramuskuler uygulama yollarında plazma ilaç konsantrasyonu intraperitonel ve intravenöz uygulamaya göre daha düşüktür[293]. Gao ve arkadaşları ratlarda yaptıkları deneysel çalışmada osteonekroz oluşturmak amacıyla ratlara 200 µg/kg , zoledronik asidi hafta bir kez olmak üzere 8 hafta boyunca subkutan yolla uygulamışlardır[298]. Kün-Darbois ve arkadaşları osteonekroz modeli için haftada bir kez 100 µg/kg zoledronik asidi 10 hafta boyunca intravenöz yolla uygulamışlardır[299]. Dayısoylu ve arkadaşları ise, ratlara 8 hafta boyunca haftada 3 kez 100 µg/kg zoledronik asit uygulayarak osteonekroz modeli oluşturduklarını bildirmiştir[281]. Ayrıca Kang ve arkadaşları kemirgenlerin 17 günlük yaşamının insanların bir yılına denk geldiğini göz önünde bulundurarak, insanlardaki aylık enjeksiyonları taklit etmek için ratlara haftada üç gün enjeksiyon yapılmasını önermişlerdir[300]. Literatürde en sık kullanılan ilaç rejimi 6-9 hafta boyunca haftada üç kez 100 µg/kg zoledronik asit uygulamasıdır[291], [301]–[304]. Bu nedenle çalışmamızda ratlarda etkinliği kanıtlanmış MRONJ modeli oluşturmak için sekiz hafta boyunca haftada üç kez olmak üzere intraperitonel zoledronik asit uygulandı. Zoledronik asit uygulamasını takiben yapılan dişi çekimi ile, deney hayvanlarında MRONJ modelinin başarılı bir şekilde oluşturulduğu bilinmektedir[283]. Özellikle mandibula ve maksillanın

kanlanma farklılıkları nedeniyle, mandibular diş çekimleri MRONJ modelinde daha sık tercih edilen bir yöntemdir[63]. Bununla beraber, MRONJ modeli oluşturulan ratlarda diş çekim soketlerinin iyileşmesi veya osteonekroz gelişimin doğrulanması için genellikle 2-8 hafta beklenmesi önerilmiştir[296], [305]–[309]. Bu nedenle literatürdeki örnek makaleler referans alındığında, bu çalışmada ratlarda zoledronik asit uygulamasını takiben diş çekimleri yapılmış ve 8 haftanın sonunda osteonekroz modelinin başarılı bir şekilde oluştuğu gözlenmiştir.

MRONJ patofizyolojisi halen tam olarak aydınlatılamamış olup; hem sert hem de yumuşak dokuları etkileyen bu patolojinin gelişiminde çeşitli faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir[310]. Bp'lerin kemik yeniden şekillenmesini, anjiyogenezi, enfeksiyonu, inflamasyonu ve yumuşak dokuyu etkilediği ve tüm bu etkilerin hastalık gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir[6]. Yapılan in vitro çalışmalar, zoledronik asit uygulamasından sonra anjiogenezin baskılandığını göstermektedir[101], [311]. Zoledronik asit ile tedavi edilen kanser hastalarında yapılan çalışmalarda da, dolaşımdaki VEGF düzeylerinin azaldığı bildirilerek, bu veriler desteklenmiştir[273]. Guevara ve arkadaşları zoledronik asitin ratlarda diş çekimi sonrası vasküler yapı üzerindeki etkilerini mikro-Bt taramaları kullanarak değerlendirmiştir. Mikro-Bt görüntüleri, zoledronik asit ile tedavi edilen ratların, kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha kalın, daha az bağlantılı ve daha az düzenli damarlara sahip olduğunu göstermiştir[312]. Ishtiaq ve arkadaşları menopoz sonrası kadınlarda (T skoru ≤ -2) alendronatın dolaşımdaki vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ve anjiyopietin-1 (ANG-1) üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda bifosfonatların anjiyojenik faktörlerin üretimini baskılayabildiğini bulmuşlardır[313]. Lang ve ark. farklı konsantrasyonlarda nitrojen içeren zoledronatın vasküler endotel hücrelerinin protein ekspresyonu üzerindeki etkisini in-vitro olarak araştırmıştır. Zoledronik asitin tüm vasküler endotel hücre özelliklerini önemli ölçüde inhibe edebildiğini ve vasküler endotel hücrelerinin hücre ölümünü indükleyebildiğini göstermişlerdir[314]. Bir başka çalışmada Sharma ve arkadaşları çeşitli bisfosfonatların, endotel hücre soyundan gelen insan plasental mezenkimal kök hücrelerinin farklılaşma yeteneğini azaltabildiğini göstermiştir[315]. Makrofaj fenotip değişikliği, bağışıklığın düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. M1 makrofajları; reaktif oksijen türleri (ROS), interlökin (IL)-12 ve tümör nekroz faktörü (TNF)- α üretmeleri nedeniyle inflamasyonu artırır; M2 makrofajları ise salgıladıkları interlökin (IL)-10 ve transforme büyüme faktörü (TGF)- β etkisiyle anti-

inflamatuvar bir rol oynamaya eğilimlidir[316]. Yakın tarihli bir klinik araştırma, evre 1 MRONJ hastasının, nekrotik kemiği çevreleyen mukozal dokularında yüksek yoğunlukta M2 makrofajlar içerdiğini, Evre 2 ve 3 MRONJ hastalarının ise M1 makrofajlar içerdiğini bulmuştur[317]. Zoledronik asit, STAT-6 aktivasyonunu baskılayarak M2 dönüşümünü inhibe ederken, M1 polarizasyonunu indüklemek için IL-17 ekspresyonunu ve STAT-1 fosforilasyonunu hızlandırır. Zoledronik asit ayrıca MRONJ modeli oluşturulan farelerde TLR-4/NF- κ B sinyal yolunu aktive ederek M1 makrofaj polarizasyonunu destekler. Tüm bunlar göz önüne alındığında makrofaj fenotipinin MRONJ gelişiminde önemli bir etkisi vardır[318]. IL-17 ve NF-kappa B sinyal yolunun MRONJ regülasyonunda hayati rol oynadığı bilinmektedir[319]. MRONJ hastalarının çekim soketlerinde IL-17 seviyesinin yükselmesi M1/M2 makrofaj polarizasyonunu değiştirerek MRONJ patogeneze katkıda bulunur[316]. Ayrıca Papadapoulou ve arkadaşları zoledronik asit, bevacizumab ve bunların kombinasyonlarını kullanan hastaları değerlendirdikleri çalışmada IL-17 seviyesinin diş eti oluğu sıvısında artmış olduğunu, bevacizumab ve kombinasyonlarını kullanan hastalarda ise serum VEGF seviyesinin anlamlı derecede düşük olduğunu bulmuşlardır[320].

Primer lezyon kemikte geliştiği ve bunun kemik yeniden şekillenmesinin baskılanmasıyla ilgili olduğu bilinse de çoğu zaman ilk bulgular maksilla ya da mandibulada yumuşak doku üzerinde görülmektedir[321]. Bp'lerin yumuşak doku üzerindeki toksisitesi uzun yıllardır bilinmektedir. Alendronatın doku altına verildiğinde oluşturduğu hasar yapılan hayvan çalışmasında gösterilmiştir[322]. Ayrıca oral Bp kullanan hastalarda farnesil difosfat sentazın inhibisyonu nedeniyle gastrointestinal ve oral epitelde ülserasyonlara yol açtığı bildirilmiştir[323]. MRONJ gelişimini önleme ya da oluşan lezyonun tedavisinde yumuşak doku bariyerini eski haline getirmek ve kemik ekspozunu azaltmak için oral mukoza kapanması kritik rol oynamaktadır[324]. Kemik hasarı sonrası dental cerrahiler, travma ya da enfeksiyon nedeniyle ekspoz olan kemikten çevre dokulara toksisite oluşturan Bp'ler salınabilir[321]. Ancak Bp'lerin ağız içerisine salınım mekanizmaları ve konsantrasyonları tam olarak bilinmemektedir[325]. Scheper ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Bp kullanan hastaların tükürüğündeki Zoledronik asit konsantrasyonunun iv tedaviden 5 dakika sonra 0,4 ve 5 μ M arasında olduğunu bulmuşlardır[326]. Bp'lerin oral mukoza hücreleri olan fibroblastlar ve keratinositler üzerinde de olumsuz etkiler yapılan çalışmalarla gösterilmiştir[327]–[329]. Lamina propriada bulunan fibroblastlar hücre dışı matriksini sentelerken, keratinositler çok katlı

yassı epiteli oluşturur. Keratinositler fibroblastları uyaran büyüme faktörlerini salgılar ve aynı zamanda epiteli yeniden oluşturmak için yara kenarları boyunca göç ederler. Yara bölgesine göç eden fibroblastlar ise yeni hücre dışı matriksi oluştururlar[330]. Oral mukozada olması beklenen Bp konsantrasyonlarının fibroblast ve keratinositlerin hücre çoğalmasını ve göçünü olumsuz etkilediği yayınlanan çalışmalarda gösterilmiştir[327]–[329]. İnflamasyon ve enfeksiyonun MRONJ gelişimi üzerindeki etkisi hem klinik hem de hayvan çalışmalarında kanıtlanmıştır[285], [300]. Histolojik numunelerin ileri değerlendirmeleri, Actinomyces türleri dahil olmak üzere açıkta kalan kemik üzerindeki bakterilerin varlığını göstermiştir[189], [268]. Ancak, bakterilerin neden olduğu enfeksiyona bağlı olarak mı kemik ekspozu olduğu yoksa ekspoz kemik üzerinde bakteriyel biyofilm geliştiği için mi MRONJ'un ilerlediği netleştirilememiştir[186]. Literatürde yer alan tüm bu veriler halen tartışılmakta olup, MRONJ patofizyolojisi ile ilgili kesin bir fikir birliğine varılamamıştır.

MRONJ'un ağız içi klinik bulgularında en karakteristik olan bulgu nekrotik grimsi sarı renkte düzensiz ekspoz alveolar kemik yüzeyidir. Nekrozun klinik olarak görülebilir hale gelmesinden önce oral kavitede spontan ya da provake ağrı, dişlerde sallanma, ağız mukozasında şişlik, kızarıklık ve ülserasyon gibi semptomlar gözlenebilir. Bununla birlikte nekrozun ilerlediği dönemde etkilenen sinirlerde parestezi, anestezi, ağız açmada kısıtlılık, deride fistül, lenfadenopati, maksiller sinüzit veya oroantral fistül, mandibulada fraktür gibi birçok bulgu görülebilir[119]. MRONJ'un tedavisi oldukça zordur ve izlenmesi gereken tedavi protokolü hakkında tam bir fikir birliğine varılamamıştır. MRONJ'un tedavisinde klinik bulgulara göre yapılan evreleme sistemi göz önünde bulundurularak bir planlama yapılması gerekir (Tablo 0). Bu evreleme sistemine göre Evre 0 ve 1 için konservatif tedavi seçenekleri ön plana çıkarken, Evre 2 ve 3 için cerrahi tedavi gerekmektedir[331], [332].

Tüm bu tedavi seçenekleri klinik pratiğinde sıklıkla uygulanmalarına rağmen, etkinlikleri tartışılmakta ve MRONJ'un tedavisinde kesin bir sonuca varılamamaktadır. Yapılan çalışmalarda, MRONJ hastalarında yara iyileşmesindeki bozulmaya bağlı olarak cerrahi tedavilerden sonra osteonekroz bulgularında herhangi bir iyileşme gözlenmediği bildirilmektedir[6]. Bu nedenle cerrahi tedavilerin etkinliğini arttırmak amacıyla çeşitli yöntemler ve ajanlar araştırılmıştır. Düşük doz lazer uygulamaları, topikal ozon ve hiperbarik oksijen tedavileri, teriparatid, kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin kullanımı

gibi alternatif tedavi seçeneklerinin MRON'un tedavisindeki etkinliklerini araştıran çeşitli çalışmalar mevcuttur[333]. Bazı çalışmalarda olumlu sonuçlar alınmasına rağmen, tüm bu tedavi seçeneklerinin MRONJ'da etkisiz olduğunu ve çeşitli kısıtlamaları olduğunu bildiren yayınlar da mevcuttur. Örneğin, Tartaroti ve arkadaşları, fotobiomodulasyon ve fotodinamik terapilerin, MRONJ'dan korunmada etkili olduğunu bildirirken, Favia ve arkadaşları lazer uygulamalarının MRONJ'da etkili olmadığını bildirmiştir[334], [335]. Lazer tipinin, dozunun, uygulama sıklığının değişkenlik göstermesi gibi nedenlerden dolayı lazer uygulamalarının MRONJ tedavisindeki etkinliği için standart bir protokol oluşturulamaması, lazerin MRONJ tedavisindeki kullanımını sınırlandırmakta olup bu konu ilgili çalışmalar halen devam etmektedir. Benzer şekilde hiperbarik oksijen ve ozon tedavisinin de MRONJ'da etkili olabileceği araştırılmış, ancak lazer uygulamalarında olduğu gibi standart bir protokol belirlenememesi, seans sayılarının fazla olması ve buna bağlı gerçekleşen yoğun hastane ziyaretleri temel kısıtlamalar arasında yer almaktadır[336]. Liu ve arkadaşlarının icariin ve teriparatidin MRONJ modelinde tedavi edici etkinliğini değerlendirdikleri deneysel çalışmalarında, en geniş yara yüzeyinin herhangi bir tedavi uygulanmayan grupta, en az yara yüzeyinin de icariin uygulanan grupta olduğunu göstermişlerdir. Yara iyileşmesindeki bu etkiyi icariinin VEGF seviyelerini arttırmasına ve keratinosit farklılaşmasını uyarmasına bağlamışlardır[337]. Teriparatid uygulamalarının ise uzun dönem sonuçlarının tartışmalı olduğu bildirilmektedir. Ratlarda yapılan bir toksisite çalışmasında, uzun süre teriparatid kullanımının osteosarkoma riskini arttırdığı bildirilmiştir[338]. Teriparatidin insanlarda uzun süreli kullanılmasının sonuçları bilinmemekle beraber, subkutanöz enjeksiyonlar şeklinde uygulanmasının hasta kooperasyonu ile ilişkili zorluklara neden olması, ve yüksek maliyetinden dolayı, MRONJ'da kullanılması ile ilgili çelişkiler devam etmektedir [339]. MRONJ hastalarının birçoğu, günlük yaşamsal aktivite düzeyleri düşük bireylerden oluşmaktadır. Hastaların sistemik durumları göz önünde bulundurulduğu zaman, hastane ziyaretlerinin sık olduğu uzun süren bu tedavi süreçlerinde, hastaların yaşam konforu azalmakta ve tekrarlayan cerrahi uygulamalar ile osteonekrozun başarılı bir şekilde tedavisi mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, MRONJ tedavisinde kolay uygulanabilen, özel ekipman ve personel gerektirmeden her merkezde uygulanabilecek ve uzun dönem sonuçları ile etkinliği ispatlanmış ideal bir tedavi yöntemine ihtiyaç vardır.

Amelogeninler, prolinden zengin peptid ailesine ait olup, 5- kDa tyrosine-rich amelogenin peptit (TRAP) ve 6-8-kDa leucine-rich amelogenin peptit (LRAP) izoformları olan, enamel matriks proteinlerinin (EMP) temel bileşenidir[238]. Yapılan çalışmalarda, EMP'nin kemik metabolizmasında mineralizasyon aktivitelerinde rol aldığı ve bone sialoprotein (BSP), osteokalsin (OCN), Tip 1 kolajen (COL1), alkalen fosfataz (ALP) gibi kemiğe özgü belirteçlerin indüksiyonunda etkili olduğu bildirilmiştir[240].

Emdogain (EMD;Institut Straumann, Basel, İsviçre); EMP'nin liyofilize formu olarak hazırlanmış ticari bir preparattır. EMD içerisinde hem yüksek molekül ağırlıklı (TRAP) hem de düşük molekül ağırlıklı (LRAP) protein izoformlarını barındırır [245]. Yapılan çalışmalar, EMD'nin yumuşak ve sert doku hücreleri üzerinde çeşitli etkileri olduğunu göstermektedir.

Emdogain ile yapılan bir çok çalışmada, epitel ve mezenkimal hücreler üzerinde emdogainin etkili olabileceği gösterilmiştir[340]–[342]. Emdogainin epitel hücrelerinin proliferasyonunu azalttığını gösteren çalışmalar olmakla birlikte[343], [344], birçok klinik çalışmada, intraoperatif emdogain kullanımından sonra epitelyal iyileşmenin hızlandığı gözlemlenmiştir[345]–[348]. Emdogainin gingival fibroblastların proliferasyonunu önemli ölçüde artırdığı ve sürecin zamana ve konsantrasyona bağlı olduğu gösterilmiştir[340], [349]. Rincon ve arkadaşlarının gingival ve periodontal ligament kaynaklı fibroblast hücre kültürü üzerine yaptıkları çalışmada, EMD'nin ana bileşeni olan amelogeninlerin gingival fibroblastların proliferasyonu ve migrasyonunu önemli ölçüde artırdığını, hızlı yumuşak doku iyileşmesini desteklediğini göstermişlerdir[349]. *Mirastschijski ve arkadaşları* tarafından yürütülen tavşanlar üzerinde yapılan çalışmada, enamel matriks türevlerinin yara yüzeyine uygulamasının granülasyon dokusu oluşumunu desteklediğini göstermiştir. Yapılan makroskopik değerlendirmede EMD uygulanan grupta 3, 7 ve 14. günde yara alanının daha küçük olduğu ve oluşan yeni granülasyon dokusunun kontrol grubuna kıyasla yaralanmaya karşı daha dirençli, kanamaya daha az eğilimli olduğu bildirilmiştir. 28. günde yapılan histopatolojik inceleme, EMD grubunda daha olgun skar yapısıyla iyileşmenin ileri evlerinin gerçekleştiği gösterilmiştir[350]. Kobaylar üzerinde yapılan benzer bir çalışma, EMD ile tedavi edilen grupta kontrol grubuna göre yara genişliğinde azalma olduğunu göstermiştir. Histolojik olarak, EMD uygulanan grupta daha fazla miktarda bağ dokusu ve daha iyi şekilli kolajen varlığı bildirilmiştir[351]. Tonetti ve arkadaşları rejeneratif

tedavinin iyileşme sürecini değerlendirdikleri çok merkezli, randomize, kontrollü klinik çalışmada, emdogain uygulamasının ardından erken dönemde yumuşak doku yoğunluğunda kazanımlar olduğunu gözlemlemiştir[352].

EMD'nin yumuşak doku üzerindeki olumlu etkileri değerlendirildiğinde, MRONJ olgularında da kullanılabileceği düşünülmüştür. Yapılan literatür taramasında ise EMD'nin MRONJ'da kullanımı ile ilgili herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamız, EMD'nin MRONJ'a bağlı yumuşak ve sert dokudaki değişiklikleri üzerindeki etkinliğini değerlendiren ilk çalışmadır. Makroskopik olarak EMD'nin etkinliği değerlendirildiğinde, literatürdeki veriler ile uyumlu olarak, EMD uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre, yara yerinde tam mukozal kapanma oranlarının belirgin derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu anlamda, osteonekroz olgularında EMD uygulamasının, MRONJ nedeniyle azalan yumuşak doku iyileşmesini stimüle ederek, yara yerlerindeki mukozal kapanmayı arttırdığı tespit edilmiştir.

EMD'nin yumuşak doku hücreleri üzerindeki etkileri, immunhistokimyasal yöntemlerle de gösterilmiştir. Yeni kan damarı oluşumundan sorumlu olduğu bilinen bir anjiyojenik büyüme faktörü olan VEGF'nin ekspresyonundaki artışın, yara içindeki kan desteğinin daha hızlı yenilenmesini sağlayarak doku onarımına katkıda bulunabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir[35], [243], [353]. TGF- β yara iyileşmesini düzenlemede önemli bir büyüme faktörü olarak kabul edilir[354], [355]. Bir dizi *in vitro* çalışma, Emdogainin diş eti fibroblastları ve PDL hücrelerinde TGF- β 'nin ekspresyonunu ve/veya salınımını arttırdığını göstermiştir[37], [356]–[359]. Benzer şekilde, EMD'nin IL-17 seviyesinde de etkili olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur[38], [260]. Kashefimehr ve arkadaşları peri-implant mukozitis hastalarına mekanik debridmana ek olarak emdogain uyguladıklarında diş eti oluşu sıvısında IL-17 ve IL-6 seviyelerinin kontrol grubuna oranla önemli derecede azaldığını göstermişlerdir[38]. Villa ve arkadaşları ise periodontal ligament fibroblastlarından elde ettikleri hücre kültürüne EMD uyguladıklarında VEGF seviyesinin arttığını ve IL-17 salınımının azaldığını göstermişlerdir[260].

İskelet homeostazının sürdürülmesi ve kemiğin yeniden şekillenme sürecinin sağlıklı şekilde devamı için yeterli sayıda olgun osteoblast ve osteoklast üretilmesini gerektirir. Tümör nekroz faktörü (TNF) üst ailesine ait bir tip II homotrimerik transmembran proteini olan RANKL'nin aynı kökenli reseptörü RANK'a bağlanması, osteoklastogenez

için gereklidir[360]–[362]. OPG ise RANK reseptörüne bağlanarak osteoklast aracılı kemik rezorpsiyonu üzerinde antagonistik bir etki uygular[363], [364]. Bisfosfonatla tedavi edilmiş insan ve kemirgen çene kemikleri ile ilgili yapılan birçok çalışma, bisfosfonat uygulamasını takiben RANKL/OPG oranında önemli ölçüde aşağı regülasyon olduğunu ortaya koymuştur[365]–[367]. BP kullanımı sonrası kemikte RANKL/OPG'nin aşağı regülasyonunu sonrası kemik döngüsünün baskılanması, kemiğin yeniden şekillenmesinde başarısızlığa ve dentoalveoler cerrahiden sonra osteonekroz gelişimine neden olabilir. RANKL/OPG oranı bu nedenle MRONJ lezyonlarının ciddiyetini değerlendirmek için önemli bir biyobelirteçtir[365]–[367]. Emdogainin, OPG ve RANKL ekspresyonunu modüle ederek bu sistem üzerinde de önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Birkaç çalışma RANKL'de bir yukarı regülasyon olduğunu öne sürerken[256], çoğu çalışma RANKL'de aşağı yönde regülasyon ve OPG'de yukarı yönde regülasyon olduğunu göstermiştir[37]. Bu, Emdogainin RANK-RANKL-OPG sistemini büyük olasılıkla kemik apozisyonuna doğru modüle ettiğini düşündürür. EMP'ler tarafından yukarı yönde regüle edilen bazı büyüme faktörleri ve sitokinlerin doğrudan OPG'yi yukarı yönde regüle ettiği ve RANKL üretimini aşağı yönde regüle ederek kemik remodelasyonunda etki ettiği düşünülmektedir[37]. Ayrıca Emdogain, insan kemik iliği stromal hücrelerinin proliferasyonunu doza bağımlı bir şekilde artırır[32]. Emdogain uygulamasının insan osteoblastik hücrelerinin (Saos-2) proliferasyonunu arttırdığı literatürde gösterilmiştir[33]. Benzer şekilde, fare preosteoblastik hücre dizisine (MC3T3-E1) Emdogain uygulandığında, önemli ölçüde artmış bir ALP aktivitesi ve tip I kolajen, bone sialoprotein (BSP), osteocalcin (OC), osteoprotegrin (OPG) ve IGF- mRNA ekspresyonunda yukarı yönlü regülasyon tespit edilmiştir[34]. Bizim çalışmamızda da literatürdekine benzer şekilde hem yumuşak dokuda hem de sert dokuda EMD'nin VEGF, IL-17 ve OPG ekspresyon düzeyleri, immunhistokimyasal olarak incelenmiştir. Çalışmanın sonunda, diş çekiminden sonra EMD uygulanan ratlarda, kontrol grubuna göre hem yumuşak doku iyileşmesinin hem de kemik iyileşmesinin, daha yüksek olduğu doğrulanmıştır. Benzer şekilde, cerrahi tedavi uygulanan ve EMD uygulanmayan gruba kıyasla, cerrahi debridmanla birlikte EMD uygulamasının, yeni kemik oluşumunu stimüle ettiği gözlenmiştir. Kemik ve yumuşak doku rejenerasyonunda kullanılan biyobelirteçlerden VEGF, IL-17 ve OPG değerleri, EMD uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derece yüksek bulunmuştur. Tüm bu veriler, EMD uygulamasının,

MRONJ'un önlenmesinde ve cerrahi tedavisinde başarılı klinik sonuçları olduğunu göstermektedir.

Kemik rejenerasyonu ve yara yeri iyileşmesindeki sert doku değişiklikleri histopatolojik olarak değerlendirilebileceği gibi, radyografik yöntemlerle de incelenebilir. Micro-BT, bir kemik örneğinin üç boyutlu geometrik ve yoğunluk özelliklerini karakterize etmek ve ölçmek için hızlı ve güvenli bir tekniktir[368].Ersan ve arkadaşlarının bifosfonat verilen ratların diş çekim bölgeleri üzerine teriparatidin etkisini değerlendirdikleri çalışmada, teriparatid ile tedavi edilen ratlarda kemik mineral yoğunluğunun(BMD) sadece bifosfonat uygulanan ratlara oranla anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bulmuşlardır[338]. Wand ve arkadaşları yaptıkları çalışmanın mikro-bt incelemesinde, bifosfonat uyguladıkları ratlarda diş çekim bölgesinde, bifosfonat verilmeyen ratlara göre daha yüksek BMD değerleri bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada bifosfonat uygulanan 24 ratın 3'ünde osteonekroz gelişmiştir[369]. Hadad ve arkadaşları, beta trikalsiyum fosfat uygulamasının ratlarda MRONJ gelişimini önleyici etkisine baktıkları çalışmalarında, mikro-bt incelemesinde BV/TV değerinin en düşük bifosfonat verilen ve çekim soketleri boş bırakılan grupta olduğunu, tedavi uygulanan gruplarda ise değer anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada trabeküler kemik yapısının belirleyen Tb.Th ve Tb.N değerlerinin sadece bifosfonat uygulanan ratlarda daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Tb.Sp ve Po.tot değerlerinin ise sadece bifosfonat uygulanan ratlarda en yüksek olduğunu söylemişlerdir[370]. Adachi ve arkadaşları fluvastatinin MRONJ gelişimini önleyici etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, mikro-ct incelemesinde BV/TV değerinin bifosfonat uygulamasından sonra diş çekimi yapılan ratlarda, kontrol grubuna göre en düşük olduğunu ve fluvastatin uygulanan ratlarda BV/TV oranının kontrol grubundan düşük olmakla birlikte bifosfonat sonrası diş çekimi yapılan ratlardan daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir[371].Kim ve arkadaşları, ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada bifosfonat uygulanan ratlarda oluşturulan osteonekroz alanları üzerine pH farkının etkisini incelemişlerdir. Yapılan mikro-Bt incelemede asidik ortamın osteonekrozun şiddetini arttırdığını, kontrol ve alkali ortam gruplarına göre BV/TV ve Tb.N değerlerinin azalttığını bildirmişlerdir[372]. Paratiroid hormonun MRONJ gelişimini engelleyici özelliğinin değerlendirdiği çalışmada yapılan mikro-bt incelemesinde ise, BV/TV değerinin sadece bifosfonat uygulanan kontrol grubunda en düşük, paratiroid hormon verilen gruplarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir[373].Yine aynı çalışmada Tb.N değerinin istatistiksel olarak anlamlı

derecede kontrol grubundan daha yüksek olduğu ve Tb.Sp değerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir. Schoenhof ve arkadaşları osteonekroz lezyonlarının sekestir ve canlı kemik yüzeylerde yaptıkları mikro-ct çalışmasında BV/TV değerinin canlı kemik yüzeylerinde daha yüksek olduğunu ve sekestir alanlarında bu değer düşüğünü bildirmişlerdir. Sekestir bölgesinde kemik hacminin azalmasını bakteriyel ve inflamatuvar sürece bağlamışlardır[374].

Bu çalışmada da EMD'nin MRONJ gelişimdeki etkileri micro-bt ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, en yüksek BMD değeri Grup 1'de elde edilirken(kontrol), en düşük BMD değerinin ise Grup 2(bifosfonat)'de olduğu ve Grup 3(emdogain)'deki BMD değerinin istatistiksel olarak grup 2'den yüksek olduğu görülmüştür. Yeni oluşan kemik doku hakkında fikir veren BV/TV oranına bakıldığında ise, en yüksek değer Grup 1'de olmakla birlikte, Grup 3'teki BV/TV değeri Grup 2'den anlamlı derecede yüksektir. Benzer şekilde, EMD'nin MRONJ'un tedavisindeki etkinliğinin değerlendirildiği gruplarda da EMD uygulanan gruptaki değerler , kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Tüm bu veriler, diş çekiminden ve cerrahi debridmandan sonra EMD uygulamasının, MRONJ'un önleminde ve tedavisinde etkili olduğunu radyografik olarak da doğrulamaktadır.

6. SONUÇLAR

1. Ratlara haftada 3 kez 0,1mg/kg zoledronik asitin 8 hafta boyunca intraperitoneal olarak uygulanması sonrası mandibulada diş çekimi ve defekt oluşturulması ile bifosfonat osteonekroz modeli oluşturulabilir.
2. Bifosfonat verilen ratlarda diş çekimi sonrası çekim soketine lokal emdogain uygulaması yumuşak ve sert doku iyileşmesini arttırarak MRONJ gelişmesini önlemede kullanılabilir.
3. Bifosfonat verilen ve diş çekimi sonrası osteonekroz gelişen ratlarda debridman sonrası lokal emdogain uygulaması yumuşak ve sert doku iyileşmesini arttırarak MRONJ tedavisinde kullanılabilir.
4. Ratlarda çekim soketine lokal emdogain uygulaması çekim soketinde ve mukozada IL-17 ekspresyon seviyesini azaltır. MRONJ olgularında artan IL-17 seviyelerinin azalması inflamatuvar cevabı azaltarak iyileşme sürecini olumlu yönde etkiler.
5. Ratlarda çekim soketine lokal emdogain uygulaması çekim soketinde ve mukozada OPG ekspresyon seviyesini arttırır. Bu durum kemik turnoverı apozisyon yönünde uyarır.
6. Ratlarda çekim soketine lokal emdogain uygulaması çekim soketinde ve mukozada VEGF ekspresyon seviyesini arttırır. VEGF artışı, anjiogenezi arttırarak yumuşak ve sert doku iyileşmesine katkı sunar.
7. MRONJ modeli oluşturulan ratlarda önleyici ya da tedavi amacıyla emdogain uygulaması mikro-Bt analizinde , yeni kemik oluşumunun ve kemik rejenerasyonun değerlendirilmesinde belirleyici olan BMD, BV, TV, BV/TV, Tb.Th, Tb.N değerlerini arttırırken, kemiğin porozitesi ile ilgili olan Po.tot ve Tn.Sp değerlerini azaltır.

8. Elde edilen tüm klinik, histolojik ve radyografik verilere göz önünde bulundurulduğunda, in vivo MRONJ modelinde çekim soketlerine lokal emdogain uygulaması, MRONJ'un hem önlenmesinde hem de tedavisinde olumlu etkilere sahiptir.
9. MRONJ olgularında tercih edilebilecek konservatif tedavi yöntemlerinden biri de lokal emdogain uygulaması olabilir. Bu deneysel çalışmadan elde edilen sonuçların klinik etkinliğinin ve güvenilirliğinin değerlendirilebilmesi için, geniş grupları içeren ileri klinik çalışmaların planlanmasına ihtiyaç vardır.



KAYNAKÇA

- [1] R. E. Marx, Y. Sawatari, M. Fortin, and V. Broumand, "Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 63, no. 11, pp. 1567–1575, 2005, doi: 10.1016/J.JOMS.2005.07.010.
- [2] R. E. Marx, "Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: A growing epidemic [1]," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 61, no. 9, pp. 1115–1117, Sep. 2003, doi: 10.1016/S0278-2391(03)00720-1.
- [3] S. L. Ruggiero, B. Mehrotra, T. J. Rosenberg, and S. L. Engroff, "Osteonecrosis of the Jaws Associated with the Use of Bisphosphonates: A Review of 63 Cases," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 62, no. 5, pp. 527–534, 2004, doi: 10.1016/j.joms.2004.02.004.
- [4] J. W. Hellstein and C. L. Marek, "Bisphosphonate osteochemonecrosis (bisphossy jaw): Is this phossy jaw of the 21st century?," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 63, no. 5, pp. 682–689, 2005, doi: 10.1016/j.joms.2005.01.010.
- [5] A. A. Khan *et al.*, "Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and international consensus.," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 30, no. 1, pp. 3–23, Jan. 2015, doi: 10.1002/JBMR.2405.
- [6] S. L. Ruggiero *et al.*, "American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 72, no. 10, pp. 1938–1956, 2014, doi: 10.1016/J.JOMS.2014.04.031.
- [7] J. Yamashita and L. K. McCauley, "Antiresorptives and osteonecrosis of the jaw," *J. Evid. Based. Dent. Pract.*, vol. 12, no. 3 Suppl, pp. 233–247, Sep. 2012, doi: 10.1016/S1532-3382(12)70046-5.
- [8] M. R. Allen and D. B. Burr, "The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: so many hypotheses, so few data," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 67, no. 5 Suppl, pp. 61–70, May 2009, doi: 10.1016/J.JOMS.2009.01.007.
- [9] M. J. Rogers, "From molds and macrophages to mevalonate: a decade of progress in understanding the molecular mode of action of bisphosphonates," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 75, no. 6, pp. 451–461, Dec. 2004, doi: 10.1007/S00223-004-0024-1.

- [10] H. Fleisch, "Bisphosphonates: mechanisms of action," *Endocr. Rev.*, vol. 19, no. 1, pp. 80–100, 1998, doi: 10.1210/EDRV.19.1.0325.
- [11] D. E. Hughes *et al.*, "Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 10, no. 10, pp. 1478–1487, 1995, doi: 10.1002/JBMR.5650101008.
- [12] J. I. Aguirre, M. K. Altman, S. M. Vanegas, S. E. Franz, A. C. F. Bassit, and T. J. Wronski, "Effects of alendronate on bone healing after tooth extraction in rats," *Oral Dis.*, vol. 16, no. 7, pp. 674–685, Oct. 2010, doi: 10.1111/J.1601-0825.2010.01677.X.
- [13] P. Fournier *et al.*, "Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats.," *Cancer Res.*, 2002.
- [14] W. Zhang *et al.*, "The Role of the Immune Response in the Development of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw," *Front. Immunol.*, vol. 12, p. 606043, Feb. 2021, doi: 10.3389/FIMMU.2021.606043/FULL.
- [15] Y. Kobayashi *et al.*, "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.*, vol. 28, no. 2, pp. 165–175, Mar. 2010, doi: 10.1007/S00774-009-0128-9.
- [16] P. M. Yazdi and M. Schiodt, "Dentoalveolar trauma and minor trauma as precipitating factors for medication-related osteonecrosis of the jaw (ONJ): a retrospective study of 149 consecutive patients from the Copenhagen ONJ Cohort," *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, vol. 119, no. 4, pp. 416–422, Apr. 2015, doi: 10.1016/J.OOOO.2014.12.024.
- [17] A. L. Watters *et al.*, "Intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: Long-term follow-up of 109 patients," *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, vol. 115, no. 2, pp. 192–200, Feb. 2013, doi: 10.1016/J.OOOO.2012.05.017.
- [18] A. Bedogni *et al.*, "Staging of osteonecrosis of the jaw requires computed tomography for accurate definition of the extent of bony disease," *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 52, no. 7, pp. 603–608, 2014, doi: 10.1016/J.BJOMS.2014.04.009.

- [19] M. R. Allen and S. L. Ruggiero, "Higher bone matrix density exists in only a subset of patients with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 67, no. 7, pp. 1373–1377, Jul. 2009, doi: 10.1016/J.JOMS.2009.03.048.
- [20] K. E. Fleisher, G. Welch, S. Kottal, R. G. Craig, D. Saxena, and R. S. Glickman, "Predicting risk for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: CTX versus radiographic markers," *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology*, vol. 110, no. 4, pp. 509–516, Oct. 2010, doi: 10.1016/J.TRIPLEO.2010.04.023.
- [21] A. A. Khan *et al.*, "Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and international consensus," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 30, no. 1, pp. 3–23, Jan. 2015, doi: 10.1002/JBMR.2405.
- [22] S. Hammarström, L. Blomlof, L. & Lindskog, "Composition inducing a binding," Mar. 1991.
- [23] R. J. Miron *et al.*, "Twenty years of enamel matrix derivative: the past, the present and the future," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 43, no. 8, pp. 668–683, Aug. 2016, doi: 10.1111/JCPE.12546.
- [24] S. P. Lyngstadaas, J. C. Wohlfahrt, S. J. Brookes, M. L. Paine, M. L. Snead, and J. E. Reseland, "Enamel matrix proteins; old molecules for new applications," *Orthod. Craniofac. Res.*, vol. 12, no. 3, pp. 243–253, Aug. 2009, doi: 10.1111/J.1601-6343.2009.01459.X.
- [25] H. C. Margolis, E. Beniash, and C. E. Fowler, "Role of macromolecular assembly of enamel matrix proteins in enamel formation," *J. Dent. Res.*, vol. 85, no. 9, pp. 775–793, 2006, doi: 10.1177/154405910608500902.
- [26] J. D. Bartlett *et al.*, "3. Protein-protein interactions of the developing enamel matrix," *Curr. Top. Dev. Biol.*, vol. 74, pp. 57–115, 2006, doi: 10.1016/S0070-2153(06)74003-0.
- [27] F. J. G. Cuisinier, P. Steuer, B. Senger, J. C. Voegel, and R. M. Frank, "Human amelogenesis. I: High resolution electron microscopy study of ribbon-like crystals," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 51, no. 4, pp. 259–268, Oct. 1992, doi: 10.1007/BF00334485.
- [28] A. BOZOĞLAN, M. GÜL, and S. DÜNDAR, "Enamel Matris Türevinin (Emdogain®) Dental İmplant Osseointegrasyonu Üzerindeki Etkilerinin

- Değerlendirilmesi,” *J. Harran Univ. Med. Fac.*, vol. 18, no. 1, pp. 54–58, Apr. 2021, doi: 10.35440/HUTFD.852296.
- [29] T. Kawase, K. Okuda, H. Yoshie, and D. M. Burns, “Anti-TGF-beta antibody blocks enamel matrix derivative-induced upregulation of p21WAF1/cip1 and prevents its inhibition of human oral epithelial cell proliferation,” *J. Periodontal Res.*, vol. 37, no. 4, pp. 255–262, 2002, doi: 10.1034/J.1600-0765.2002.01615.X.
- [30] M. T. Van der Pauw, T. Van den Bos, V. Everts, and W. Beertsen, “Enamel matrix-derived protein stimulates attachment of periodontal ligament fibroblasts and enhances alkaline phosphatase activity and transforming growth factor beta1 release of periodontal ligament and gingival fibroblasts,” *J. Periodontol.*, vol. 71, no. 1, pp. 31–43, Jan. 2000, doi: 10.1902/JOP.2000.71.1.31.
- [31] H. R. Haase and P. M. Bartold, “Enamel matrix derivative induces matrix synthesis by cultured human periodontal fibroblast cells,” *J. Periodontol.*, vol. 72, no. 3, pp. 341–348, Mar. 2001, doi: 10.1902/JOP.2001.72.3.341.
- [32] L. Guida, M. Annunziata, S. Belardo, R. Farina, A. Scabbia, and L. Trombelli, “Effect of autogenous cortical bone particulate in conjunction with enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intraosseous defects,” *J. Periodontol.*, vol. 78, no. 2, pp. 231–238, Feb. 2007, doi: 10.1902/JOP.2007.060142.
- [33] N. H. M. Heng, P. D. N’Guessan, B.-M. Kleber, J.-P. Bernimoulin, and N. Pischon, “Enamel matrix derivative induces connective tissue growth factor expression in human osteoblastic cells,” *J. Periodontol.*, vol. 78, no. 12, pp. 2369–2379, Dec. 2007, doi: 10.1902/JOP.2007.070130.
- [34] J. He, J. Jiang, K. E. Safavi, L. S. W. Spångberg, and Q. Zhu, “Emdogain promotes osteoblast proliferation and differentiation and stimulates osteoprotegerin expression,” *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, vol. 97, no. 2, pp. 239–245, 2004, doi: 10.1016/j.tripleo.2003.10.005.
- [35] S. R. Schlueter, D. L. Carnes, and D. L. Cochran, “In vitro effects of enamel matrix derivative on microvascular cells,” *J. Periodontol.*, vol. 78, no. 1, pp. 141–151, Jan. 2007, doi: 10.1902/JOP.2007.060111.
- [36] A. Wackenfors, J. Sjögren, L. Algotsson, R. Gustafsson, R. Ingemansson, and M. Malmsjö, “Effects of a topical enamel matrix derivative on skin wound

- healing,” *Wound Repair Regen.*, vol. 12, no. 1, pp. 244–251, Mar. 2004, doi: 10.1111/J.1067-1927.2004.012117.X.
- [37] D. D. Bosshardt, “Biological mediators and periodontal regeneration: a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 35, no. 8 Suppl, pp. 87–105, Sep. 2008, doi: 10.1111/J.1600-051X.2008.01264.X.
- [38] A. Kashefimehr *et al.*, “Effects of enamel matrix derivative on non-surgical management of peri-implant mucositis: a double-blind randomized clinical trial,” *Clin. Oral Investig.*, vol. 21, no. 7, pp. 2379–2388, Sep. 2017, doi: 10.1007/S00784-016-2033-7.
- [39] A. Spahr *et al.*, “Coverage of Miller class I and II recession defects using enamel matrix proteins versus coronally advanced flap technique: a 2-year report,” *J. Periodontol.*, vol. 76, no. 11, pp. 1871–1880, Nov. 2005, doi: 10.1902/JOP.2005.76.11.1871.
- [40] N. B. Arweiler, T. M. Auschill, N. Donos, and A. Sculean, “Antibacterial effect of an enamel matrix protein derivative on in vivo dental biofilm vitality,” *Clin. Oral Investig.*, vol. 6, no. 4, pp. 205–209, 2002, doi: 10.1007/S00784-002-0185-0.
- [41] S. A. Newman, S. A. Coscia, R. Jotwani, V. J. Iacono, and C. W. Cutler, “Effects of enamel matrix derivative on *Porphyromonas gingivalis*,” *J. Periodontol.*, vol. 74, no. 8, pp. 1191–1195, Aug. 2003, doi: 10.1902/JOP.2003.74.8.1191.
- [42] C. Walter, P. Jawor, J. P. Bernimoulin, and S. Hägewald, “Moderate effect of enamel matrix derivative (Emdogain Gel) on *Porphyromonas gingivalis* growth in vitro,” *Arch. Oral Biol.*, vol. 51, no. 3, pp. 171–176, Mar. 2006, doi: 10.1016/J.ARCHORALBIO.2005.07.005.
- [43] P. A. Downey and M. I. Siegel, “Bone biology and the clinical implications for osteoporosis,” *Phys. Ther.*, vol. 86, no. 1, pp. 77–91, 2006, doi: 10.1093/PTJ/86.1.77.
- [44] E. office Of journal “Morphologia,” “Junqueira’s Basic Histology : Text & Atlas (15th ed.), 2018,” *Morphologia*, vol. 13, no. 2, pp. 101–104, Jun. 2019, doi: 10.26641/1997-9665.2019.3.101-104.
- [45] E. S., *Endokrinoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000.
- [46] Selahattin K., *Osteoporoz*. Ankara: Ajans-Türk Basın ve Basım Ağ, 1998.

- [47] W. R. Bronner F, *Orthopaedics: Principles of basic and clinical science*. CRC Press, 1999.
- [48] Selvi F, “Deneyssel olarak oluşturulan kırıklara bifosfonat ilaç kullanımının etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi,” İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.
- [49] A. M. Parfitt, C. H. E. Mathews, A. B. Villanueva, M. Kleerekoper, B. Frame, and D. S. Rao, “Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. Implications for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss,” *J. Clin. Invest.*, vol. 72, no. 4, pp. 1396–1409, 1983, doi: 10.1172/JCI111096.
- [50] P. D. Craft, M. M. Mani, J. Pazel, and F. W. Masters, “Experimental study of healing in fractures of membranous bone,” *Plast. Reconstr. Surg.*, vol. 53, no. 3, pp. 321–325, 1974, doi: 10.1097/00006534-197403000-00013.
- [51] H. JE, *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. Elsevier Health Sciences, 2015.
- [52] N. S., *Genel Histoloji*. İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, 1985.
- [53] T. A., *Genel Histoloji*, 6. Baskı e. Ankara: Palme Yayıncılık, 2006.
- [54] F. D. Bloom W, *A Textbook of Histology*, 10th ed. Philadelphia, London, Toronto: WB Saunders, 1975.
- [55] Erkiçak A., *Genel histoloji*. Ankara Üniv. Tıp Fakültesi, 1980.
- [56] A. Nanci, “Ten Cate’s oral histology : development, structure, and function,” p. 344.
- [57] S. C. Marks and S. N. Popoff, “Bone cell biology: the regulation of development, structure, and function in the skeleton,” *Am. J. Anat.*, vol. 183, no. 1, pp. 1–44, 1988, doi: 10.1002/AJA.1001830102.
- [58] S. C. Marks and P. R. Odgren, “Structure and Development of the Skeleton,” *Princ. Bone Biol.*, pp. 3–15, 2002, doi: 10.1016/B978-012098652-1.50103-7.
- [59] P. Ducy, T. Schinke, and G. Karsenty, “The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance,” *Science*, vol. 289, no. 5484, pp. 1501–1504, Sep. 2000, doi: 10.1126/SCIENCE.289.5484.1501.
- [60] J. P. Scherft and C. G. Groot, “The electron microscopic structure of the osteoblast,” *Ultrastruct. Skelet. Tissues*, pp. 209–222, 1990, doi: 10.1007/978-1-4613-1487-5_11.

- [61] M. Ponzetti and N. Rucci, "Osteoblast Differentiation and Signaling: Established Concepts and Emerging Topics," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 13, Jul. 2021, doi: 10.3390/IJMS22136651.
- [62] M. M. Sandberg, "Matrix in cartilage and bone development: current views on the function and regulation of major organic components," *Ann. Med.*, vol. 23, no. 3, pp. 207–217, 1991, doi: 10.3109/07853899109148050.
- [63] K. Henriksen, J. Bollerslev, V. Everts, and M. A. Karsdal, "Osteoclast activity and subtypes as a function of physiology and pathology--implications for future treatments of osteoporosis," *Endocr. Rev.*, vol. 32, no. 1, pp. 31–63, Feb. 2011, doi: 10.1210/ER.2010-0006.
- [64] D. M. Lewis, "Bisphosphonates, phossy jaw, and bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw," *J. Okla. Dent. Assoc.*, vol. 102, no. 5, pp. 36–39, Jul. 2011, Accessed: Apr. 03, 2023. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21874699/>.
- [65] L. Arboleya and S. Castañeda, "Osteoimmunology: The Study of the Relationship Between the Immune System and Bone Tissue," *Reumatol. Clínica (English Ed.)*, vol. 9, no. 5, pp. 303–315, Sep. 2013, doi: 10.1016/J.REUMAE.2013.02.004.
- [66] M. J. Seibel, "Biochemical Markers of Bone Turnover Part II: Clinical Applications in the Management of Osteoporosis," *Clin. Biochem. Rev.*, vol. 27, no. 3, p. 123, Aug. 2006, Accessed: Apr. 04, 2023. [Online]. Available: </pmc/articles/PMC1579289/>.
- [67] S. S. Huja, S. A. Fernandez, K. J. Hill, and Y. Li, "Remodeling dynamics in the alveolar process in skeletally mature dogs," *Anat. Rec. - Part A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.*, vol. 288, no. 12, pp. 1243–1249, Dec. 2006, doi: 10.1002/AR.A.20396.
- [68] K. E. Naylor, P. Iqbal, C. Fledelius, R. B. Fraser, and R. Eastell, "The effect of pregnancy on bone density and bone turnover," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 15, no. 1, pp. 129–137, 2000, doi: 10.1359/JBMR.2000.15.1.129.
- [69] G. Jonasson, I. Skoglund, and M. Rythén, "The rise and fall of the alveolar process: Dependency of teeth and metabolic aspects," *Arch. Oral Biol.*, vol. 96, pp. 195–200, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.ARCHORALBIO.2018.09.016.
- [70] T. M. G. Chu, S. S. Y. Liu, and W. J. Babler, "Craniofacial Biology,

- Orthodontics, and Implants,” *Basic Appl. Bone Biol.*, pp. 225–242, Aug. 2013, doi: 10.1016/B978-0-12-416015-6.00011-3.
- [71] J. Sodek and M. D. McKee, “Molecular and cellular biology of alveolar bone,” *Periodontol. 2000*, vol. 24, no. 1, pp. 99–126, 2000, doi: 10.1034/J.1600-0757.2000.2240106.X.
- [72] J. E. REGAN and D. F. MITCHELL, “Roentgenographic and dissection measurements of alveolar crest height,” *J. Am. Dent. Assoc.*, vol. 66, no. 3, pp. 356–359, Mar. 1963, doi: 10.14219/JADA.ARCHIVE.1963.0106.
- [73] D. J. Hadjidakis and I. I. Androulakis, “Bone remodeling,” *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1092, pp. 385–396, 2006, doi: 10.1196/ANNALS.1365.035.
- [74] A. Hulth, “Fracture healing. A concept of competing healing factors,” *Acta Orthop. Scand.*, vol. 51, no. 1, pp. 5–8, 1980, doi: 10.3109/17453678008990762.
- [75] J. C. J. Webb and J. Tricker, “A review of fracture healing,” *Curr. Orthop.*, vol. 14, no. 6, pp. 457–463, 2000, doi: 10.1054/CUOR.2000.0145.
- [76] P. Lafforgue, “Pathophysiology and natural history of avascular necrosis of bone,” *Jt. bone spine*, vol. 73, no. 5, pp. 500–507, Oct. 2006, doi: 10.1016/J.JBSPIN.2006.01.025.
- [77] C. Cooper, M. Steinbuch, R. Stevenson, R. Miday, and N. B. Watts, “The epidemiology of osteonecrosis: findings from the GPRD and THIN databases in the UK,” *Osteoporos. Int.*, vol. 21, no. 4, p. 569, Apr. 2010, doi: 10.1007/S00198-009-1003-1.
- [78] M. Ángeles Martínez-Ferrer, P. Peris, and N. Guañabens, “Osteonecrosis. What Is New?,” *Reumatol. Clínica (English Ed.)*, vol. 3, no. 2, pp. 78–84, Jan. 2007, doi: 10.1016/S2173-5743(07)70216-2.
- [79] M. Manfredi, E. Merigo, R. Guidotti, M. Meleti, and P. Vescovi, “Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a case series of 25 patients affected by osteoporosis,” *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 40, no. 3, pp. 277–284, Mar. 2011, doi: 10.1016/J.IJOM.2010.11.002.
- [80] M. H. ABU-ID *et al.*, “‘Bis-phossy jaws’ - high and low risk factors for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw,” *J. Craniomaxillofac. Surg.*, vol. 36, no. 2, pp. 95–103, 2008, doi: 10.1016/J.JCMS.2007.06.008.
- [81] A. E. Miles, “Phosphorus necrosis of the jaw: ‘phossy jaw,’” *Br. Dent. J.*, vol. 133, no. 5, pp. 203–206, Sep. 1972, doi: 10.1038/SJ.BDJ.4802906.

- [82] A. A. of O. and M. S. Advisory Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, “American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 65, no. 3, pp. 369–376, Mar. 2007, doi: 10.1016/J.JOMS.2006.11.003.
- [83] J. M. O. M. Font, Rafael Gómez, María Luisa Martínez García, “Osteochemonecrosis of the jaws due to bisphosphonate treatments. Update - PubMed,” *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2008, Accessed: Apr. 04, 2023. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18449117/>.
- [84] I. R. Reid, “Anti-resorptive therapies for osteoporosis,” *Semin. Cell Dev. Biol.*, vol. 19, no. 5, pp. 473–478, 2008, doi: 10.1016/J.SEMCDB.2008.08.002.
- [85] T. B. Aksoy, Müge Çınar, Özge Kolkesen Şahin, Gülperi Koçer, “Bifosfonata bağlı çene kemiklerinde gelişen osteonekroz: Atipik klinik görüntü Biphosphonate related osteonecrosis of the jaws: Atypical clinical appearance,” *SDÜ Sağlık Bilim. Derg.*, 2015.
- [86] E. Tarım Ertaş and M. Yırcalı Atıcı, “Bifosfonatlar ve çene kemiğinde görülen osteonekroz.”
- [87] J. E. Davies, “The pharmacological basis of therapeutics,” *Occup. Environ. Med.*, vol. 64, no. 8, p. e2, Aug. 2007, doi: 10.1136/OEM.2007.033902.
- [88] R. G. G. Russell, N. B. Watts, F. H. Ebetino, and M. J. Rogers, “Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy,” *Osteoporos. Int.*, vol. 19, no. 6, pp. 733–759, Jun. 2008, doi: 10.1007/S00198-007-0540-8.
- [89] A. J. Ashcroft, F. E. Davies, and G. J. Morgan, “Aetiology of bone disease and the role of bisphosphonates in multiple myeloma,” *Lancet Oncol.*, vol. 4, no. 5, pp. 284–292, May 2003, doi: 10.1016/S1470-2045(03)01076-3.
- [90] N. M. H. McLeod, B. J. B. Davies, and P. A. Brennan, “Bisphosphonate osteonecrosis of the jaws; An increasing problem for the dental practitioner,” *Br. Dent. J.*, vol. 203, no. 11, pp. 641–644, Dec. 2007, doi: 10.1038/BDJ.2007.1065.
- [91] E. C. Li and L. E. Davis, “Zoledronic Acid: A New Parenteral Bisphosphonate,” *Clin. Ther.*, vol. 25, no. 11, pp. 2669–2708, 2003, doi: 10.1016/S0149-2918(03)80327-2.
- [92] N. B. Watts and D. L. Diab, “Long-term use of bisphosphonates in

- osteoporosis,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 95, no. 4, pp. 1555–1565, 2010, doi: 10.1210/JC.2009-1947.
- [93] R. E. Marx, Y. Sawatari, M. Fortin, and V. Broumand, “Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 63, no. 11, pp. 1567–1575, 2005, doi: 10.1016/J.JOMS.2005.07.010.
- [94] A. Cheng, C. G. Daly, R. M. Logan, B. Stein, and A. N. Goss, “Alveolar bone and the bisphosphonates,” *Aust. Dent. J.*, vol. 54 Suppl 1, pp. S51–S61, Sep. 2009, doi: 10.1111/J.1834-7819.2009.01143.X.
- [95] A. Lipton *et al.*, “Pamidronate Prevents Skeletal Complications and Is Effective Palliative Treatment in Women with Breast Carcinoma and Osteolytic Bone Metastases Long Term Follow-Up of Two Randomized, Placebo-Controlled Trials,” 2000, doi: 10.1002/(SICI)1097-0142(20000301)88:5.
- [96] C. E. Evans and I. P. Braidman, “Effects of two novel bisphosphonates on bone cells in vitro,” *Bone Miner.*, vol. 26, no. 2, pp. 95–107, Jan. 1994, doi: 10.1016/S0169-6009(08)80055-4.
- [97] J. R. Green, K. Müller, and K. A. Jaeggi, “Preclinical pharmacology of CGP 42’446, a new, potent, heterocyclic bisphosphonate compound,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 9, no. 5, pp. 745–751, 1994, doi: 10.1002/JBMR.5650090521.
- [98] S. Derenne *et al.*, “Zoledronate is a potent inhibitor of myeloma cell growth and secretion of IL-6 and MMP-1 by the tumoral environment,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 14, no. 12, pp. 2048–2056, 1999, doi: 10.1359/JBMR.1999.14.12.2048.
- [99] S. P. Jagdev, R. E. Coleman, C. M. Shipman, A. Rostami-H., and P. I. Croucher, “The bisphosphonate, zoledronic acid, induces apoptosis of breast cancer cells: evidence for synergy with paclitaxel,” *Br. J. Cancer*, vol. 84, no. 8, p. 1126, 2001, doi: 10.1054/BJOC.2001.1727.
- [100] “Bisphosphonates Inhibit Breast and Prostate Carcinoma Cell Invasion, an Early Event in the Formation of Bone Metastases1 | Cancer Research | American Association for Cancer Research.” <https://aacrjournals.org/cancerres/article/60/11/2949/506345/Bisphosphonates-Inhibit-Breast-and-Prostate> (accessed Apr. 04, 2023).
- [101] J. Wood *et al.*, “Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid,” *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 302, no. 3, pp. 1055–1061, Sep.

- 2002, doi: 10.1124/JPET.102.035295.
- [102] R. E. Marx, J. E. Cillo, and J. J. Ulloa, “Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 65, no. 12, pp. 2397–2410, Dec. 2007, doi: 10.1016/J.JOMS.2007.08.003.
 - [103] Kayaalp S. Oğuz, *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. Hacettepe Taş Kitapçılık Limited şti., 2005.
 - [104] J. R. Berenson *et al.*, “American Society of Clinical Oncology clinical practice guidelines: the role of bisphosphonates in multiple myeloma,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 20, no. 17, pp. 3719–3736, Sep. 2002, doi: 10.1200/JCO.2002.06.037.
 - [105] C. Van Poznak and C. Estilo, “Osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving IV bisphosphonates,” *Oncology (Williston Park)*., vol. 20, no. 9, pp. 1053–62; discussion 1065, Aug. 2006, Accessed: Apr. 06, 2023. [Online]. Available: <https://europepmc.org/article/med/16986349>.
 - [106] F. H. Glorieux, N. J. Bishop, H. Plotkin, G. Chabot, G. Lanoue, and R. Travers, “Cyclic administration of pamidronate in children with severe osteogenesis imperfecta,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 339, no. 14, pp. 947–952, Oct. 1998, doi: 10.1056/NEJM199810013391402.
 - [107] A. Kamoun-Goldrat, D. Ginisty, and M. Le Merrer, “Effects of bisphosphonates on tooth eruption in children with osteogenesis imperfecta,” *Eur. J. Oral Sci.*, vol. 116, no. 3, pp. 195–198, Jun. 2008, doi: 10.1111/J.1600-0722.2008.00529.X.
 - [108] H. Katz, “Endodontic implications of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a report of three cases,” *J. Endod.*, vol. 31, no. 11, pp. 831–834, 2005, doi: 10.1097/01.DON.0000186481.96169.CD.
 - [109] S. Lehrer *et al.*, “Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 67, no. 1, pp. 159–161, Jan. 2009, doi: 10.1016/J.JOMS.2008.09.015.
 - [110] B. Cryer and D. C. Bauer, “Oral bisphosphonates and upper gastrointestinal tract problems: what is the evidence?,” *Mayo Clin. Proc.*, vol. 77, no. 10, pp. 1031–1043, 2002, doi: 10.4065/77.10.1031.
 - [111] A. R. Malik, S. H. Campbell, and N. M. G. Toma, “Bilateral acute anterior uveitis after alendronate,” *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 86, no. 12, p. 1443, Dec.

- 2002, doi: 10.1136/BJO.86.12.1443.
- [112] R. Hirschberg, "Renal complications from bisphosphonate treatment," *Curr. Opin. Support. Palliat. Care*, vol. 6, no. 3, pp. 342–347, Sep. 2012, doi: 10.1097/SPC.0B013E328356062E.
 - [113] T. Tanvetyanon and P. J. Stiff, "Management of the adverse effects associated with intravenous bisphosphonates," *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 17, no. 6, pp. 897–907, 2006, doi: 10.1093/ANNONC/MDJ105.
 - [114] P. Diz, J. L. López-Cedrún, J. Arenaz, and C. Scully, "Denosumab-related osteonecrosis of the jaw," *J. Am. Dent. Assoc.*, vol. 143, no. 9, pp. 981–984, 2012, doi: 10.14219/JADA.ARCHIVE.2012.0323.
 - [115] M. R. McClung *et al.*, "Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density," *N. Engl. J. Med.*, vol. 354, no. 8, pp. 821–831, Feb. 2006, doi: 10.1056/NEJMOA044459.
 - [116] M. Leonard *et al.*, "Denosumab: A New Therapy for Osteoporosis," 2010.
 - [117] A. J. Yee and N. S. Raje, "Denosumab, a RANK ligand inhibitor, for the management of bone loss in cancer patients," *Clin. Interv. Aging*, vol. 7, p. 331, Aug. 2012, doi: 10.2147/CIA.S14566.
 - [118] J. S. Burkiewicz, S. L. Scarpace, and S. P. Bruce, "Denosumab in osteoporosis and oncology," *Ann. Pharmacother.*, vol. 43, no. 9, pp. 1445–1455, Sep. 2009, doi: 10.1345/APH.1M102.
 - [119] : Mehmet *et al.*, "İlaça Bağlı Olarak Çene Kemiklerinde Görülen Osteonekroz (Mronj): Derleme," *Suleyman Demirel Univ. J. Heal. Sci.*, vol. 8, no. 2, pp. 50–57, Apr. 2017, doi: 10.22312/SDUSBED.302041.
 - [120] J. J. Body *et al.*, "A study of the biological receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand inhibitor, denosumab, in patients with multiple myeloma or bone metastases from breast cancer," *Clin. Cancer Res.*, vol. 12, no. 4, pp. 1221–1228, Feb. 2006, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1933.
 - [121] E. M. Lewiecki, "RANK ligand inhibition with denosumab for the management of osteoporosis," *Expert Opin. Biol. Ther.*, vol. 6, no. 10, pp. 1041–1050, Oct. 2006, doi: 10.1517/14712598.6.10.1041.
 - [122] P. J. Bekker *et al.*, "A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 19, no. 7, pp. 1059–1066, Jul. 2004, doi:

10.1359/JBMR.040305.

- [123] M. A. Mascelli *et al.*, “Molecular, biologic, and pharmacokinetic properties of monoclonal antibodies: impact of these parameters on early clinical development,” *J. Clin. Pharmacol.*, vol. 47, no. 5, pp. 553–565, May 2007, doi: 10.1177/0091270006298360.
- [124] E. Michael Lewiecki, “Denosumab: an investigational drug for the management of postmenopausal osteoporosis,” *Biologics*, vol. 2, no. 4, pp. 645–653, 2008, doi: 10.2147/BTT.S2082.
- [125] I. S. Hamadeh, B. A. Ngwa, and Y. Gong, “Drug induced osteonecrosis of the jaw,” *Cancer Treat. Rev.*, vol. 41, no. 5, pp. 455–464, May 2015, doi: 10.1016/J.CTRV.2015.04.007.
- [126] C. H. Van Poznak *et al.*, “American Society of Clinical Oncology executive summary of the clinical practice guideline update on the role of bone-modifying agents in metastatic breast cancer,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 29, no. 9, pp. 1221–1227, Mar. 2011, doi: 10.1200/JCO.2010.32.5209.
- [127] H. G. Bone *et al.*, “Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 93, no. 6, pp. 2149–2157, 2008, doi: 10.1210/JC.2007-2814.
- [128] J. P. Brown *et al.*, “Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized, blinded, phase 3 trial,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 24, no. 1, pp. 153–161, Jan. 2009, doi: 10.1359/JBMR.0809010.
- [129] A. Horner, S. Bord, A. W. Kelsall, N. Coleman, and J. E. Compston, “Tie2 ligands angiopoietin-1 and angiopoietin-2 are coexpressed with vascular endothelial cell growth factor in growing human bone,” *Bone*, vol. 28, no. 1, pp. 65–71, 2001, doi: 10.1016/S8756-3282(00)00422-1.
- [130] J. Street and B. Lenahan, “Vascular endothelial growth factor regulates osteoblast survival – evidence for an autocrine feedback mechanism,” *J. Orthop. Surg. Res.*, vol. 4, no. 1, p. 19, 2009, doi: 10.1186/1749-799X-4-19.
- [131] R. Kerbel and J. Folkman, “Clinical translation of angiogenesis inhibitors,” *Nat. Rev. Cancer*, vol. 2, no. 10, pp. 727–739, Oct. 2002, doi: 10.1038/NRC905.
- [132] D. M. Bernold and F. A. Sinicrope, “Advances in chemotherapy for colorectal cancer,” *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 4, no. 7, pp. 808–821, Jul. 2006, doi:

10.1016/J.CGH.2006.04.016.

- [133] R. S. Herbst *et al.*, “Phase II study of efficacy and safety of bevacizumab in combination with chemotherapy or erlotinib compared with chemotherapy alone for treatment of recurrent or refractory non small-cell lung cancer,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 25, no. 30, pp. 4743–4750, Oct. 2007, doi: 10.1200/JCO.2007.12.3026.
- [134] F. Kazazi-Hyseni, J. H. Beijnen, and J. H. M. Schellens, “Bevacizumab,” *Oncologist*, vol. 15, no. 8, pp. 819–825, Aug. 2010, doi: 10.1634/THEONCOLOGIST.2009-0317.
- [135] D. Kook *et al.*, “Long-term effect of intravitreal bevacizumab (avastin) in patients with chronic diffuse diabetic macular edema,” *Retina*, vol. 28, no. 8, pp. 1053–1060, Sep. 2008, doi: 10.1097/IAE.0B013E318176DE48.
- [136] C. L. Estilo, M. Fornier, A. Farooki, D. Carlson, G. Bohle, and J. M. Huryn, “Osteonecrosis of the jaw related to bevacizumab,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 26, no. 24, pp. 4037–4038, 2008, doi: 10.1200/JCO.2007.15.5424.
- [137] H. Abel Mahedi Mohamed, C. E. N. Nielsen, and M. Schiodt, “Medication related osteonecrosis of the jaws associated with targeted therapy as monotherapy and in combination with antiresorptives. A report of 7 cases from the Copenhagen Cohort,” *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, vol. 125, no. 2, pp. 157–163, Feb. 2018, doi: 10.1016/J.OOOO.2017.10.010.
- [138] F. P. Koch, C. Walter, T. Hansen, E. Jäger, and W. Wagner, “Osteonecrosis of the jaw related to sunitinib,” *Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 15, no. 1, pp. 63–66, Mar. 2011, doi: 10.1007/S10006-010-0224-Y.
- [139] J. Ayllon, V. Launay-Vacher, J. Medioni, C. Cros, J. P. Spano, and S. Oudard, “Osteonecrosis of the jaw under bisphosphonate and antiangiogenic therapies: cumulative toxicity profile?,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 20, no. 3, pp. 600–601, 2009, doi: 10.1093/ANNONC/MDN788.
- [140] M. T. Matthias Troeltzsch, Timothy Woodlock, Stefanie Kriegelstein, Timm Steiner, Karl Messlinger, “Bone Homeostasis and Mechanisms of Drug Interactions with Bone Turnover,” *J Can Dent Assoc*, 2012.
- [141] S. Hoefert and H. Eufinger, “Sunitinib may raise the risk of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: presentation of three cases,” *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, vol. 110, no. 4, pp. 463–469, Oct. 2010,

- doi: 10.1016/J.TRIPLEO.2010.04.049.
- [142] Y. Fleissig, E. Regev, and H. Lehman, "Sunitinib related osteonecrosis of jaw: a case report," *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, vol. 113, no. 3, 2012, doi: 10.1016/J.TRIPLEO.2011.06.023.
 - [143] P. Rider, Y. Carmi, and I. Cohen, "Biologics for Targeting Inflammatory Cytokines, Clinical Uses, and Limitations," *Int. J. Cell Biol.*, vol. 2016, 2016, doi: 10.1155/2016/9259646.
 - [144] A. M. Wang *et al.*, "Molecular cloning of the complementary DNA for human tumor necrosis factor," *Science*, vol. 228, no. 4696, pp. 149–154, 1985, doi: 10.1126/SCIENCE.3856324.
 - [145] T. Shirai, H. Yamaguchi, H. Ito, C. W. Todd, and R. B. Wallace, "Cloning and expression in *Escherichia coli* of the gene for human tumour necrosis factor," *Nat.* 1985 3136005, vol. 313, no. 6005, pp. 803–806, 1985, doi: 10.1038/313803a0.
 - [146] P. Ghezzi and A. Cerami, "Tumor necrosis factor as a pharmacological target," *Mol. Biotechnol.*, vol. 31, no. 3, pp. 239–244, Nov. 2005, doi: 10.1385/MB:31:3:239.
 - [147] S. Koo, F. M. Marty, and L. R. Baden, "Infectious complications associated with immunomodulating biologic agents," *Infect. Dis. Clin. North Am.*, vol. 24, no. 2, pp. 285–306, Jun. 2010, doi: 10.1016/J.IDC.2010.01.006.
 - [148] K. Lis, O. Kuzawińska, and E. Bałkowiec-Iskra, "Tumor necrosis factor inhibitors - state of knowledge," *Arch. Med. Sci.*, vol. 10, no. 6, pp. 1175–1185, Dec. 2014, doi: 10.5114/AOMS.2014.47827.
 - [149] N. Scheinfeld, "Adalimumab: a review of side effects," *Expert Opin. Drug Saf.*, vol. 4, no. 4, pp. 637–641, Jul. 2005, doi: 10.1517/14740338.4.4.637.
 - [150] A. Cassoni *et al.*, "Adalimumab: Another Medication Related to Osteonecrosis of the Jaws?," *Case Rep. Dent.*, vol. 2016, 2016, doi: 10.1155/2016/2856926.
 - [151] R. Sacco *et al.*, "Osteonecrosis and osteomyelitis of the jaw associated with tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) inhibitors: a systematic review," *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 58, no. 1, pp. 25–33, Jan. 2020, doi: 10.1016/J.BJOMS.2019.09.023.
 - [152] E. Vigarios, J. B. Epstein, and V. Sibaud, "Oral mucosal changes induced by anticancer targeted therapies and immune checkpoint inhibitors," *Support. Care*

- Cancer*, vol. 25, no. 5, pp. 1713–1739, May 2017, doi: 10.1007/S00520-017-3629-4.
- [153] D. Pakosch, D. Papadimas, J. Munding, D. Kawa, and M. S. Kriwalsky, “Osteonecrosis of the mandible due to anti-angiogenic agent, bevacizumab,” *Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 17, no. 4, pp. 303–306, Dec. 2013, doi: 10.1007/S10006-012-0379-9.
 - [154] D. Yamamoto *et al.*, “Osteonecrosis of the jaw associated with everolimus: A case report,” *Mol. Clin. Oncol.*, vol. 6, no. 2, p. 255, Feb. 2017, doi: 10.3892/MCO.2016.1100.
 - [155] M. Kneissel *et al.*, “Everolimus suppresses cancellous bone loss, bone resorption, and cathepsin K expression by osteoclasts,” *Bone*, vol. 35, no. 5, pp. 1144–1156, Nov. 2004, doi: 10.1016/J.BONE.2004.07.013.
 - [156] A. Allegra *et al.*, “Bisphosphonates induce apoptosis of circulating endothelial cells in multiple myeloma patients and in subjects with bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws,” *Acta Haematol.*, vol. 124, no. 2, pp. 79–85, Oct. 2010, doi: 10.1159/000313787.
 - [157] A. W. Eckert *et al.*, “Bisphosphonate-related jaw necrosis--severe complication in maxillofacial surgery,” *Cancer Treat. Rev.*, vol. 33, no. 1, pp. 58–63, Feb. 2007, doi: 10.1016/J.CTRV.2006.09.003.
 - [158] Marx RE, *Oral & Intravenous Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaws. History, Etiology, Prevention, and Treatment*. Illinois: Quintessence, 2007.
 - [159] A. K. Soydan S, Veziroğlu Şenel F, “Bifosfonata bağlı olarak çene kemiklerinde gelişen osteonekrozun patogenezi ve tedavisi,” *Hacettepe Diş Hekim. Fakültesi Derg.*, vol. 33, no. 3, pp. 61–68, 2009.
 - [160] P. Sieber, P. Lardelli, C. A. Kraenzlin, M. E. Kraenzlin, and C. Meier, “Intravenous bisphosphonates for postmenopausal osteoporosis: safety profiles of zoledronic acid and ibandronate in clinical practice,” *Clin. Drug Investig.*, vol. 33, no. 2, pp. 117–122, Feb. 2013, doi: 10.1007/S40261-012-0041-1.
 - [161] D. Powell *et al.*, “Incidence of serious side effects with intravenous bisphosphonate: a clinical audit,” *QJM*, vol. 105, no. 10, pp. 965–971, Oct. 2012, doi: 10.1093/QJMED/HCS112.
 - [162] N. Malden and V. Lopes, “An epidemiological study of alendronate-related

- osteonecrosis of the jaws. A case series from the south-east of Scotland with attention given to case definition and prevalence,” *J. Bone Miner. Metab.*, vol. 30, no. 2, pp. 171–182, Mar. 2012, doi: 10.1007/S00774-011-0299-Z.
- [163] V. M. Carstos, S. Zhu, and A. I. Zavras, “Bisphosphonate use and the risk of adverse jaw outcomes: a medical claims study of 714,217 people,” *J. Am. Dent. Assoc.*, vol. 139, no. 1, pp. 23–30, 2008, doi: 10.14219/JADA.ARCHIVE.2008.0016.
- [164] A. A. Khan *et al.*, “Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in Ontario: a survey of oral and maxillofacial surgeons,” *J. Rheumatol.*, vol. 38, no. 7, pp. 1396–1402, Jul. 2011, doi: 10.3899/JRHEUM.100221.
- [165] M. Ulmner, F. Jarnbring, and O. Törring, “Osteonecrosis of the jaw in Sweden associated with the oral use of bisphosphonate,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 72, no. 1, pp. 76–82, Jan. 2014, doi: 10.1016/J.JOMS.2013.06.221.
- [166] P. Tennis *et al.*, “Incidence of osteonecrosis of the jaw among users of bisphosphonates with selected cancers or osteoporosis,” *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.*, vol. 21, no. 8, pp. 810–817, Aug. 2012, doi: 10.1002/PDS.3292.
- [167] A. A. Khan *et al.*, “Case-Based Review of Osteonecrosis of the Jaw (ONJ) and Application of the International Recommendations for Management From the International Task Force on ONJ,” *J. Clin. Densitom.*, vol. 20, no. 1, pp. 8–24, Jan. 2017, doi: 10.1016/J.JOCD.2016.09.005.
- [168] A. D. Anastasilakis *et al.*, “Osteonecrosis of the Jaw and Antiresorptive Agents in Benign and Malignant Diseases: A Critical Review Organized by the ECTS,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 107, no. 5, p. 1441, May 2022, doi: 10.1210/CLINEM/DGAB888.
- [169] S. Papapoulos *et al.*, “Five years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the first two years of the FREEDOM extension,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 27, no. 3, pp. 694–701, Mar. 2012, doi: 10.1002/JBMR.1479.
- [170] X. Zhang *et al.*, “Osteonecrosis of the Jaw in the United States Food and Drug Administration’s Adverse Event Reporting System (FAERS),” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 31, no. 2, pp. 336–340, Feb. 2016, doi: 10.1002/JBMR.2693.
- [171] E. H. Dayisoğlu *et al.*, “The effects of adjunctive parathyroid hormone injection on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: an animal study,” *Int. J.*

- Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 42, no. 11, pp. 1475–1480, Nov. 2013, doi: 10.1016/J.IJOM.2013.05.001.
- [172] A. Cranney, G. Guyatt, L. Griffith, G. Wells, P. Tugwell, and C. Rosen, “Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. IX: Summary of meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis,” *Endocr. Rev.*, vol. 23, no. 4, pp. 570–578, Aug. 2002, doi: 10.1210/ER.2001-9002.
- [173] P. Narongroeknawin, M. I. Danila, L. G. Humphreys, A. Barasch, and J. R. Curtis, “Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw, with healing after teriparatide: a review of the literature and a case report,” *Spec. Care Dentist.*, vol. 30, no. 2, p. 77, Mar. 2010, doi: 10.1111/J.1754-4505.2009.00128.X.
- [174] J. J. Lee, S. J. Cheng, J. H. Jeng, C. P. Chiang, H. P. Lau, and S. H. Kok, “Successful treatment of advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible with adjunctive teriparatide therapy,” *Head Neck*, vol. 33, no. 9, pp. 1366–1371, Sep. 2011, doi: 10.1002/HED.21380.
- [175] L. Levin, A. Laviv, and D. Schwartz-Arad, “Denture-related osteonecrosis of the maxilla associated with oral bisphosphonate treatment,” *J. Am. Dent. Assoc.*, vol. 138, no. 9, pp. 1218–1220, 2007, doi: 10.14219/JADA.ARCHIVE.2007.0346.
- [176] R. Landesberg *et al.*, “Potential pathophysiological mechanisms in osteonecrosis of the jaw,” *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1218, no. 1, pp. 62–79, 2011, doi: 10.1111/J.1749-6632.2010.05835.X.
- [177] J. Y. Ohe, Y. D. Kwon, and H. W. Lee, “Bisphosphonates modulate the expression of OPG and M-CSF in hMSC-derived osteoblasts,” *Clin. Oral Investig.*, vol. 16, no. 4, pp. 1153–1159, Aug. 2012, doi: 10.1007/S00784-011-0614-Z.
- [178] O. Filleul, E. Crompot, and S. Saussez, “Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw: a review of 2,400 patient cases,” *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, vol. 136, no. 8, pp. 1117–1124, Aug. 2010, doi: 10.1007/S00432-010-0907-7.
- [179] T. B. Dodson, “The Frequency of Medication-related Osteonecrosis of the Jaw and its Associated Risk Factors,” *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.*, vol. 27, no. 4, pp. 509–516, Nov. 2015, doi: 10.1016/J.COMS.2015.06.003.
- [180] F. Saad *et al.*, “Incidence, risk factors, and outcomes of osteonecrosis of the jaw: integrated analysis from three blinded active-controlled phase III trials in cancer patients with bone metastases,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol.

- 23, no. 5, pp. 1341–1347, 2012, doi: 10.1093/ANNONC/MDR435.
- [181] D. H. Henry *et al.*, “Randomized, double-blind study of denosumab versus zoledronic acid in the treatment of bone metastases in patients with advanced cancer (excluding breast and prostate cancer) or multiple myeloma,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 29, no. 9, pp. 1125–1132, Mar. 2011, doi: 10.1200/JCO.2010.31.3304.
 - [182] R. Fliefel, M. Tröltzsch, J. Kühnisch, M. Ehrenfeld, and S. Otto, “Treatment strategies and outcomes of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) with characterization of patients: a systematic review,” *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 44, no. 5, pp. 568–585, 2015, doi: 10.1016/J.IJOM.2015.01.026.
 - [183] T. Shibutani, Y. Murahashi, E. Tsukada, Y. Iwayama, and J. N. M. Heersche, “Experimentally induced periodontitis in beagle dogs causes rapid increases in osteoclastic resorption of alveolar bone,” *J. Periodontol.*, vol. 68, no. 4, pp. 385–391, Apr. 1997, doi: 10.1902/JOP.1997.68.4.385.
 - [184] T. Katagiri and N. Takahashi, “Regulatory mechanisms of osteoblast and osteoclast differentiation,” *Oral Dis.*, vol. 8, no. 3, pp. 147–159, 2002, doi: 10.1034/J.1601-0825.2002.01829.X.
 - [185] M. Baud’huin, L. Duplomb, C. Ruiz Velasco, Y. Fortun, D. Heymann, and M. Padrines, “Key roles of the OPG-RANK-RANKL system in bone oncology,” *Expert Rev. Anticancer Ther.*, vol. 7, no. 2, pp. 221–232, 2007, doi: 10.1586/14737140.7.2.221.
 - [186] T. Aghaloo, R. Hazboun, and S. Tetradis, “Pathophysiology of Osteonecrosis of the Jaws,” *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.*, vol. 27, no. 4, pp. 489–496, Nov. 2015, doi: 10.1016/J.COMS.2015.06.001.
 - [187] M. R. Allen, “The effects of bisphosphonates on jaw bone remodeling, tissue properties, and extraction healing,” *Odontology*, vol. 99, no. 1, pp. 8–17, Jan. 2011, doi: 10.1007/S10266-010-0153-0.
 - [188] R. S. de Molon *et al.*, “Spontaneous osteonecrosis of the jaws in the maxilla of mice on antiresorptive treatment: a novel ONJ mouse model,” *Bone*, vol. 68, pp. 11–19, 2014, doi: 10.1016/J.BONE.2014.07.027.
 - [189] T. Hansen, M. Kunkel, A. Weber, and C. James Kirkpatrick, “Osteonecrosis of the jaws in patients treated with bisphosphonates - histomorphologic analysis in

- comparison with infected osteoradionecrosis,” *J. Oral Pathol. Med.*, vol. 35, no. 3, pp. 155–160, Mar. 2006, doi: 10.1111/J.1600-0714.2006.00391.X.
- [190] B. Lowenberg, R. Chernecky, A. Shiga, and J. E. Davies, “Mineralized Matrix Production by Osteoblasts on Solid Titanium In Vitro,” *Cells Mater.*, vol. 1, no. 2, 1991.
- [191] H. C. Schwartz, “American association of oral and maxillofacial surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw - 2014 Update and CTX,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 73, no. 3, p. 377, Mar. 2015, doi: 10.1016/j.joms.2014.10.035.
- [192] S. Sivoilella, F. Lumachi, E. Stellini, and L. Favero, “Denosumab and anti-angiogenetic drug-related osteonecrosis of the jaw: an uncommon but potentially severe disease,” *Anticancer Res.*, 2013.
- [193] T. S. Lazarovici, R. Yahalom, S. Taicher, S. Elad, I. Hardan, and N. Yarom, “Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a single-center study of 101 patients,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 67, no. 4, pp. 850–855, Apr. 2009, doi: 10.1016/J.JOMS.2008.11.015.
- [194] I. R. Reid, “Osteonecrosis of the jaw: who gets it, and why?,” *Bone*, vol. 44, no. 1, pp. 4–10, Jan. 2009, doi: 10.1016/J.BONE.2008.09.012.
- [195] I. R. Reid, M. J. Bolland, and A. B. Grey, “Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity?,” *Bone*, vol. 41, no. 3, pp. 318–320, Sep. 2007, doi: 10.1016/J.BONE.2007.04.196.
- [196] N. Yarom, T. S. Lazarovici, and S. Elad, “Oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: Incidence, clinical features, prevention, and treatment recommendations,” *Clin. Rev. Bone Miner. Metab.*, vol. 8, no. 1, pp. 27–31, Mar. 2010, doi: 10.1007/S12018-009-9055-5.
- [197] S. L. Ruggiero, T. B. Dodson, T. Aghaloo, E. R. Carlson, B. B. Ward, and D. Kademani, “American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons’ Position Paper on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws-2022 Update,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 80, no. 5, pp. 920–943, May 2022, doi: 10.1016/J.JOMS.2022.02.008.
- [198] S. Fedele *et al.*, “Nonexposed variant of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a case series,” *Am. J. Med.*, vol. 123, no. 11, pp. 1060–1064, Nov. 2010, doi: 10.1016/J.AMJMED.2010.04.033.

- [199] D. Sharma *et al.*, “Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw (BRONJ): diagnostic criteria and possible pathogenic mechanisms of an unexpected anti-angiogenic side effect,” *Vasc. Cell*, vol. 5, no. 1, 2013, doi: 10.1186/2045-824X-5-1.
- [200] M. Hutchinson *et al.*, “Radiographic findings in bisphosphonate-treated patients with stage 0 disease in the absence of bone exposure,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 68, no. 9, pp. 2232–2240, 2010, doi: 10.1016/J.JOMS.2010.05.003.
- [201] S. Chiandussi, M. Biasotto, F. Dore, F. Cavalli, M. A. Cova, and R. Di Lenarda, “Clinical and diagnostic imaging of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws,” *Dentomaxillofac. Radiol.*, vol. 35, no. 4, pp. 236–243, Jul. 2006, doi: 10.1259/DMFR/27458726.
- [202] K. Arce, L. A. Assael, J. L. Weissman, and M. R. Markiewicz, “Imaging findings in bisphosphonate-related osteonecrosis of jaws,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 67, no. 5 Suppl, pp. 75–84, May 2009, doi: 10.1016/J.JOMS.2008.12.002.
- [203] A. Bedogni *et al.*, “Bisphosphonate-associated jawbone osteonecrosis: a correlation between imaging techniques and histopathology,” *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology*, vol. 105, no. 3, pp. 358–364, Mar. 2008, doi: 10.1016/J.TRIPLEO.2007.08.040.
- [204] A. Krishnan, A. Arslanoglu, N. Yildirm, R. Silbergleit, and N. Aygun, “Imaging findings of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with emphasis on early magnetic resonance imaging findings,” *J. Comput. Assist. Tomogr.*, vol. 33, no. 2, pp. 298–304, 2009, doi: 10.1097/RCT.0B013E31817E4986.
- [205] F. S. O’Ryan *et al.*, “Intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: bone scintigraphy as an early indicator,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 67, no. 7, pp. 1363–1372, Jul. 2009, doi: 10.1016/J.JOMS.2009.03.005.
- [206] F. Dore, L. Filippi, M. Biasotto, S. Chiandussi, F. Cavalli, and R. Di Lenarda, “Bone scintigraphy and SPECT/CT of bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw,” *J. Nucl. Med.*, vol. 50, no. 1, pp. 30–35, Jan. 2009, doi: 10.2967/JNUMED.107.048785.
- [207] T. Van den Wyngaert, T. Claeys, M. T. Huizing, J. B. Vermorken, and E. Fossion, “Initial experience with conservative treatment in cancer patients with osteonecrosis of the jaw (ONJ) and predictors of outcome,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 20, no. 2, pp. 331–336, 2009, doi:

10.1093/ANNONC/MDN630.

- [208] H. N. Rosen *et al.*, “Serum CTX: a new marker of bone resorption that shows treatment effect more often than other markers because of low coefficient of variability and large changes with bisphosphonate therapy,” *Calcif. Tissue Int.*, vol. 66, no. 2, pp. 100–103, 2000, doi: 10.1007/PL00005830.
- [209] P. G. Morris *et al.*, “Serum N-telopeptide and bone-specific alkaline phosphatase levels in patients with osteonecrosis of the jaw receiving bisphosphonates for bone metastases,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 70, no. 12, pp. 2768–2775, Dec. 2012, doi: 10.1016/J.JOMS.2011.12.028.
- [210] A. I. Lorenzo-Pouso, M. Pérez-Sayáns, S. González-Palanca, C. Chamorro-Petronacci, J. Bagán, and A. García-García, “Biomarkers to predict the onset of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A systematic review,” *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal*, vol. 24, no. 1, pp. e26–e36, Jan. 2019, doi: 10.4317/MEDORAL.22763.
- [211] C. Musolino *et al.*, “Altered microRNA expression profile in the peripheral lymphoid compartment of multiple myeloma patients with bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw,” *Ann. Hematol.*, vol. 97, no. 7, pp. 1259–1269, Jul. 2018, doi: 10.1007/S00277-018-3296-7.
- [212] R. Yang, Y. Tao, C. Wang, Y. Shuai, and L. Jin, “Circulating microRNA Panel as a Novel Biomarker to Diagnose Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw,” *Int. J. Med. Sci.*, vol. 15, no. 14, pp. 1694–1701, Oct. 2018, doi: 10.7150/IJMS.27593.
- [213] M. A. Dimopoulos *et al.*, “Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 20, no. 1, pp. 117–120, 2009, doi: 10.1093/ANNONC/MDN554.
- [214] R. Bonacina, U. Mariani, F. Villa, and A. Villa, “Preventive strategies and clinical implications for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a review of 282 patients,” *Journal*, 2011.
- [215] A. M. Vandone *et al.*, “Impact of dental care in the prevention of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a single-center clinical experience,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 23, no. 1, pp. 193–200, Jan. 2012, doi: 10.1093/ANNONC/MDR039.

- [216] S. L. Ruggiero, T. B. Dodson, L. A. Assael, R. Landesberg, R. E. Marx, and B. Mehrotra, "American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--2009 update," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 67, no. 5 Suppl, pp. 2–12, May 2009, doi: 10.1016/J.JOMS.2009.01.009.
- [217] J. W. Hellstein *et al.*, "Managing the care of patients receiving antiresorptive therapy for prevention and treatment of osteoporosis: executive summary of recommendations from the American Dental Association Council on Scientific Affairs," *J. Am. Dent. Assoc.*, vol. 142, no. 11, pp. 1243–1251, 2011, doi: 10.14219/JADA.ARCHIVE.2011.0108.
- [218] D. Damm and D. M. Jones, "Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a potential alternative to drug holidays.," *Gen. Dent.*, 2013.
- [219] J. H. Lin, "Bisphosphonates: a review of their pharmacokinetic properties," *Bone*, vol. 18, no. 2, pp. 75–85, 1996, doi: 10.1016/8756-3282(95)00445-9.
- [220] D. M. Black *et al.*, "Effects of continuing or stopping alendronate after 5 years of treatment: the Fracture Intervention Trial Long-term Extension (FLEX): a randomized trial," *JAMA*, vol. 296, no. 24, pp. 2927–2938, Dec. 2006, doi: 10.1001/JAMA.296.24.2927.
- [221] D. M. Black *et al.*, "The effect of 3 versus 6 years of zoledronic acid treatment of osteoporosis: a randomized extension to the HORIZON-Pivotal Fracture Trial (PFT)," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 27, no. 2, pp. 243–254, Feb. 2012, doi: 10.1002/JBMR.1494.
- [222] A. D. Anastasilakis, K. A. Toulis, S. A. Polyzos, C. D. Anastasilakis, and P. Makras, "Long-term treatment of osteoporosis: safety and efficacy appraisal of denosumab," *Ther. Clin. Risk Manag.*, vol. 8, pp. 295–306, 2012, doi: 10.2147/TCRM.S24239.
- [223] C. Ottesen, M. Schiodt, and K. Gotfredsen, "Efficacy of a high-dose antiresorptive drug holiday to reduce the risk of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ): A systematic review," *Heliyon*, vol. 6, no. 4, Apr. 2020, doi: 10.1016/J.HELİYON.2020.E03795.
- [224] L. Ramaglia, A. Guida, V. Iorio-Siciliano, A. Cuzzo, A. Blasi, and A. Sculean, "Stage-specific therapeutic strategies of medication-related osteonecrosis of the jaws: a systematic review and meta-analysis of the drug suspension protocol,"

- Clin. Oral Investig.*, vol. 22, no. 2, pp. 597–615, Mar. 2018, doi: 10.1007/S00784-017-2325-6.
- [225] V. Montefusco *et al.*, “Antibiotic prophylaxis before dental procedures may reduce the incidence of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates,” *Leuk. Lymphoma*, vol. 49, no. 11, pp. 2156–2162, 2008, doi: 10.1080/10428190802483778.
- [226] S. L. Ruggiero and B. Mehrotra, “Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: diagnosis, prevention, and management,” *Annu. Rev. Med.*, vol. 60, pp. 85–96, 2009, doi: 10.1146/ANNUREV.MED.60.063007.134350.
- [227] C. I. Ripamonti, E. Cislighi, L. Mariani, and M. Maniezzo, “Efficacy and safety of medical ozone (O₃) delivered in oil suspension applications for the treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with bone metastases treated with bisphosphonates: Preliminary results of a phase I–II study,” *Oral Oncol.*, vol. 47, no. 3, pp. 185–190, Mar. 2011, doi: 10.1016/J.ORALONCOLOGY.2011.01.002.
- [228] J. J. Freiburger *et al.*, “What Is the Role of Hyperbaric Oxygen in the Management of Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: A Randomized Controlled Trial of Hyperbaric Oxygen as an Adjunct to Surgery and Antibiotics,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 70, no. 7, pp. 1573–1583, Jul. 2012, doi: 10.1016/J.JOMS.2012.04.001.
- [229] R. Lindsay, J. H. Krege, F. Marin, L. Jin, and J. J. Stepan, “Teriparatide for osteoporosis: importance of the full course,” *Osteoporos. Int.*, vol. 27, no. 8, pp. 2395–2410, Aug. 2016, doi: 10.1007/S00198-016-3534-6.
- [230] I. W. Sim *et al.*, “Teriparatide promotes bone healing in medication-related osteonecrosis of the jaw: A placebo-controlled, randomized trial,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 38, no. 26, pp. 2971–2980, Sep. 2020, doi: 10.1200/JCO.19.02192.
- [231] M. S. Epstein, F. W. Wicknick, J. B. Epstein, J. R. Berenson, and M. Gorsky, “Management of bisphosphonate-associated osteonecrosis: pentoxifylline and tocopherol in addition to antimicrobial therapy. An initial case series,” *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology*, vol. 110, no. 5, pp. 593–596, Nov. 2010, doi: 10.1016/J.TRIPLEO.2010.05.067.
- [232] V. Coviello *et al.*, “Platelet-rich plasma improves wound healing in multiple myeloma bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw patients,” *J. Biol.*

Regul. Homeost. Agents, 2012.

- [233] M. M. Curi *et al.*, “Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--an initial case series report of treatment combining partial bone resection and autologous platelet-rich plasma,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 69, no. 9, pp. 2465–2472, 2011, doi: 10.1016/J.JOMS.2011.02.078.
- [234] M. Scoletta, P. G. Arduino, L. Reggio, P. Dalmaso, and M. Mozzati, “Effect of low-level laser irradiation on bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: preliminary results of a prospective study,” *Photomed. Laser Surg.*, vol. 28, no. 2, pp. 179–184, Apr. 2010, doi: 10.1089/PHO.2009.2501.
- [235] H. L. H. L. and G. S., “Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 24, no. 9 Pt 2, pp. 669–677, 1997, doi: 10.1111/J.1600-051X.1997.TB00248.X.
- [236] L. Heijl, “Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 24, no. 9 Pt 2, pp. 693–696, 1997, doi: 10.1034/J.1600-051X.1997.00693.X.
- [237] Z. O *et al.*, “Clinical safety of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of periodontal defects,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 24, no. 9 Pt 2, pp. 697–704, 1997, doi: 10.1111/J.1600-051X.1997.TB00252.X.
- [238] A. G. Fincham and J. Moradian-Oldak, “Amelogenin Post-translational Modifications: Carboxy-Terminal Processing and the Phosphorylation of Bovine and Porcine ‘TRAP’ and ‘LRAP’ Amelogenins,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 197, no. 1, pp. 248–255, Nov. 1993, doi: 10.1006/BBRC.1993.2468.
- [239] H. M. Grandin, A. C. Gemperli, and M. Dard, “Enamel matrix derivative: a review of cellular effects in vitro and a model of molecular arrangement and functioning,” *Tissue Eng. Part B. Rev.*, vol. 18, no. 3, pp. 181–202, Jun. 2012, doi: 10.1089/TEN.TEB.2011.0365.
- [240] K. Tanimoto *et al.*, “Differential Effects of Amelogenin on Mineralization of Cementoblasts and Periodontal Ligament Cells,” *J. Periodontol.*, vol. 83, no. 5, pp. 672–679, May 2012, doi: 10.1902/JOP.2011.110408.
- [241] Y. Wada, H. Yamamoto, S. Nanbu, M. Mizuno, and M. Tamura, “The suppressive effect of enamel matrix derivative on osteocalcin gene expression of osteoblasts is neutralized by an antibody against TGF-beta,” *J. Periodontol.*,

- vol. 79, no. 2, pp. 341–347, Feb. 2008, doi: 10.1902/JOP.2008.070197.
- [242] H. Hama, H. Azuma, H. Seto, J. I. Kido, and T. Nagata, “Inhibitory effect of enamel matrix derivative on osteoblastic differentiation of rat calvaria cells in culture,” *J. Periodontal Res.*, vol. 43, no. 2, pp. 179–185, 2008, doi: 10.1111/J.1600-0765.2007.01010.X.
 - [243] D. L. Johnson, D. Carnes, B. Steffensen, and D. L. Cochran, “Cellular Effects of Enamel Matrix Derivative Are Associated With Different Molecular Weight Fractions Following Separation by Size Exclusion Chromatography,” *J. Periodontol.*, vol. 80, no. 4, p. 648, Apr. 2009, doi: 10.1902/JOP.2009.070420.
 - [244] S. Suzuki *et al.*, “Enamel matrix derivative gel stimulates signal transduction of BMP and TGF- β ,” *J. Dent. Res.*, vol. 84, no. 6, pp. 510–514, 2005, doi: 10.1177/154405910508400605.
 - [245] A. Mumulidu *et al.*, “Purification and analysis of a 5kDa component of enamel matrix derivative,” *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 857, no. 2, pp. 210–218, Oct. 2007, doi: 10.1016/J.JCHROMB.2007.07.017.
 - [246] M. Fukae *et al.*, “Enamelysin (Matrix Metalloproteinase-20): Localization in the Developing Tooth and Effects of pH and Calcium on Amelogenin Hydrolysis,” <http://dx.doi.org/10.1177/00220345980770080501>, vol. 77, no. 8, pp. 1580–1588, Aug. 1998, doi: 10.1177/00220345980770080501.
 - [247] J. Maycock, S. R. Wood, S. J. Brookes, R. C. Shore, C. Robinson, and J. Kirkham, “Characterization of a porcine amelogenin preparation, EMDOGAIN, a biological treatment for periodontal disease,” *Connect. Tissue Res.*, vol. 43, no. 2–3, pp. 472–476, Jan. 2002, doi: 10.1080/03008200290000880.
 - [248] D. Deutsch, “Structure and function of enamel gene products,” *Anat. Rec.*, vol. 224, no. 2, pp. 189–210, 1989, doi: 10.1002/AR.1092240209.
 - [249] L. Chano, H. C. Tenenbaum, P. C. Lekic, J. Sodek, and C. A. McCulloch, “Emdogain regulation of cellular differentiation in wounded rat periodontium,” *J. Periodontal Res.*, vol. 38, no. 2, pp. 164–174, Apr. 2003, doi: 10.1034/J.1600-0765.2003.00003.X.
 - [250] S. Hagenaaers, P. H. G. Louwerse, M. F. Timmerman, U. Van Der Velden, and G. A. Van Der Weijden, “Soft-tissue wound healing following periodontal surgery and Emdogain application,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 31, no. 10, pp. 850–856, Oct. 2004, doi: 10.1111/J.1600-051X.2004.00571.X.

- [251] S. Froum *et al.*, “A multicenter study evaluating the sensitization potential of enamel matrix derivative after treatment of two infrabony defects,” *J. Periodontol.*, vol. 75, no. 7, pp. 1001–1008, Jul. 2004, doi: 10.1902/JOP.2004.75.7.1001.
- [252] “Position Paper: Periodontal Regeneration,” *J. Periodontol.*, vol. 76, no. 9, pp. 1601–1622, Sep. 2005, doi: 10.1902/JOP.2005.76.9.1601.
- [253] T. Kawase, K. Okuda, H. Yoshie, and D. M. Burns, “Cytostatic action of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) on human oral squamous cell carcinoma-derived SCC25 epithelial cells,” *J. Periodontal Res.*, vol. 35, no. 5, pp. 291–300, 2000, doi: 10.1034/J.1600-0765.2000.035005291.X.
- [254] J. C. Rincon, Y. Xiao, W. G. Young, and P. M. Bartold, “Enhanced proliferation, attachment and osteopontin expression by porcine periodontal cells exposed to Emdogain,” *Arch. Oral Biol.*, vol. 50, no. 12, pp. 1047–1054, Dec. 2005, doi: 10.1016/J.ARCHORALBIO.2005.04.006.
- [255] M. T. M. Van Der Pauw, V. Everts, and W. Beertsen, “Expression of integrins by human periodontal ligament and gingival fibroblasts and their involvement in fibroblast adhesion to enamel matrix-derived proteins,” *J. Periodontal Res.*, vol. 37, no. 5, pp. 317–323, 2002, doi: 10.1034/J.1600-0765.2002.00349.X.
- [256] T. Otsuka, H. Kasai, K. Yamaguchi, and T. Nishihara, “Enamel matrix derivative promotes osteoclast cell formation by RANKL production in mouse marrow cultures,” *J. Dent.*, vol. 33, no. 9, pp. 749–755, Oct. 2005, doi: 10.1016/J.JDENT.2005.02.006.
- [257] A. M. Hoang, T. W. Oates, and D. L. Cochran, “In vitro wound healing responses to enamel matrix derivative,” *J. Periodontol.*, vol. 71, no. 8, pp. 1270–1277, Aug. 2000, doi: 10.1902/JOP.2000.71.8.1270.
- [258] I. Olitzky, “Antimicrobial properties of a propylene glycol based topical therapeutic agent,” *J. Pharm. Sci.*, vol. 54, no. 5, pp. 787–788, May 1965, doi: 10.1002/JPS.2600540528.
- [259] H. L, H. G, S. G, and O. A, “Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 24, no. 9 Pt 2, pp. 705–714, 1997, doi: 10.1111/J.1600-051X.1997.TB00253.X.
- [260] O. Villa, S. J. Brookes, B. Thiede, L. Heijl, S. P. Lyngstadaas, and J. E. Reseland, “Subfractions of enamel matrix derivative differentially influence cytokine

- secretion from human oral fibroblasts,” *J. Tissue Eng.*, vol. 6, Jan. 2015, doi: 10.1177/2041731415575857.
- [261] R. M. Gallucci *et al.*, “Impaired cutaneous wound healing in interleukin-6-deficient and immunosuppressed mice,” *FASEB J.*, vol. 14, no. 15, pp. 2525–2531, Dec. 2000, doi: 10.1096/FJ.00-0073COM.
- [262] C. H. Chong *et al.*, “Human periodontal fibroblast response to enamel matrix derivative, amelogenin, and platelet-derived growth factor-BB,” *J. Periodontol.*, vol. 77, no. 7, pp. 1242–1252, Jul. 2006, doi: 10.1902/JOP.2006.050147.
- [263] W. Friess, “Collagen – biomaterial for drug delivery,” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 45, no. 2, pp. 113–136, Mar. 1998, doi: 10.1016/S0939-6411(98)00017-4.
- [264] A. Arias-Betancur, N. Badilla-Wenzel, Á. Astete-Sanhueza, N. Farfán-Beltrán, and F. J. Dias, “Carrier systems for bone morphogenetic proteins: An overview of biomaterials used for dentoalveolar and maxillofacial bone regeneration,” *Jpn. Dent. Sci. Rev.*, vol. 58, p. 316, Nov. 2022, doi: 10.1016/J.JDSR.2022.10.001.
- [265] J. S. Oh and S. G. Kim, “Collagen sponge and rhBMP-2 improve socket healing in rats treated with zoledronic acid,” *Braz. Oral Res.*, vol. 31, 2017, doi: 10.1590/1807-3107BOR-2017.VOL31.0099.
- [266] W. Z. Man Wat, “Current Controversies on the Pathogenesis of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw,” *Dent. J.*, vol. 4, no. 4, 2016, doi: 10.3390/DJ4040038.
- [267] J. W. Hellstein and C. L. Marek, “Bisphosphonate osteochemonecrosis (bisphossy jaw): Is this phossy jaw of the 21st century?,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 63, no. 5, pp. 682–689, 2005, doi: 10.1016/j.joms.2005.01.010.
- [268] P. P. Sedghizadeh, S. K. S. Kumar, A. Gorur, C. Schaudinn, C. F. Shuler, and J. W. Costerton, “Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy,” *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 66, no. 4, pp. 767–775, Apr. 2008, doi: 10.1016/J.JOMS.2007.11.035.
- [269] I. Kaplan *et al.*, “The clinical spectrum of Actinomyces-associated lesions of the oral mucosa and jawbones: correlations with histomorphometric analysis,” *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, vol. 108, no. 5, pp. 738–746, Nov. 2009, doi: 10.1016/J.TRIPLEO.2009.06.019.

- [270] J. Chang, A. E. Hakam, and L. K. McCauley, "Current Understanding of the Pathophysiology of Osteonecrosis of the Jaw," *Curr. Osteoporos. Rep.*, vol. 16, no. 5, pp. 584–595, Oct. 2018, doi: 10.1007/S11914-018-0474-4.
- [271] M. R. Allen and D. B. Burr, "Bone Growth, Modeling, and Remodeling," *Basic Appl. Bone Biol.*, pp. 85–100, Jan. 2019, doi: 10.1016/B978-0-12-813259-3.00005-1.
- [272] R. Landesberg *et al.*, "Potential pathophysiological mechanisms in osteonecrosis of the jaw," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1218, no. 1, pp. 62–79, 2011, doi: 10.1111/J.1749-6632.2010.05835.X.
- [273] D. Santini *et al.*, "Zoledronic acid induces significant and long-lasting modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients.," *Clin. Cancer Res.*, 2003.
- [274] R. Landesberg *et al.*, "Inhibition of oral mucosal cell wound healing by bisphosphonates," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 66, no. 5, pp. 839–847, May 2008, doi: 10.1016/J.JOMS.2008.01.026.
- [275] R. Montague, C. A. Hart, N. J. George, V. A. C. Ramani, M. D. Brown, and N. W. Clarke, "Differential inhibition of invasion and proliferation by bisphosphonates: Anti-metastatic potential of zoledronic acid in prostate cancer," *Eur. Urol.*, vol. 46, no. 3, pp. 389–402, 2004, doi: 10.1016/j.eururo.2004.04.022.
- [276] T. Maymon-Gil, E. Weinberg, C. Nemcovsky, and M. Weinreb, "Enamel Matrix Derivative Promotes Healing of a Surgical Wound in the Rat Oral Mucosa," *J. Periodontol.*, vol. 87, no. 5, pp. 601–609, May 2016, doi: 10.1902/JOP.2016.150567.
- [277] J. C. Rincon, H. R. Haase, and P. M. Bartold, "Effect of Emdogain on human periodontal fibroblasts in an in vitro wound-healing model," *J. Periodontal Res.*, vol. 38, no. 3, pp. 290–295, 2003, doi: 10.1034/J.1600-0765.2003.00610.X.
- [278] H. Wachtel, G. Schenk, S. Böhm, D. Weng, O. Zuhr, and M. B. Hürzeler, "Microsurgical access flap and enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects: a controlled clinical study," *J. Clin. Periodontol.*, vol. 30, no. 6, pp. 496–504, Jun. 2003, doi: 10.1034/J.1600-051X.2003.00013.X.
- [279] M. Esposito, M. G. Grusovin, N. Papanikolaou, P. Coulthard, and H. V Worthington, "Enamel matrix derivative (Emdogain®) for periodontal tissue

- regeneration in intrabony defects,” *Cochrane Database Syst. Rev.*, Oct. 2009, doi: 10.1002/14651858.cd003875.pub3.
- [280] J. I. Aguirre, E. J. Castillo, and D. B. Kimmel, “Preclinical models of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ),” *Bone*, vol. 153, p. 116184, Dec. 2021, doi: 10.1016/J.BONE.2021.116184.
- [281] E. H. Dayisoylu *et al.*, “Does an alkaline environment prevent the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw? An experimental study in rats,” *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, vol. 117, no. 3, pp. 329–334, Mar. 2014, doi: 10.1016/J.OOOO.2013.11.490.
- [282] D. Karabulut *et al.*, “L-Carnitine ameliorates the liver by regulating alpha-SMA, iNOS, HSP90, HIF-1alpha, and RIP1 expressions of CCL4-toxic rats,” *Iran. J. Basic Med. Sci.*, vol. 24, no. 2, pp. 184–190, Feb. 2021, doi: 10.22038/IJBMS.2020.47711.10990.
- [283] J. I. Aguirre, E. J. Castillo, and D. B. Kimmel, “Preclinical Models of Medication-related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ),” *Bone*, vol. 153, p. 116184, Dec. 2021, doi: 10.1016/J.BONE.2021.116184.
- [284] T. Kikuri *et al.*, “Cell-Based Immunotherapy With Mesenchymal Stem Cells Cures Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw-like Disease in Mice,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 25, no. 7, p. 1668, Jul. 2010, doi: 10.1002/JBMR.37.
- [285] T. L. Aghaloo *et al.*, “Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 26, no. 8, pp. 1871–1882, Aug. 2011, doi: 10.1002/JBMR.379.
- [286] J. G. Messer *et al.*, “Zoledronate treatment duration is linked to bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw prevalence in rice rats with generalized periodontitis,” *Oral Dis.*, vol. 25, no. 4, pp. 1116–1135, May 2019, doi: 10.1111/ODI.13052.
- [287] A. Yadegari, A. Aminzadeh, S. Seyyedkhamesi, and M. Aminian, “The effect of melatonin on prevention of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: an animal study in rats,” *J. Korean Assoc. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 46, no. 4, pp. 266–274, Aug. 2020, doi: 10.5125/JKAOMS.2020.46.4.266.
- [288] D. Xie *et al.*, “Sensory denervation increases potential of bisphosphonates to induce osteonecrosis via disproportionate expression of calcitonin gene-related peptide and substance P,” *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1487, no. 1, pp. 56–73, Jan.

- 2021, doi: 10.1111/NYAS.14540.
- [289] J. Jung *et al.*, “Effect and timing of parathyroid hormone analog administration for preventing medication-related osteonecrosis of the jaws in a murine model,” *J. Craniomaxillofac. Surg.*, vol. 49, no. 8, pp. 719–725, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.JCMS.2021.02.023.
 - [290] J. Huang, L. Wang, and W. Tian, “Small Extracellular Vesicles Derived from Adipose Tissue Prevent Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw by Promoting Angiogenesis,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 16, p. 3161, 2021, doi: 10.2147/IJN.S305361.
 - [291] V. C. de Sousa Ferreira *et al.*, “Bisphosphonate-related osteonecrosis induced change in alveolar bone architecture in rats with participation of Wnt signaling,” *Clin. Oral Investig.*, vol. 25, no. 2, pp. 673–682, Feb. 2021, doi: 10.1007/S00784-020-03551-7.
 - [292] J. Watanabe, K. Sakai, Y. Urata, N. Toyama, E. Nakamichi, and H. Hibi, “Extracellular Vesicles of Stem Cells to Prevent BRONJ,” *J. Dent. Res.*, vol. 99, no. 5, pp. 552–560, May 2020, doi: 10.1177/0022034520906793.
 - [293] R. Yan, R. Jiang, L. Hu, Y. Deng, J. Wen, and X. Jiang, “Establishment and assessment of rodent models of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ),” *Int. J. Oral Sci.*, vol. 14, no. 1, Dec. 2022, doi: 10.1038/S41368-022-00182-4.
 - [294] A. O. Hoff, B. Toth, M. Hu, G. N. Hortobagyi, and R. F. Gagel, “Epidemiology and risk factors for osteonecrosis of the jaw in cancer patients,” *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1218, no. 1, pp. 47–54, 2011, doi: 10.1111/J.1749-6632.2010.05771.X.
 - [295] W. Z. Man Wat, “Current Controversies on the Pathogenesis of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw,” *Dent. J.*, vol. 4, no. 4, 2016, doi: 10.3390/DJ4040038.
 - [296] S. T. Sonis, B. A. Watkins, G. D. Lyng, M. A. Lerman, and K. C. Anderson, “Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients,” *Oral Oncol.*, vol. 45, no. 2, pp. 164–172, Feb. 2009, doi: 10.1016/J.ORALONCOLOGY.2008.04.013.
 - [297] J. W. Kim, J. C. I. Tatad, M. E. A. Landayan, S. J. Kim, and M. R. Kim, “Animal model for medication-related osteonecrosis of the jaw with precedent metabolic

- bone disease,” *Bone*, vol. 81, pp. 442–448, Dec. 2015, doi: 10.1016/J.BONE.2015.08.012.
- [298] S. yong Gao *et al.*, “PDGF-BB exhibited therapeutic effects on rat model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw by enhancing angiogenesis and osteogenesis,” *Bone*, vol. 144, Mar. 2021, doi: 10.1016/J.BONE.2019.115117.
- [299] J. D. Kün-Darbois, H. Libouban, G. Mabillean, F. Pascaretti-Grizon, and D. Chappard, “Bone mineralization and vascularization in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: an experimental study in the rat,” *Clin. Oral Investig.*, vol. 22, no. 9, pp. 2997–3006, Dec. 2018, doi: 10.1007/S00784-018-2385-2.
- [300] B. Kang *et al.*, “Periapical Disease and Bisphosphonates Induce Osteonecrosis of the Jaws in Mice,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 28, no. 7, p. 1631, Jul. 2013, doi: 10.1002/JBMR.1894.
- [301] S. Paulo *et al.*, “Calcium Phosphate Ceramics Can Prevent Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw,” *Materials (Basel)*, vol. 13, no. 8, Apr. 2020, doi: 10.3390/MA13081955.
- [302] E. B. Göl, N. Özkan, C. Bereket, and M. E. Önger, “Extracorporeal Shock-Wave Therapy or Low-Level Laser Therapy: Which is More Effective in Bone Healing in Bisphosphonate Treatment?,” *J. Craniofac. Surg.*, vol. 31, no. 7, pp. 2043–2048, Oct. 2020, doi: 10.1097/SCS.00000000000006506.
- [303] F. J. Rodríguez-Lozano *et al.*, “Allogeneic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Tooth Extractions Sites Ameliorates the Incidence of Osteonecrotic Jaw-Like Lesions in Zoledronic Acid-Treated Rats,” *J. Clin. Med.*, vol. 9, no. 6, p. 1649, Jun. 2020, doi: 10.3390/JCM9061649.
- [304] E. Alonso-Rodriguez *et al.*, “Bisphosphonate-related osteonecrosis. Application of adipose-derived stem cells in an experimental murine model,” *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal*, vol. 24, no. 4, p. e529, Jul. 2019, doi: 10.4317/MEDORAL.22959.
- [305] M. P. Maahs, A. A. Azambuja, M. M. Campos, F. G. Salum, and K. Cherubini, “Association between bisphosphonates and jaw osteonecrosis: a study in Wistar rats,” *Head Neck*, vol. 33, no. 2, pp. 199–207, Feb. 2011, doi: 10.1002/HED.21422.
- [306] M. Biasotto *et al.*, “A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw,” *J. Oral Pathol. Med.*, vol. 39, no. 5, pp.

- 390–396, 2010, doi: 10.1111/J.1600-0714.2009.00878.X.
- [307] M. Ali-Erdem *et al.*, “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*, vol. 16, no. 7, Nov. 2011, doi: 10.4317/MEDORAL.17150.
- [308] A. Hokugo *et al.*, “Increased Prevalence of Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw with Vitamin D Deficiency in Rats,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 25, no. 6, p. 1337, Jun. 2010, doi: 10.1002/JBMR.23.
- [309] K. L. Marino *et al.*, “Development of a rat model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ),” *J. Oral Implantol.*, vol. 38 Spec No, no. SUPPL. 1, pp. 511–518, 2012, doi: 10.1563/AAID-JOI-D-11-00057.
- [310] K. Rupel *et al.*, “A systematic review of therapeutical approaches in bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ),” *Oral Oncol.*, vol. 50, no. 11, pp. 1049–1057, 2014, doi: 10.1016/J.ORALONCOLOGY.2014.08.016.
- [311] M. Bezzi, M. Hasmim, G. Bieler, O. Dormond, and C. Rüegg, “Zoledronate sensitizes endothelial cells to tumor necrosis factor-induced programmed cell death: evidence for the suppression of sustained activation of focal adhesion kinase and protein kinase B/Akt,” *J. Biol. Chem.*, vol. 278, no. 44, pp. 43603–43614, Oct. 2003, doi: 10.1074/JBC.M308114200.
- [312] C. S. Guevarra *et al.*, “Vascular alterations in the sprague-dawley rat mandible during intravenous bisphosphonate therapy,” *J. Oral Implantol.*, vol. 41, no. 2, pp. e24–e29, Apr. 2015, doi: 10.1563/AAID-JOI-D-13-00074.
- [313] S. Ishtiaq *et al.*, “The effect of nitrogen containing bisphosphonates, zoledronate and alendronate, on the production of pro-angiogenic factors by osteoblastic cells,” *Cytokine*, vol. 71, no. 2, pp. 154–160, Feb. 2015, doi: 10.1016/J.CYTO.2014.10.025.
- [314] M. Lang *et al.*, “Influence of zoledronic acid on proliferation, migration, and apoptosis of vascular endothelial cells,” *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 54, no. 8, pp. 889–893, Oct. 2016, doi: 10.1016/J.BJOMS.2016.05.030.
- [315] D. Sharma, S. M. Hamlet, E. B. Petcu, and S. Ivanovski, “The effect of bisphosphonates on the endothelial differentiation of mesenchymal stem cells,” *Sci. Rep.*, vol. 6, Feb. 2016, doi: 10.1038/SREP20580.

- [316] S. Shi *et al.*, “IL-17-mediated M1/M2 macrophage alteration contributes to pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws,” *Clin. Cancer Res.*, vol. 19, no. 12, pp. 3176–3188, Jun. 2013, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0042.
- [317] P. Paschalidi *et al.*, “The role of M1 and M2 macrophage polarization in progression of medication-related osteonecrosis of the jaw,” *Clin. Oral Investig.*, vol. 25, no. 5, pp. 2845–2857, May 2021, doi: 10.1007/s00784-020-03602-z.
- [318] J. HE, Q. ZHOU, X. JIA, P. ZHOU, and L. CHEN, “Immune-related expression profiles of bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma,” *Pharmazie*, vol. 76, no. 4, pp. 159–164, Apr. 2021, doi: 10.1691/PH.2021.01013.
- [319] X. L. Huang *et al.*, “Zoledronic acid inhibits osteoclast differentiation and function through the regulation of NF- κ B and JNK signalling pathways,” *Int. J. Mol. Med.*, vol. 44, no. 2, pp. 582–592, 2019, doi: 10.3892/IJMM.2019.4207.
- [320] E. Papadopoulou *et al.*, “The use of crevicular fluid to assess markers of inflammation and angiogenesis, IL-17 and VEGF, in patients with solid tumors receiving zoledronic acid and/or bevacizumab,” *Support. Care Cancer*, vol. 28, no. 1, pp. 177–184, Jan. 2020, doi: 10.1007/S00520-019-04793-2/TABLES/6.
- [321] I. R. Reid, M. J. Bolland, and A. B. Grey, “Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity?,” *Bone*, vol. 41, no. 3, pp. 318–320, Sep. 2007, doi: 10.1016/J.BONE.2007.04.196.
- [322] M. S. Moreira, E. Katayama, A. C. Bombana, and M. M. Marques, “Cytotoxicity analysis of alendronate on cultured endothelial cells and subcutaneous tissue. A pilot study,” *Dent. Traumatol.*, vol. 21, no. 6, pp. 329–335, Dec. 2005, doi: 10.1111/J.1600-9657.2005.00370.X.
- [323] A. A. Reszka, J. Halasy-Nagy, and G. A. Rodan, “Nitrogen-bisphosphonates block retinoblastoma phosphorylation and cell growth by inhibiting the cholesterol biosynthetic pathway in a keratinocyte model for esophageal irritation,” *Mol. Pharmacol.*, vol. 59, no. 2, pp. 193–202, 2001, doi: 10.1124/MOL.59.2.193.
- [324] M. Schiodt *et al.*, “Workshop of European task force on medication-related osteonecrosis of the jaw-Current challenges,” *Oral Dis.*, vol. 25, no. 7, pp. 1815–1821, Oct. 2019, doi: 10.1111/ODI.13160.

- [325] D. Marolt, M. Cozin, G. Vunjak-Novakovic, S. Cremers, and R. Landesberg, "EFFECTS OF PAMIDRONATE ON HUMAN ALVEOLAR OSTEOBLASTS IN VITRO," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 70, no. 5, p. 1081, May 2012, doi: 10.1016/J.JOMS.2011.05.002.
- [326] M. A. Scheper *et al.*, "A novel bioassay model to determine clinically significant bisphosphonate levels," *Support. Care Cancer*, vol. 17, no. 12, pp. 1553–1557, Dec. 2009, doi: 10.1007/S00520-009-0710-7.
- [327] R. Landesberg *et al.*, "Inhibition of Oral Mucosal Cell Wound Healing by Bisphosphonates," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 66, no. 5, p. 839, May 2008, doi: 10.1016/J.JOMS.2008.01.026.
- [328] M. Cozin *et al.*, "Novel Therapy To Reverse The Cellular Effects of Bisphosphonates on Primary Human Oral Fibroblasts," *J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 69, no. 10, p. 2564, 2011, doi: 10.1016/J.JOMS.2011.03.005.
- [329] Y. Kobayashi *et al.*, "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.*, vol. 28, no. 2, pp. 165–175, Mar. 2010, doi: 10.1007/S00774-009-0128-9.
- [330] I. Pastar *et al.*, "Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review," *Adv. Wound Care*, vol. 3, no. 7, p. 445, Jul. 2014, doi: 10.1089/WOUND.2013.0473.
- [331] Ö. Kenan, S., Onur, "İlaca Bağlı Çene Kemiği Osteonekrozlarında Güncel Tedavi Yaklaşımları Current," *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilim. Enstitüsü Sağlık Bilim. İleri Araştırmalar Dergisi*, vol. 1, no. 1, 2018, Accessed: May 15, 2023. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/330359149_Ilaca_Bagli_Cene_Kemigi_Osteonekrozlarinda_Guncel_Tedavi_Yaklasimlari_Current_Therapeutic_Approaches_to_Medication-Related_Osteonecrosis_of_the_Jaw#fullTextFileContent.
- [332] E. Öztürk *et al.*, "İlaca Bağlı Olarak Çene Kemiklerinde Görülen Osteonekroz (Mronj) Medication Related Osteonecrosis of The Jaw (Mronj) Ergin Öztürk Öztürk E., Saruhan N. İlaca Bağlı Olarak Çene Kemiklerinde Görülen Osteonekroz (Mronj) J Biotechnol and Strategic," *Heal. Res*, vol. 3, no. 1, pp.

- 8–20, 2019, doi: 10.34084/bshr.535974.
- [333] N. H. Beth-Tasdogan, B. Mayer, H. Hussein, O. Zolk, and J. U. Peter, “Interventions for managing medication-related osteonecrosis of the jaw,” *Cochrane database Syst. Rev.*, vol. 7, no. 7, Jul. 2022, doi: 10.1002/14651858.CD012432.PUB3.
 - [334] N. C. Tartaroti, M. M. Marques, M. da G. Naclério-Homem, C. A. Migliorati, and M. C. Zindel Deboni, “Antimicrobial photodynamic and photobiomodulation adjuvant therapies for prevention and treatment of medication-related osteonecrosis of the jaws: Case series and long-term follow-up,” *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, vol. 29, Mar. 2020, doi: 10.1016/J.PDPDT.2020.101651.
 - [335] G. Favia, A. Tempesta, L. Limongelli, V. Crincoli, and E. Maiorano, “Medication-related osteonecrosis of the jaw: Surgical or non-surgical treatment?,” *Oral Dis.*, vol. 24, no. 1–2, pp. 238–242, Mar. 2018, doi: 10.1111/ODI.12764.
 - [336] F. Goker, E. Grecchi, F. Grecchi, L. Francetti, and M. Del Fabbro, “Treatment of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). A systematic review,” *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, vol. 25, no. 6, pp. 2662–2673, 2021, doi: 10.26355/EURREV_202103_25430.
 - [337] J. Liu *et al.*, “Management of medication-related osteonecrosis of jaw: Comparison between icariin and teriparatide in a rat model,” *J. Periodontol.*, vol. 92, no. 1, pp. 149–158, Jan. 2021, doi: 10.1002/JPER.19-0620.
 - [338] N. Ersan, L. J. Van Ruijven, A. L. J. J. Bronckers, V. Olgaç, D. Ilgüy, and V. Everts, “Teriparatide and the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a rat model,” *Dentomaxillofacial Radiol.*, vol. 43, no. 1, Jan. 2014, doi: 10.1259/DMFR.20130144.
 - [339] S. W. On, S. W. Cho, S. H. Byun, and B. E. Yang, “Various Therapeutic Methods for the Treatment of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ) and Their Limitations: A Narrative Review on New Molecular and Cellular Therapeutic Approaches,” *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, vol. 10, no. 5, May 2021, doi: 10.3390/ANTIOX10050680.
 - [340] T. Kawase, K. Okuda, H. Yoshie, and D. M. Burns, “Anti-TGF-beta antibody blocks enamel matrix derivative-induced upregulation of p21WAF1/cip1 and

- prevents its inhibition of human oral epithelial cell proliferation,” *J. Periodontal Res.*, vol. 37, no. 4, pp. 255–262, 2002, doi: 10.1034/J.1600-0765.2002.01615.X.
- [341] H. M. Grandin, A. C. Gemperli, and M. Dard, “Enamel matrix derivative: a review of cellular effects in vitro and a model of molecular arrangement and functioning,” *Tissue Eng. Part B. Rev.*, vol. 18, no. 3, pp. 181–202, Jun. 2012, doi: 10.1089/TEN.TEB.2011.0365.
- [342] S. P. Lyngstadaas, E. Lundberg, H. Ekdahl, C. Andersson, and S. Gestrelus, “Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 28, no. 2, pp. 181–188, 2001, doi: 10.1034/J.1600-051X.2001.028002181.X.
- [343] T. Kawase, K. Okuda, H. Yoshie, and D. M. Burns, “Cytostatic action of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) on human oral squamous cell carcinoma-derived SCC25 epithelial cells,” *J. Periodontal Res.*, vol. 35, no. 5, pp. 291–300, 2000, doi: 10.1034/J.1600-0765.2000.035005291.X.
- [344] T. Kawase, K. Okuda, M. Momose, Y. Kato, H. Yoshie, and D. M. Burns, “Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) rapidly stimulates phosphorylation of the MAP kinase family and nuclear accumulation of smad2 in both oral epithelial and fibroblastic human cells,” *J. Periodontal Res.*, vol. 36, no. 6, pp. 367–376, 2001, doi: 10.1034/J.1600-0765.2001.360604.X.
- [345] M. Sanz *et al.*, “Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins or barrier membranes: results from a multicenter practice-based clinical trial,” *J. Periodontol.*, vol. 75, no. 5, pp. 726–733, May 2004, doi: 10.1902/JOP.2004.75.5.726.
- [346] T. Maymon-Gil, E. Weinberg, C. Nemcovsky, and M. Weinreb, “Enamel Matrix Derivative Promotes Healing of a Surgical Wound in the Rat Oral Mucosa,” *J. Periodontol.*, vol. 87, no. 5, pp. 601–609, May 2016, doi: 10.1902/JOP.2016.150567.
- [347] M. Laaksonen, T. Sorsa, and T. Salo, “Emdogain in carcinogenesis: a systematic review of in vitro studies,” *J. Oral Sci.*, vol. 52, no. 1, pp. 1–11, 2010, doi: 10.2334/JOSNUSD.52.1.
- [348] O. Villa *et al.*, “Proline-Rich Peptide Mimics Effects of Enamel Matrix Derivative on Rat Oral Mucosa Incisional Wound Healing,” *J. Periodontol.*, vol.

- 86, no. 12, pp. 1386–1395, Dec. 2015, doi: 10.1902/JOP.2015.150207.
- [349] J. C. Rincon, H. R. Haase, and P. M. Bartold, “Effect of Emdogain on human periodontal fibroblasts in an in vitro wound-healing model,” *J. Periodontal Res.*, vol. 38, no. 3, pp. 290–295, 2003, doi: 10.1034/J.1600-0765.2003.00610.X.
 - [350] U. Mirastschijski, D. Konrad, E. Lundberg, S. P. Lyngstadaas, L. N. Jorgensen, and M. S. Agren, “Effects of a topical enamel matrix derivative on skin wound healing,” *Wound Repair Regen.*, vol. 12, no. 1, pp. 244–251, Mar. 2004, doi: 10.1111/j.1067-1927.2004.012117.x.
 - [351] K. Al-Hezaimi *et al.*, “Effect of enamel matrix derivative protein on the healing of standardized epithelial wounds: a histomorphometric analysis in vivo,” *Int. Wound J.*, vol. 9, no. 4, p. 436, Aug. 2012, doi: 10.1111/J.1742-481X.2011.00904.X.
 - [352] M. S. Tonetti *et al.*, “Healing, post-operative morbidity and patient perception of outcomes following regenerative therapy of deep intrabony defects,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 31, no. 12, pp. 1092–1098, Dec. 2004, doi: 10.1111/J.1600-051X.2004.00615.X.
 - [353] K. Yuan, C. L. Chen, and M. T. Lin, “Enamel matrix derivative exhibits angiogenic effect in vitro and in a murine model,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 30, no. 8, pp. 732–738, Aug. 2003, doi: 10.1034/J.1600-051X.2003.00413.X.
 - [354] B. J. Falier, R. A. Macsata, D. Plummer, L. Mishra, and A. N. Sidawy, “Transforming growth factor-beta and wound healing,” *Perspect. Vasc. Surg. Endovasc. Ther.*, vol. 18, no. 1, pp. 55–62, 2006, doi: 10.1177/153100350601800123.
 - [355] S. Barrientos, O. Stojadinovic, M. S. Golinko, H. Brem, and M. Tomic-Canic, “Growth factors and cytokines in wound healing,” *Wound Repair Regen.*, vol. 16, no. 5, pp. 585–601, Sep. 2008, doi: 10.1111/J.1524-475X.2008.00410.X.
 - [356] M. H. Parkar and M. Tonetti, “Gene expression profiles of periodontal ligament cells treated with enamel matrix proteins in vitro: analysis using cDNA arrays,” *J. Periodontol.*, vol. 75, no. 11, pp. 1539–1546, Nov. 2004, doi: 10.1902/JOP.2004.75.11.1539.
 - [357] K. Okubo *et al.*, “Participation of endogenous IGF-I and TGF-beta 1 with enamel matrix derivative-stimulated cell growth in human periodontal ligament cells,” *J. Periodontal Res.*, vol. 38, no. 1, pp. 1–9, Feb. 2003, doi:

10.1034/J.1600-0765.2003.01607.X.

- [358] M. Nokhbehsaim *et al.*, “Interactions of enamel matrix derivative and biomechanical loading in periodontal regenerative healing,” *J. Periodontol.*, vol. 82, no. 12, pp. 1725–1734, Dec. 2011, doi: 10.1902/JOP.2011.100678.
- [359] M. Nokhbehsaim, J. Winter, B. Rath, A. Jäger, S. Jepsen, and J. Deschner, “Effects of enamel matrix derivative on periodontal wound healing in an inflammatory environment in vitro,” *J. Clin. Periodontol.*, vol. 38, no. 5, pp. 479–490, May 2011, doi: 10.1111/J.1600-051X.2010.01696.X.
- [360] Y. Nagaoka, H. Kajiya, S. Ozeki, T. Ikebe, and K. Okabe, “Mevalonates restore zoledronic acid-induced osteoclastogenesis inhibition,” *J. Dent. Res.*, vol. 94, no. 4, pp. 594–601, Apr. 2015, doi: 10.1177/0022034514564187.
- [361] E. M. Grössinger *et al.*, “Ca²⁺-dependent regulation of NFATc1 via KCa3.1 in Inflammatory Osteoclastogenesis,” *J. Immunol.*, vol. 200, no. 2, p. 749, Jan. 2018, doi: 10.4049/JIMMUNOL.1701170.
- [362] J. H. Kim and N. Kim, “Signaling Pathways in Osteoclast Differentiation,” *Chonnam Med. J.*, vol. 52, no. 1, p. 12, 2016, doi: 10.4068/CMJ.2016.52.1.12.
- [363] B. F. Boyce and L. Xing, “Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling,” *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 473, no. 2, p. 139, May 2008, doi: 10.1016/J.ABB.2008.03.018.
- [364] R. Hanada, T. Hanada, V. Sigl, D. Schramek, and J. M. Penninger, “RANKL/RANK-beyond bones,” *J. Mol. Med. (Berl.)*, vol. 89, no. 7, pp. 647–656, Jul. 2011, doi: 10.1007/S00109-011-0749-Z.
- [365] X. Gong, W. Yu, H. Zhao, J. Su, and Q. Sheng, “Skeletal Site-specific Effects of Zoledronate on in vivo Bone Remodeling and in vitro BMSCs Osteogenic Activity,” *Sci. Rep.*, vol. 7, Jan. 2017, doi: 10.1038/SREP36129.
- [366] A. Ezra and G. Golomb, “Administration routes and delivery systems of bisphosphonates for the treatment of bone resorption,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 42, no. 3, pp. 175–195, Aug. 2000, doi: 10.1016/S0169-409X(00)00061-2.
- [367] M. Çankaya, F. Çizmecı Şenel, M. Kadioglu Duman, E. Muci, E. H. Dayisoğlu, and F. Balaban, “The effects of chronic zoledronate usage on the jaw and long bones evaluated using RANKL and osteoprotegerin levels in an animal model,” *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 42, no. 9, pp. 1134–1139, Sep. 2013, doi: 10.1016/J.IJOM.2013.02.008.

- [368] A. C. Jones *et al.*, “Analysis of 3D bone ingrowth into polymer scaffolds via micro-computed tomography imaging,” *Biomaterials*, vol. 25, no. 20, pp. 4947–4954, Sep. 2004, doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2004.01.047.
- [369] J. Y. Wang, L. Huo, R. Q. Yu, N. J. Rao, W. W. Lu, and L. W. Zheng, “Skeletal Site-Specific Response of Jawbones and Long Bones to Surgical Interventions in Rats Treated with Zoledronic Acid,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/5138175.
- [370] H. Hadad *et al.*, “Beta tricalcium phosphate, either alone or in combination with antimicrobial photodynamic therapy or doxycycline, prevents medication-related osteonecrosis of the jaw,” *Sci. Rep.*, vol. 12, no. 1, Dec. 2022, doi: 10.1038/S41598-022-20128-4.
- [371] N. Adachi *et al.*, “Preventive effect of fluvastatin on the development of medication-related osteonecrosis of the jaw,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/S41598-020-61724-6.
- [372] J. W. Kim, A. M. D. Alfafara, H. Y. Kim, S. Y. Kim, and S. J. Kim, “Effects of pH alteration on the pathogenesis of medication-related osteonecrosis of the jaw,” *Bone*, vol. 122, pp. 45–51, May 2019, doi: 10.1016/J.BONE.2019.02.007.
- [373] J. Y. Kim, H. W. Jang, J. I. Kim, and I. H. Cha, “Effects of pre-extraction intermittent PTH administration on extraction socket healing in bisphosphonate administered ovariectomized rats,” *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 54, Dec. 2021, doi: 10.1038/S41598-020-79787-W.
- [374] R. Schoenhof *et al.*, “Microarchitecture of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ); a retrospective micro-CT and morphometric analysis,” *J. Craniomaxillofac. Surg.*, vol. 49, no. 6, pp. 508–517, Jun. 2021, doi: 10.1016/J.JCMS.2021.02.018.