

ARZU MORÇIÇEK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2023



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

DENEYSEL PERİODONTİTİS OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA, SİSTEMİK OLARAK KULLANILAN
ZOLEDRONİK ASİTİN DOKU İYİLEŞME POTANSİYELİ
ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ

ARZU MORÇİÇEK

DOÇENT DOKTOR ALİ ÇEKİCİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
PERİODONTOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2023

TEZ ONAYI



BEYAN

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

ARZU MORÇİÇEK

İTHAF

Hayatım boyunca azmini örnek aldığım ve yaşamla mücadelesinde pes etmemeyi bana öğreten güçlü kadına, anneme ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Eğitim yaşamım boyunca; anaokuldan, ilkokula, liseden, üniversiteye ve doktora eğitimime kadar üzerimde emeği geçen tüm öğretmenlerime sonsuz saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

Doktora eğitimim sürecinde ameliyatlarını yakından gözlemlediğim saygıdeğer hocam Prof. Dr. Korkud Demirel'e, tez danışmanım Doç. Dr. Ali Çekici'ye,

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nın tüm değerli öğretim üyelerine, hemşirelerine, çalışan personeline ve asistan arkadaşlarıma,

Lisansta aynı stajda okuduğum ve doktorada aynı hocanın asistanı olduğum çok kıymetli arkadaşım, kıdemlim ve başarımın en iyi örneklerinden olan Uzm. Dt. Toyly Hojageldiyew'e, hayatımda en iyi karakterli insanlardan biri olan diğer kıdemli dostum Uzm. Dt. Arash Tizro'ya, Çapa'nın hayatıma kattığı benden daha enerji dolu olduğunu söyleyebileceğim nadir insanlardan biri olan Dr. Dt. Caner Yılmaz'a, lisanstan doktora dostluğunu esirgemeyen Dt. Oyuka Batgerel'e, Europerio kongrelerinde, ayrılmaz oda arkadaşım Uzm. Dt. Emine Serra Bıçakçı'ya ve hayvan deneyinde yanımda her daim olan canımın bir parçası kız kardeşim Nazlı Morçişek'e, gerekli evrak bilgileri için danıştığım Dt. Basak Yılmaz Feyizođlu ve Dt. Batuhan Ayçişek'e

Tez çalışmamda histopatolojik değerlendirmeleri yapan Doç. Dr. Vakur Olgaç'a, ilaçların hangi oranda seyreltilmesi gerektiğini hesaplayan Dr. İlknur Bingöl'e, ilaçları birlikte hazırladığımız veteriner hekim Gül Bakırer'e, sağlık memuru Gökhan Bey ve Seçkin Beye,

Bu zamana kadar okumamda büyük konfor sağlayan anneme ve babama, en kıymetlilerim ablam Sevgi'ye ve kardeşim Nazlı'ya
Tüm kalbimle teşekkürlerimi borç bilirim.

Bu çalışmada ki hayvan deneyi, İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir. Kurumun, 25.09.2020 tarihli toplantısında yapılan çalışma değerlendirilmiş olup, Prof. Dr. Korkud Demirel sorumluluğunda, 2020/26 numaralı Etik Kurul Onayı verilmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Periodontitis ve Periodontitisin Patogenezi	2
2.1.1 Periodontal Hastalık Gelişim Aşamaları.....	2
2.2 Bifosfanatlar	7
2.2.1 Bifosfanatların Tarihçesi	7
2.2.2 Bifosfanatların Kimyasal Yapısı.....	8
2.2.3 Bifosfanatların Etki Mekanizması	8
2.2.4 Bifosfanatların Tümör Karşıtı Özellikleri.....	9
2.2.5 Bifosfanatların Türleri.....	11
2.2.5.1 Nitrojen İçeren Bifosfonatlar	11
2.2.5.2 Nitrojen İçermeyenler	11
2.2.5.1a Zoledronik Asit	12
2.2.6 Bifosfanatların Yan Etkileri	13
2.2.7 Bifosfanatların Klinik Uygulaması.....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
3.1 Deney Gruplarının Oluşturulması.....	15

3.2 Deney Materyalleri	19
3.2.1 Histoloji	19
3.2.2 İstatiksel Analiz	21
4. BULGULAR.....	22
4.1 Periodontal Dokulardaki İltihasal Değişime Ait Bulgular	22
4.2 Periodontal Dokulardaki Epitel Proliferasyonu Değerlendirmesine Ait Bulgular	23
4.3 Periodontal Dokulardaki Nekroz Oluşumunun Değerlendirilmesine Ait Bulgular.....	23
4.4 Periodontal Ligamanın Aralığının İncelenmesine Ait Bulgular	24
4.5 Zoledronik Asit Grubu.....	25
4.5.1 ZA- Deneysel Periodontitis Grup (DPP)	25
4.5.2 ZA- Periodontal Sağlıklı Grup(DSP).....	26
4.6 Serum Fizyolojik Grubu	27
4.6.1 Serum Fizyolojik- Deneysel Periodontitis Grup (KDP).....	27
4.6.2 Serum Fizyolojik- Periodontal Sağlıklı Grup.....	27
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ.....	37
7. KAYNAKLAR	38
HAM VERİLER	48
FORMLAR	Error! Bookmark not defined.
ETİK KURUL KARARI.....	Error! Bookmark not defined.
PATENT HAKKI İZİNİ.....	Error! Bookmark not defined.
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	49

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Çalışma gruplarında yapılan uygulamalar.	ii
Tablo 2: Deney ve kontrol gruplarında uygulanan çalışma planı. Error! Bookmark not defined.	
Tablo 3: Histolojik kesitlerin iltihap, nekroz ve epitel proliferasyonu açısından değerlendirilmesi.	Error! Bookmark not defined.
Tablo 4 : Histolojik Bulgular-İltihap.....	Error! Bookmark not defined.
Tablo 5 : Histolojik Bulgular- Epitel Proliferasyonu	
Tablo 6: Histolojik Bulgular-Nekroz	vi
Tablo 7 : Histolojik Bulgular-Periodontal Aralık	Error! Bookmark not defined.

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1: Nitrojen içeren ve nitrojen içermeyen bifosfatların kimyasal yapıları ii
- Şekil 2: Zoledronik asidin kimyasal yapısı..... **Error! Bookmark not defined.**
- Şekil 3: Anestezi verildikten sonra sıçanın ameliyat masasına yerleştirilmesi. **Error! Bookmark not defined.**
- Şekil 5: Deneysel periodontitis oluşturulması amacıyla, 5.0 ipek dikişin sağ üst çenede 1.molar dişin etrafına düğümlenerek, mikrobiyal dental plak için retansiyon alanı oluşturulması..... **Error! Bookmark not defined.**
- Şekil 6: DDP (deney grubu deneysel periodontitis) grubuna ait histopatolojik görüntüde nekrotik kemik fragmanları görülmektedir.(H&EX100)
- Şekil 7: DSP(deney grubu sağlıklı periodonsiyum) grubuna ait histopatolojik görüntüde normal fizyolojik görünümde diş kökleri ve periodontal dokular görülmektedir.(H&EX100)..... vi
- Şekil 8: KDP(kontrol grubu deneysel periodontitis) grubuna ait histopatolojik görüntü(H&EX100)..... **Error! Bookmark not defined.**
- Şekil 9: KSP(kontrol grubu sağlıklı periodonsiyum) grubuna ait histopatolojik görüntüde doğal yapıda diş kökleri ve çevresinde sağlıklı periodontal dokular görülmektedir.(H&EX100)..... x

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

BP: Bifosfanat
BRONJ: Bifosfanat ile ilişkili çene osteonekrozu
DDP: Deney grubu deneysel periodontitis
DSP: Deney grubu sağlıklı periodonsiyum
KDP: Kontrol grubu deneysel periodontitis
KSP: Kontrol grubu sağlıklı periodonsiyum
IV: Damar içi
IM: Kas içi
n: Örnek sayısı
ZA: Zoledronik asit
SF: Serum fizyolojik
H&E: Hematoksilen&Eozin
İ.Ü: İstanbul Üniversitesi
ONJ: Çenelerin osteonekrozu
MRONJ: İlaç kullanımı ile ilgili çenelerin osteonekrozu
DOS: Diş eti oluk sıvısı
FDA: Food and drug administration
AAOMS: Amerikan çene yüz cerrahları birliği
RANKL: Monoklonal antireseptör aktivatörü ligandı
OPG: Osteoprotegerin

ÖZET

MORÇİÇEK, A. (2023) Deneysel Periodontitis Oluşturulan Sıçanlarda, Sistemik Olarak Kullanılan Zoledronik Asidin Doku İyileşme Potansiyeli Üzerine Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmadaki hayvan deneyi, İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nde yapılmıştır. Etik Kurul Onay No: 2020/26

Günümüzde bilimsel araştırmalarda bifosfanatların sağlıklı kemik dokusu üzerine etkisi bilinmiş olsada, kronik periodontal enflamasyon varlığında ve bu enflamasyon etkeni ortadan kaldırıldığında, zoledronik asitin enflamasyon ile etkileşimi ve enflamasyon ortadan kaldırıldığında periodontal dokular üzerine etkileşimi yeni bir çalışma sahasını oluşturmaktadır.

Bu tez çalışmasında amacımız hayvan modelinde deneysel periodontitis oluşumundan sonra, periodontitis etkeni kaldırılmadan kullanılan zoledronik asidin, periodontitis etkeni ortadan kaldırıldıktan sonra dokunun iyileşme potansiyeli üzerindeki etkisini histopatolojik olarak gözlemlemeyi hedeflemiştir. Bu amaçla, Sprague-Dawley cinsi 30 adet yetişkin erkek sıçan bifosfanat kullanan ve kullanmayan olarak 2 gruba ayrılmıştır. Deney başlangıcında tüm sıçanlara, anestezi altında, sağ üst 1. molar dişlerinin etrafına 5.0 ipek dikiş yerleştirilmiştir. Sol üst 1. molar dişlere ise herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Dikişlerin yerleştirilmesinden sonra 3 hafta beklenilmiştir. 21. günde hayvanlarda deneysel periodontitis gözlendikten sonra deney grubundaki hayvanlara kas içi 6 hafta boyunca 7.5µg/kg zoledronik asit enjekte edilmiştir. 0., 7., 14., 21., 28., ve 35. günlerde; 6 hafta boyunca, haftada bir, kas içi ilaç verilmesinden sonra deney grubu sıçanlarında, haftalık ağırlık takibi yapılmıştır ve not edilmiştir. Son ilaç enjeksiyonları tamamlanan deney grubu hayvanlarının ve aynı günlerde %0.9 serum fizyolojik uygulanan kontrol grubu hayvanlarının 6 hafta sonunda, anestezi altında yerleştirilen dikişleri kaldırılmıştır. Bir haftalık iyileşme süresi için beklenilmiş ve bu iki hafta içinde de deney grubundaki hayvanlara zoledronik asit enjekte edilmiştir. Sonrasında ise tüm hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Elde edilen örnekler histolojik incelemeye tabi tutulmuştur.

Histolojik değerlendirme sonuçlarında zoledronik asit kullanılmış ve deneysel periodontitis oluşturulan grupta iltihap, nekroz, periodontal aralık ve epitel proliferasyonu istatistiksel anlamlı($p<0,01$) olarak daha fazla bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Zoledronik Asit, Sıçan, Hayvan Deneyi, Deneysel Periodontitis, Osteonekroz, Histoloji

ABSTRACT

Objective: In this study, our goal was to histopathologically observe the effect of zoledronic acid, which is used without removing the periodontitis agent, on the healing potential of the tissue after the experimental periodontitis formation in an animal model.

Material and Methods: 30 adult male Sprague-Dawley rats were divided into 2 groups as bisphosphonate users and non-users. At the beginning of the experiment, all rats were put under anesthesia and 5.0 silk sutures were placed around their right upper first molars. No suture was placed around the left upper first molar teeth. It was waited for 3 weeks after the placement of the sutures. After experimental periodontitis was observed in the animals on the 21st day, 7.5µg/kg zoledronic acid was injected intramuscularly for 6 weeks in the animals in the experimental group. After intramuscular drug administration once a week for 6 weeks, weekly weight monitoring was performed on days 0, 7, 14, 21, 28, and 35 and noted in the experimental group rats. At the end of 6 weeks, the sutures were removed under the anesthesia from the experimental group animals whose last drug injections were completed and the control group animals that were administered 0.9% saline on the same days. A recovery period of two weeks was expected after which all animals were sacrificed.

Results: In the histological evaluation results, inflammation, necrosis, increased periodontal space and epithelial proliferation were found to be statistically significant $p < 0,01$ in group with experimental periodontitis in which zoledronic acid was used.

Keywords: Zoledronic Acid, Rat, Animal Experiment, Experimental Periodontitis, Osteonecrosis, Histology.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Periodontitis, dişleri destekleyen dokuların enflamasyonu ile karakterize, periodontal destek dokuların; ataşman kaybı ve alveolar kemik yıkımıyla sonuçlanan, patogenezinde kronik plak ve diş taşı birikimine bağlı oluşan, kronik enfeksiyöz bir hastalıktır. Gingivitis, diş eti ile sınırlı klinik enflamasyon ve ataşman kaybı olmaması ile karakterize klinik patolojik bir durumdur. Gingivitis plak ve konak cevabına göre farklı şiddetlerde izlenebilir. Gingivitiste diş destek olan alveolar kemik ve periodontal ligament iltihapsal periodontal hastalıktan etkilenmemiştir. Gingivitis periodontitise dönüşebilir ancak bu durumun hangi bireylerde gerçekleşebileceğini ön görmek günümüzde mümkün değildir. Periodontal cep oluşumu, klinik ataşman ve alveolar kemik kaybı, diş etinde enflamasyon periodontitisin temel klinik özellikleridir. Diabet, sigara kullanımı, stres ve metabolik hastalıkların, bakteriyel plak birikimine karşı oluşan konağın cevabını değiştirdiği ve bu da periodontitisin ilerlemesini düşündüğümüzde; çevresel ve genetik faktörlerin rol oynadığı multifaktoriyel bir hastalık olduğu sonucunu çıkarmaktadır.

Bifosfanatlar; fosfor-karbon-fosfor yapısı ile karakterize bileşiklerdir. Sistemik olarak kullanıldıklarında kemiğin yapısına girerek hidroksiapatit kristallerine tutunurlar ve osteoklastların yaptığı rezorpsiyonu yavaşlatarak veya durdurarak etki ederler. Bu etkileri sayesinde kemikte yıkıma neden olan her türlü osteopenik hastalık ve kemik metastazlı kanserlerin tedavisinde tüm dünyada giderek artan bir oranla kullanılmaktadır. Üretildiği ilk yıldan beri sürekli geliştirilen bifosfanatlar, günümüzde nitrojen içeren ve içermeyen olmak üzere iki temel gruba ayrılırlar. Nitrojen içeren bifosfanat grubunda en yaygın olarak kullanılan ise zoledronik asit olarak karşımıza çıkmaktadır. Nitrojen içeren bifosfanatlar kemik rezorpsiyonunun güçlü inhibitörleridir. Günümüzde bilimsel araştırmalarda bifosfanatların normal kemik dokusu üzerine etkisi açıkça ortaya konulmuş olsa da, oral mukoza üzerine etkisiyle ilgili yapılan çalışmalar sınırlıdır. Yapılan sınırlı sayıdaki çalışma ise bifosfanatların güvenilirliğinin, etkinliğinin ve kullanım dozlarının belirlenmesi için yeterli değildir. Kemik dokusunda etki gösteren bu ilacın çene kemiklerinin yanı sıra periodontal dokuları da etkilediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Günümüzde bifosfanat kullanımının çene kemiklerinde osteonekroz riskini arttırdığına dair çalışmalar mevcuttur. Fakat bifosfanatların periodontal dokudaki etkileri hakkında çalışmalar yetersizdir. Bu konuda daha fazla çalışma yapılmasının gerektiği anlaşılmaktadır.

Bu doktora tezi çalışmasının amacı hayvan modelinde deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra uygulanan zoledronik asidin periodontal dokular üzerindeki etkisini ve periodontitis etkeni ortadan kaldırıldıktan sonra periodontal dokuların iyileşme sürecine olan etkilerini histopatolojik olarak incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Periodontitis ve Periodontitisin Patogenezi

Periodontitis, mikrobiyal dental plağın konak periodontal doku immune yanıtını uyararak başlayan, periodontal ligament, sement ve alveol kemiğinde meydana gelen yıkım ile karakterize kronik iltihapsal enfeksiyöz bir hastalıktır. (Mp C ve ark. 2001; Seymour, 1979; S GJ ve ark.2004). Tedavi edilmediğinde diş kaybı ile sonuçlanabilmektedir.

Hastalığın başlıca özellikleri; klinik ataşman kaybı ve radyografik olarak kemik kaybının görülmesidir (Yago Leira; De Melon RS ve ark. 2018). Sub ve supra gingival plak biyofilminin varlığı, diştışı birikimi, diş eti iltihabı, periodontal cep oluşumu bu hastalığın klinik özellikleri arasında yer almaktadır (Marchesan J ve ark.2018; Smith MM ve ark. 2000). Hastalık histopatolojik olarak incelendiğinde ise; bağlantı epitelinin mine-sement sınırının apikaline doğru yer değiştirmesi, cep epitelinde polimorfonükleer lökosit (PMNL) birikiminin artması ve makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinin infiltrasyonudur (Deng ZL ve ark. 2017).

Mikroorganizmaların virülans faktörleri, konak dokularına girişini, bakterilerin birikimini, yayılmasını ve konak dokularında doğrudan ve dolaylı hasar oluşturmasını sağlayarak hastalık oluşturma kapasitesini belirler (Gawnan K ve ark. 2019). Periodontal hastalığın ilerlemesine neden olan kontrolden çıkmış iltihapsal konak yanıtı ve çevresel faktörler hastalığın oluşturduğu doku yıkımını açıklamaktadır, ancak biyofilm mikroorganizmalarının başlatıcı etkisi göz ardı edilmemelidir (Seymour GJ ve ark. 1978; Mp C ve ark. 2003).

Biyofilm içinde yaşayan mikroorganizmaların birbirleriyle olan kommensal, sinerjik ve antagonist etkileşimleri vardır (Kumar S ve ark. 2019; S GJ ve ark. 2004; Page RC ve ark.1976). Periodontitisin, konağın savunma mekanizmasının; Porfyromonas gingivalis, Tannerella forsythia ve Treponema denticola komplekslerini içeren biyofilm ile etkileşimi sonucu ortaya çıktığı anlaşılmıştır (Carvalho-Filho PC ve ark.2016; Berglundh T ve ark. 2011). Gerçekte birçok insanın hastalık oluşumu göstermeden organizmaları taşıdığı kabul edilmektedir. (Hospital RO ve ark. 1979; Perez-Lopez ve ark. 2004). Bu bağlamda, konağın savunma sistemi ile biyofilmin dengede olduğu ve sadece bu denge bozulduğunda hastalığın ortaya çıktığı bilinmektedir (Ark ve ark. 1995; Russell RGG ve ark. 2011). Hastalığın meydana gelmesi ve ilerlemesi bakteriler, konak yanıtı ve çevresel faktörler ile çok yönlü bir ilişki içerisindedir.

2.1.1 Periodontal Hastalık Gelişim Aşamaları

Gingival sulkusta plak biyofilmine karşı meydana gelen ilk olaylar; polimorfonükleer lökosit birikiminin artması ve makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinin infiltrasyonu,

bağlantı epitelinin mine-sement sınırının apikale doğru göçmesi ve sonucunda periodontal cep oluşumudur.

Page ve Schroeder, periodonsiyumda meydana gelen histolojik değişiklikleri, başlangıç, erken, yerleşik ve ilerlemiş lezyon olarak tanımlar (Page RC ve ark. 1976). Geniş anlamda, başlangıç lezyonu klinik olarak sağlıklı dokulara karşılık gelir, erken lezyon diş eti iltihabının erken evrelerine karşılık gelir, yerleşik lezyon kronik diş eti iltihabına karşılık gelir ve ilerlemiş lezyon ataşman kaybı ve kemik yıkımı ile periodontitise geçişi ifade eder.

Başlangıç lezyonu

Başlangıç lezyon daha önce temizlenmiş dişler üzerinde plak birikimini takiben 2-4 gün içinde oluşur. Özellikle lipopolisakkaritler (LPS) olmak üzere bakteriyel komponentler epitel hücrelerinin yüzey reseptörleri (CD14) ile etkileşime girerler. Epitel hücrelerinin birbirleriyle bağlantılarının gevşemesi ve aralarının genişlemesiyle dişeti, iltihabının erken safhalarında önce zarar verici bakteri ürünleri bağ dokusuna girerler. Bakteriyel plakta bulunan mikroorganizmalar kollejenaz, hyalüronidaz, proteaz, kondroitin sülfataz gibi bazı maddeleri sentezlerler.

Bu maddeler, epitel hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve hücreler arası madde olan ekstrasellüler matrikse zarar verirler.

Mikrobiyal ürünler, epitel hücreleri, monosit ve makrofajları aktive ederler ve bu hücrelerden PGE2 (prostaglandin E2), interferon, TNFalfa (tümör nekroz faktör alfa) ve IL-1(interlökin 1 gibi vazoaktif maddelerin salgılanmasına neden olurlar.

Düşük dereceli enflamasyon, damar geçirgenliğinin artması ve damarların genişlemesi ile karakterizedir. Dolayısıyla başlangıç lezyonun ilk bulgularından olan kapiller damarların genişlemesi ve kan akışının artması söz konusu olur. Bunun sonucu vasküler eksuda ile birlikte PMNL'lerin (polimorfonükleer lökositler) damar dışına göçü başlar. PMNL'ler infeksiyonlara karşı konak savunmasında önemli rol oynayıp, fagositoz ve hücre içi öldürme aktiviteleri başlıca fonksiyonları arasındadır. Mikroskobik olarak, birleşim epitelinin hemen altında akut iltihap bulguları görülür.

Başlangıç lezyonunda etkilenen dokular, birleşim epitelinin bir kısmı, dişeti cebi epiteli ve bağ dokusunun en koronal kısmıdır. Nadiren dişeti bağ dokusunun %5-10'u etkilenir. Damar çeperindeki kollajenin bir kısmı yıkıma uğramıştır.

Mikroskopik olarak;

- Birleşim epiteli altındaki bağ dokusunda değişiklikler izlenir.
- Kan damarlarının morfolojik görüntüsü değişir ve kan damarları genişler.
- Nötrofiller dokuya geçmek üzere damar duvarına yapışır ve diapedes yoluyla damar dışına çıkar.
- Başlangıç lezyonunda dominant hücre grubu PMNL'lerdir.

Başlangıç lezyonu bulguları;

- Birleşim epiteline komşu damarlarda vaskülit oluşur.
- Dişeti cebinden sıvı akışı artar.
- Birleşim epiteli ve diş eti cebine lökosit akışında artış olur.
- Serum proteinlerinde artış(özellikle fibrin) görülür.
- Birleşim epitelinin en koronal kısmı değişikliğe uğrar.
- Perivasküler kollajen kaybı söz konusudur.

Erken Lezyon

Erken lezyon başlangıç lezyonundan sonra gelişir ancak ikisini birbirinden ayıran kesin çizgi yoktur. Erken lezyon başlangıç lezyonunun olduğu bölgede plak birikiminin başlamasından 4-7 gün sonra ortaya çıkar. Erken lezyonun başlıca özelliği diş eti bağ dokusu içinde yoğun lenfoid hücre infiltrasyonu oluşması ve devam etmesidir. Bağlantı epitelinin altında çok sayıda küçük ve orta büyüklükte lenfosit toplanmıştır.

Birleşim epiteli ve dişeti cebinde lökosit sayısı artmıştır. Birleşim epiteline komşu bağ dokusunda lenfosit birikimi vardır. İnflamasyon bölgesindeki fibroblastlarda sitopatik değişiklikler vardır ve bu bölgelerde kollajen yıkımı gözlenmektedir.

Başlangıç lezyonundaki erken konak cevabı mikrobiyal plağa karşı yeterli korunmayı yapmayabilir. PMNL'lerin göçü ile matriks yıkımının en erken safhası oluşur. Bu da bağ dokusunda fazla hücre göçü ve birikimine neden olur. Esas olarak erken lezyon yoğun bir lenfoid hücre infiltrasyonunun oluşması ve devam etmesi sonucu oluşur. Hücreler ağırlıklı olarak lenfositlerden oluşur ve az sayıda plazma hücresi içerir. Bunların büyük bir kısmı T hücresidir. Sadece %6'sı B hücresidir. Bağ dokusundaki hücre kompozisyonu; fibroblastlar, PMNL'ler, monositler, makrofajlar, plazma hücreleri, lenfositler (en fazla) ve mast hücreleri şeklindedir. Histopatolojik bulgular plak antijenlerine karşı konağın hücrel immuniteye yanıt vermenin, erken lezyonun gelişimine önemli bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

Kollajen yıkımında artış vardır. Bilhassa hücre infiltrasyonunun olduğu bölgede %70'e varan kollajen yıkımı söz konusudur. En fazla etkilenen lif grubu sirküler dentogingival liflerdir.

Bunlar birleşim epitelini destekleyen lif grubudur. Kollajen kaybı doku devamlılığının ve diş eti fonksiyonunun kaybında en önemli faktördür. Etkilenen bağ dokusundaki fibroblastlarda sitopatik değişiklikler görülür. İltihaplı doku ile normal dokuda hemen hemen aynı miktarda fibroblast bulunmasına rağmen, patolojik değişikliğe uğramış dokuda fibroblastların boyutu normalden 3 kat artar. Çekirdek kromatin yoğunluğunu azalır. Fibroblastlardaki bu sitopatik değişiklik nedeniyle kollajen yapımında azalmıştır. Zaman içerisinde retepegler arasında doğru kapiller halka formasyonunun

artması ve kapiller proliferasyonundan dolayı klinik olarak eritemli görünüm başlar. Enflamatuvar hücrelerin ve doku sıvılarının toplanmaya başlamasıyla dişetinde klinik olarak gözlenebilen semptomlar ortaya çıkar, bunlar bir sonraki faza geçişi gösterir. Sondalamada kanama da görülebilir.

Mikroskopik olarak;

- Diş etinde lökosit infiltrasyonu izlenir.
- Temel olarak izlenen hücre grubu lenfositlerdir, geriye kalan %25'i ise makrofajlar, plazma hücreleri ve mast hücreleri izlenmektedir.
- Başlangıç lezyonunda izlenen olayların şiddeti artmıştır.
- Birleşim epiteli nötrofillerle infiltre durumundadır ve birleşim epitelinde retepeg oluşumu izlenir.

Erken Lezyon Bulguları

- Başlangıç lezyonunda görülen bulgular artmıştır.
- Birleşim epiteline komşu ve akut iltihabın olduğu bölgelerde lenfoid hücre birikimi olur.
- Lenfoid hücrelerle etkileşime giren fibroblastlarda sitopatik değişiklikler olur.
- Diş eti kenarını destekleyen kollajen liflerde yıkım söz konusudur.
- Birleşim epiteli bazal hücrelerinin proliferasyonu başlamıştır.

Yerleşmiş Lezyon

Erken lezyonun daha ileri bir evresi olup 2-3 haftalık plak birikimi sonrasında ortaya çıkar. Etkilenen bağ dokusunda hakim olan plazma hücreleridir. Artık cep epiteli olarak kabul edilir ve henüz bu evrede periodontal ligament ve alveolar kemikte değişiklik yoktur. Eğer plak birikimi devam ederse, gingivitisin klinik belirtileri görülmeye başlar ve erken lezyon yerleşmiş lezyon haline gelir. İltihabi cevap devam ederse makrofaj ve lenfositlerin infiltrasyonu artar ve daha fazla kollajen kaybı görülür. Bu safhada iltihabi reaksiyon koruyucu rolünü yerine getirebilir ve lezyon devam edebilir.

Dişeti cebindeki plak birikimi devam ettikçe bağ dokusundaki iltihabi cevabın şiddetide giderek artar. Bu safhada bağ dokusunda adeta lenfosit ve makrofaj seli vardır. Lenfosit infiltrasyonunun çoğunluğunu B ve T hücreleri oluşturur. Ancak yerleşmiş lezyonda Plazma hücrelerinin sayısı da artmıştır. Plazma hücreleri daha çok IgG1 ve IgG3 üretirler. Lenfosit ve makrofajların sayısı arttıkça sitokin, kemokin, lenfokin, enzim ve diğer iltihabi ürünlerin yoğunluğuda artar. İltihabi ürünlerin en önemlileri olarak IL-1, TNFalfa, IL8, MCP-1(monosit kemotaktik protein), INF-y olarak sayılabilir. Sitokinler (IL-1, TNFalfa), epitel hücreler, monosit ve fibroblastlardan PGE2'nin salınmasını artırır. Matriks metalloproteinaz (MMP) gibi kollajen yıkıcı medyatörlerin konsantrasyonu artmıştır.

Bu nedenle yerleşmiş lezyonda, bağ dokusunda önemli derecede yıkım söz konusudur. Ancak henüz kemik kaybı yoktur. Yani olay diş etinde lokalizedir. Bu safha kronik gingivitis olarak adlandırılır.

Birleşim epiteli cep epiteline dönmektedir ve cep oluşumu başlamıştır. Plasma hücreleri dominanttır. Kollajen lif kaybı vardır. Periodontal ligament ve alveol kemiği henüz değişikliğe uğramamıştır.

Yerleşmiş lezyonun erken dönemlerinde lezyon sulkusun apikalinde bulunur. Birleşim epitelinde çok sayıda nötrofil, cep duvarının bağ dokusuna bakan bölgesinde de makrofajlar bulunur. Lezyonun periferinde plasma hücreleri bulunur. Daha sonraki safhalarda plasma hücrelerinin sayısı artar. Plasma hücreleri reaksiyon bölgesiyle sınırlı değildir. Bağ dokusunun derinliklerinde, kollajen demetleri arasında yer alırlar.

Birleşim epiteli ve cep epiteli infiltre olmuş bağ dokusuna doğru kök yüzeyi boyunca proliferer olur ve göç eder. Birleşim epiteli cep epiteline dönüşür. Bu dönüşüm muhtemelen subgingival plağın yayılımının bir sonucudur.

Yerleşmiş lezyonda, kan damarları genişlemiştir, venöz dolaşım bozulmuş ve dolayısıyla kan akışı yavaşlamıştır. Bunun sonucu diş etinde lokal anoksi oluşur. Bu da klinik olarak diş etinin mavimsi-morumsu renk almasına neden olur. Ayrıca eritrositlerin bağ dokusuna çıkışı ve hemoglobinin yıkımı kronik iltihabi gingivitisin koyu renk olarak yansımaya neden olur.

Mikroskopik olarak;

- Yoğun, kronik enflematuar reaksiyon izlenir.
- Plazma hücrelerinin sayıları artmıştır.
- Plazma hücreleri sadece birleşim epiteli çevresinde değil daha derin bağ dokusunda kan damarları etrafındaki kollajen fibrillerin arasında da izlenir.
- Birleşim epitelinde intersellüler aralık genişlemiştir ve bu aralık nötrofil, lenfosit ve makrofajlardan gelen lizozomal granüllerle doludur.
- Bazal lamina bazı bölgelerde yer yer izlenmez ve bağ dokusuna doğru derin retepegler oluşmuştur. Bağ dokusunda kollajen fibrillerin yıkımı izlenir.

Yerleşmiş Lezyon Bulguları

- Akut iltihabi bulguların sürekliliği söz konusudur.
- Plasma hücreleri baskındır ancak henüz kemik kaybı yoktur.
- Bağ dokusu ve birleşim epitelinde immünglobülinler mevcuttur.
- Erken lezyonda görülen bağ dokusu yıkımı devam eder.
- Birleşim epitelinin proliferasyonu, apikal göçü ve laterale genişlemesi söz konusudur, cep oluşumu görülebilir.

Lezyonun alveolar kemiğe yayılması ilerlemiş lezyon olarak isimlendirilen dördüncü aşama ile karakterizedir. Bu aşama periodontal yıkımı ifade eder. Bu aşama periodontal cep oluşumu safhasıdır. Hastalığın oluşumu ve ilerlemesi çevresel faktörler, konak yanıtı ve bakterilerle sıkı bir ilişki içerisinde (Fleisch H ve ark. 2002; Russell RGG ve ark. 2006).

Sağlıklı dokuda birleşim epitelinde retepegler gözlenmez ve oldukça iyi oryante olmuş kollajen fibril demetleri ile desteklenmektedir. (Russell ve ark. 2008; Carnish J, Bova U; Von Moos, Costa L) Histolojik olarak sağlıklı diş eti, sadece plağın olmadığı gingival sulkusa komşu alanlarda izlenir.

İlerlemiş Lezyon

- İlerlemiş lezyon ortaya çıkıncaya kadar geçen süre farklılık gösterir. Lezyonun alanı büyümüştür. Cep epitelinin uzantıları bağ dokusunun derinliklerine ilerler.
- Kollajen lif demetlerinde ve diş etinde ileri derecede yıkım vardır. Bununla beraber lezyon apikale ilerledikçe transseptal lifler rejenere olmaya devam eder.
- Plazma hücreleri hakim tip hücre olmayı sürdürür. Bu hücrelerin bir çoğu zedelenmiştir ve dokunun derin kısımlarında gözlenebilir.
- Özellikle vasküler kanal bölgesinde olmak üzere alveol kret rezorpsiyonu ortaya çıkar.

Başlayan osteoklastik kemik rezorpsiyonunda dolayı, ilerleyen enflamasyondan kaçmak için kemik geri çekilir. Biyofilm içindeki bakterilerin apikale doğru hareket etmesiyle cep gittikçe derinleşir. Periodontal cep, gingival sulkusun patolojik olarak değerlendirilmesidir. Cep oluşumunda histopatolojik görüntü benzer olmakla birlikte, hastalığın etyolojisi, hikayesi, ilerleme şekli ve tedaviye verdiği cevaplar farklılıklar göstermektedir (Fournier P ve ark. 2002, Nobuyuki H ve ark. 2001).

Günümüzde birçok araştırmacı periodontal hastalığın evreler halinde ilerlediğini kabul etmektedir. Uzun sessizlik dönemleri yanında kısa aktif dönemler yer alır. Hastalık aktivitesindeki bu alevlenmeler sırasında oluşan ataçman kaybı çok küçük bir kayıptan ileri doku kaybına dek değişir.

2.2 Bifosfanatlar

2.2.1 Bifosfanatların Tarihçesi

Bifosfanatlar ilk olarak 1800'lü yıllarda, Almanya'da sentezlenmelerine rağmen tıpta kullanıma girmeleri 1960'larda olmuştur. Bifosfanatlar erken dönemde endüstriyel olarak kullanılmış olup bunlar; sanayi, tekstil ve yağ endüstrisidir (Senaratre SG ve ark. 2002).

Tıp alanında ise bifosfanatlar ilk kez tanısız kemik görüntüleme yöntemlerinde kullanılmıştır. Yapılan çalışmaları takiben 1969 yılında Etidronat klinik olarak ilk kez kullanılmıştır (Ashcroft ve ark. 2003). Tıbbi kullanıma ilk giren bifosfanat bileşiği 'etidronat'tır. Günümüzde en sık kullanılan bifosfanatlardan olan pamidronat, ilk kez 1991 yılında malign hiperkalseminin tedavisinde kullanılırken, en güçlü bifosfonat olan

zoledronik asit ise 2001 yılında başta malign hiperkalsemi tedavisinde, 2002 yılında ise solid tümörlerin metastazlarında ve multiple myeloma tedavisinde antineoplastik etki amacıyla kullanılmıştır. Görüntüleme yöntemlerinin gelişmesi ile etkileri daha net anlaşılmıştır (Papapoulos SE ve ark. 1988).

Takip eden yıllarda klinik başarının artmasıyla Paget hastalığı, osteoporoz ve kemik onkolojisinde Pamidronat, Risedronat, Zoledronat, Alendronat ve İbendronat gibi türleri kullanılmaya başlanmıştır (Tianling Chen ve ark. 2002).

2.2.2 Bifosfanatların Kimyasal Yapısı

Bifosfanatlar, kemik mineralizasyonunun endojen düzenleyecileri olan inorganik pirofosfatların stabil karbon analogları ve fosfor-karbon-fosfor yapısı ile karakterizedir. Fosfoanhidrid bağları ile bağlanan iki fosfat grubundan oluşan pirofosfatlardan (P-O-P) farklı olarak, bifosfanatlarda bulunan iki fosfat grubu, oksijen atomu yerine karbon atomuna, fosfo-eter bağları ile bağlanmıştır (P-C-P) Merkezdeki karbona kovalent olarak bağlanmış iki fosfat grubu bulunmaktadır. İki fosfat grubuna ilave olarak, merkezi karbon ayrıca iki yan zincir olan R1 ve R2'ye sahiptir (R: radikal grup). R1 ve R2 grupları merkezi karbon atomuna bağlanmıştır. R1 ile birlikte bulunan fosfonat gruplarının, bifosfanatların kemiğe tutunmalarından sorumludur. R1 zinciri genellikle hidroksil grubundan oluşur. Biyoaktif R2 yapısı ise bifosfanatların kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkisinden sorumludur (Clahisy DR ve ark. 2001; Fromigue O ve ark. 2000).

Uzun R2 biyoaktif yan zinciri ilacın etki şeklini, dayanıklılığını ve etki gücünü belirler. Bifosfanatlar, osteoklastları, R2 yan zincirinin azot içerip içermediğine göre inhibe eder (Barille S ve ark. 1997).

Bifosfanatlar tümörosidal, antirezorptif ve antianjiogenik olmak üzere 3 ana özelliğe sahiptir (Corey E ve ark. 2001).

2.2.3 Bifosfanatların Etki Mekanizması

Bifosfonatlar özellikle aktif remodelasyon olan alanlarda hidroksiapatit kristallerine çok kolay bağlanırlar. Kemik yüzeyinde bağlı oldukları bu alanlardan salınırlar ve osteoklastlar tarafından absorbe edilirler. Osteoklastın hücre içinde kolesterol üreten mevalonat yolunun anahtar enzimlerinden biri olan farnesildifosfatın sentezini inhibe ederler. Bunun sonucunda da osteoklastın kemik rezorpsiyonunu oluşturabilmesi için gereken yüzey özellikleri oluşamaz ve osteoklastik aktivite baskılanmış olur. Bifosfonatlar olgunlaşmış osteoklastlara olduğu gibi olgunlaşmamış ve öncü osteoklast hücrelerinede etki gösterebilirler. Bu sayede kemikte rezorptif aktivite ve buna bağlı olarak yenilenme miktarında azalmaya neden olurlar (Green JR ve ark. 1994).

Bifosfonatların osteoblastlara olan etkisi osteoklastlara olan etkisi kadar iyi açıklanamamıştır.

Aminobifosfonatlar teropatik dozlarda osteoblast diferansiasyonunu ve kemik depoziyonunu stimüle ederler. Yüksek dozlarda ise bifosfonatlar, osteoblastlara sitotoksik etki göstererek apoptozislerine neden olurlar.

Bifosfonatlar tümöral hücrelerde apoptozise neden olarak ve kemikteki tümör hücrelerinin intraselüler matrikse geçmesine engel olarak tümör invazyonunu engellerler. Ayrıca anti-anjiojenik etkileri, metastazı önleyerek anti-tümöral etkilerine katkı sağlamaktadır.

Bifosfonatların endotel hücre proliferasyonunu, adezyonunu ve migrasyonunu bozduğu invitro olarak gösterilmiştir. Bifosfonatlar kemikte yeterli konsantrasyona ulaştıkları zaman kemiğe komşu, kemik yüzeyini örten yumuşak dokuda toksik etki oluştururlar (Cheng ve ark. 2005). Bifosfonatların mevalonat yolundaki farnesildifosfat sentetaz enzimini inhibe etmeleri nedeniyle epitelde oral keratinositlerin apoptozisine neden olmadan hücre proliferasyonu inhibe edilmiş olur. Buna bağlı olarak oral kavitede mukoza bütünlüğü bozulur ve iyileşme gecikir (Soydan S ve ark. 2009).

Bifosfonatlar hidroksiapatitin yapısal olarak bozulmasını engeller. Osteoklastik aktivasyonu baskılar. Hücre çoğalmasını ve adezyonu engeller. Yüksek dozda kullanımı, osteoblastlarda toksik etki yaratır. IL-6, IL-11, TGF- β , IGF-1, VGE-F, PTHr-P gibi mediatörleri bloke ettikleri görülmektedir. Bifosfonatların kullanımlarındaki asıl amaç osteoklastların inhibisyonudur (Ruggiero S ve ark. 2009).

Bifosfonatların kontraendikasyonları ise; bu ilaca aşırı duyarlı olan hastalarda kullanımı endike değildir. Böbreklerden atılımı böbreklerin fonksiyonuna bağlıdır. Glomerüler fitrasyon hızı azaldıkça atılımı azalacağından, böbrek problemi olan hastalarda kullanımı önerilmemektedir.

Bu ilacın gebelik kategorisi C'dir. Gebeler üzerinde kullanılmasıyla ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Özafagal anomaliler ve hipokalsemi durumlarında da kullanımı endike değildir (Zhan F ve ark. 2020).

2.2.4 Bifosfanatların Tümör Karşıtı Özellikleri

Yapılan in vitro çalışmalarda, miyeloma, meme, prostat, pankreas kanserleri ve osteosarkom hücrelerinde bisfosfonatların tümör karşıtı aktiviteleri olduğu, aktif kemik emilimi olan alanlarda yüksek yoğunluklarda biriktiği ve kanser hücresi proliferasyonunu doz bağımlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. (Green JR ve ark. 1994)

Meme kanseri hücre kültürleri ile yapılan çalışmada; klodronat, pamidronat ve zoledronik asitin hücre canlılığı üzerine doz bağımlı etkileri gösterilmiştir (Zimering MB ve ark. 2002; Soydan S. ve ark. 2009; Ruggiero S ve ark. 2009). Zoledronik asit ile yapılan bir çalışmada, miyeloma hücrelerinde apoptozisi, kemik iliği stromal hücrelerinden büyüme faktörü salınımının inhibe ederek artırdığı gösterilmiştir (Zhan F ve ark. 2020). Zoledronik asit, aynı zamanda interstisyel kollajenaz (matriks metalloproteinaz-1) regülasyonunu da inhibe ederek, kemik remodelizasyonu ve kemiğe tümör invazyonunu engellemiştir. In vitro yapılan bu çalışmalar, birçok in vivo çalışma ile desteklenmiştir (Pappalos SE ve ark. 1988). Yaccoby ve ark., yaptıkları çalışmada, miyelom ile oluşan osteolitik lezyonlarda zoledronik asit ve pamidronatın tümör yayılımını azalttığı ve apoptozisi artırdığını bulmuşlardır (Yaccoby S. ve ark. 2002).

İbandronatın, farelerde meme kanseri modelinde osteolitik metastazların ilerlemesini azalttığı radyolojik olarak saptanmıştır; aynı zamanda, iskelet ilişkili olayları azaltarak osteoklast apoptozisine neden olduğu da elde edilen bulgular arasındadır (Peyruchaud O ve ark. 2001). Zoledronik asidin ise, mevcut kemik lezyonlarının regresyonunu engellemek amacıyla yanında, yeni lezyon ortaya çıkmasını da engellediği kontrollü hayvan çalışmaları ile kanıtlanmıştır (Tianling Chen ve ark. 2002). Çoğu hayvan çalışmasında, bisfosfonatların tümör karşıtı etkilerinin kemik metastazları ile sınırlı olduğu gösterilmekle birlikte; murine singenetik 4T1 fare meme kanseri modelinde, nitrojen içeren bisfosfonatların visseral metastazlarda da etkili olduğu ortaya konulmuştur (Nabuyuki H ve ark. 2001). Zoledronik asit kullanımı ile, sadece kemikteki değil, karaciğer ve akciğer metastazlarındaki tümör yükünün azaldığı da gösterilmiştir (Tianling Chen ve ark. 2002). Zoledronik asidin radyolojik olarak saptanan iskelet metastazı sayısını azalttığı ve serum prostata özgü antijen değerlerini düşürdüğü, alendronatın ise prostat kanserinde akciğer nodüllerinin sayısında ciddi azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Virtanen SS ve ark. 2002; Santini D. ve ark. 2002).

Bisfosfonatlar, tümör hücrelerine toksik olduğu kadar; tümör hücrelerinin kemik mikro- çevresinde tutunmasını ve büyümesini, osteoklast sayısı ve aktivitesini azaltarak ve osteoklast öncüllerinin kemik içine göç etmelerini engelleyerek durdurmaktadır (Ashcroft ve ark.2003; Santini D ve ark.2002).

Pamidronat ve zoledronik asidin düşük yoğunluklarının, osteoblastlardan osteoprotegerin (OPG) üretimini artırarak nükleer faktör- kappa B ligand reseptör aktivitesinin (RANKL) osteoklastik aktivitesini antagonize ettiği ortaya konmuştur. OPG'nin regülasyonu matür osteoklast sayısını ve tümör hücresi proliferasyonunu azaltmaktadır.

Hem nitrojen içeren hem de ilk kuşak bisfosfonatların, kaspazların aktivasyonu ile tümör hücrelerinde ve osteoklastlarda apoptozisi aktive ettiği bilinmektedir (Fromigue O ve ark.2000; Barille S ve ark. 1997). Zoledronik asitle yapılan bir çalışmada, meme kanseri hücrelerinde apoptozisi; sitokrom-C salınımı ve kaspaz-3 aktivasyonu ile artırdığı gösterilmiştir (Senarotre SG ve ark. 2000; Peyruchaud O ve ark. 2001). Aynı zamanda kilit bir anti-apoptotik regülatuar protein olan Bcl-2 (B hücreli lenfoma 2) ekspresyonunda artış ile, hücre canlılığının azaldığı kanıtlanmıştır (Senarotre SG ve ark. 2002). Bisfosfonatların osteoklast aktivitesini inhibe etmesi ile, ekstrasellüler kemik matriksi tümör hücrelerinin adhezyonu ve invazyonu için daha zor bir hale gelmektedir. Boissier ve ark., meme ve prostat kanser hücre kültürlerinde ekstrasellüler matriksi invazyon etkilerinin bisfosfonatlar ile inhibe edildiğini göstermişlerdir.

Alendronatın da prostat kanser hücrelerinde benzer şekilde etki ettiği ve etkilerinin mevalonat yolu ürünleri olan geranilgeraniol ve trans-trans-farnesol eklenerek geri döndürüldüğü bilinmektedir (Virtanen SS ve ark.2002).

Yapılan hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda, bisfosfonatların anti-anjiyojenik etkileri olduğu gösterilmiştir (Corev E ve ark.2001).

Zoledronik asidin basic fibroblast growthfactor (bFGF) tarafından uyarılan anjiyogenezi doz bağımlı olarak inhibe ettiği ve murine miyelom modelinde endotel hücrelerinin kapiller benzeri tübül oluşturma özelliklerini yok ettiği gösterilmiştir (Grenn JR ve ark. 1994).

Kemik metastazı olan kanser hastalarında, pamidronat tedavisinin serum VEGF (vascular endothelial growth factor) düzeylerini azalttığı saptanmıştır (Santini D ve ark. 2002).

Kemik metastazlarında kemik emilimi sırasında bFGF düzeylerinin arttığı ve bisfosfonat kullanımı ile bu düzeylerin ve anjiyogenezin azaldığı bilinmektedir (Zimening MB ve ark. 2002).

Nitrojen içeren bisfosfonatların, farklı immünmodülatör etkileri gösterilmiştir. Bu ilaçların kullanılması, akut faz reaksiyonunu tetikler ve dolaşımdaki lenfositleri ve antijen sunan hücreleri etkiler. Bunların, bu hücrelerden inflamatuvar sitokin salınımının artmasında, özgül gamma/delta T hücrelerin proliferasyonunun uyarılmasında ve bu hücrelerin tümör hücrelerine sitotoksik özelliklerinin artmasında etkili olduğu gösterilmiştir (Pappapolos SE ve ark. 1988).

2.2.5 Bifosfanatların Türleri

Günümüzde bifosfanatlar moleküler mekanizmalarına göre nitrojen içeren ve içermeyenler olarak sınıflandırılmaktadır (Cheng ve ark. 2005; Flichy-Fernandez A ve ark. 2009).

2.2.5.1 Nitrojen İçeren Bifosfonatlar

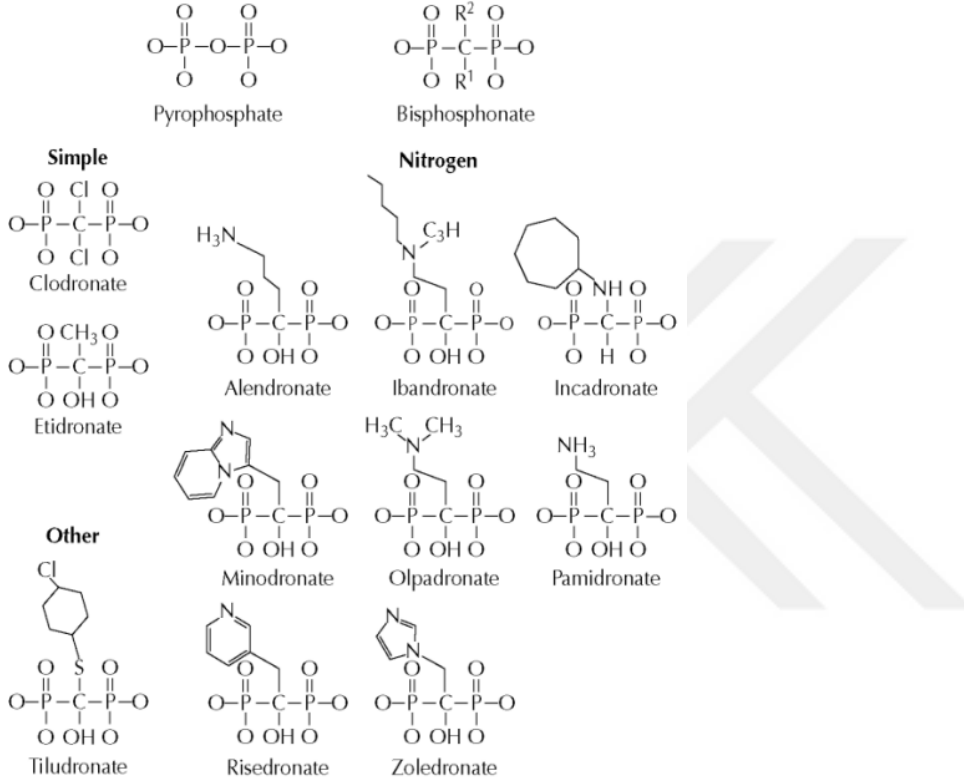
Azotlu bifosfanatlar, azot içermeyen bifosfanatlara göre daha güçlü olduklarından dolayı, osteoklastlar üzerinde çeşitli etkileri vardır. İlk olarak azot barındırmayan bifosfanatlardaki gibi ATP'yi etkisiz hale getirirler. Osteoklastın hücre içi iskelet yapısını bozarlar, osteoklastın iyileştirme şeklini bozar. Sonunda ise osteoklast önleyici faktörlerin üretimi için osteoblastları uyarır (Otomo-corgel ve ark. 2007; Brozoski MA ve ark. 2012).

Kimyasal yapısında tek bir nitrojen atomu içeren, 2. Jenerasyon bifosfanat olarak kabul edilenler alendronate ve pamidronate'dir. (Marx ve ark. 2009; Russell RGG ve ark. 2014) Kimyasal olarak daha karmaşık yapılı olup daha potent olan bifosfanatlar ise 3. Jenerasyon olarak isimlendirilip bunlar; risedronate, zolendronate ve ibandronate'dir (Şekil1). Zolendronate iki nitrojen atomu içeren beş üyeli imidazol halka yapısına sahiptir (Green JR ve ark. 2002; Sato M ve ark. 1991)(şekil2).

2.2.5.2 Nitrojen İçermeyenler

Nitrojen içermeyen bifosfanatlar 1. Jenerasyon bifosfanatlar olarak bilinirler. Kimyasal yapılarında merkezi karbon atomuna bağlanan basit zincirlerden (medronat, klodronat, etidronate) veya klorofenil grubu içeren zincirlerden oluşurlar (şekil1). Disfosfonatlar (azot içermeyen bifosfanatlar), hücre içinde, hücresel enerji

metabolizmasında adenosine trifosfat (ATP) ile rekabet eden, fonksiyonel olmayan bir molekül oluşturan ATP'nin terminal pirofosfat kısmını değiştiren bileşiklere metabolize edilir. Osteoklast apoptozu başlatır ve ölür, bu da kemik parçalanmasında genel bir azalmaya yol açar. Etkinliği oldukça düşük olan bifosfanatlardandır. Bu türden olan bifosfanatlar, nitrojen içeren gruptan daha olumsuz etkilere sahip olup, çok daha az reçete edilirler (Senaratne SG ve ark. 2000; Giuliani N ve ark. 1998).



Şekil 1: Nitrojen içeren ve nitrojen içermeyen bifosfanatların kimyasal yapıları
(Akdeniz Üniversitesi, Diş Hekimliği Uzmanlık Tezi, Özalp Ozgur)

2.2.5.1a Zoledronik Asit

Zoledronat (ZA) olarak da bilinen zoledronik asit, bir dizi kemik hastalığını tedavi etmek için kullanılan bir ilaçtır. Son yapılan klinik çalışmaları göstermiştir ki; ZA, tümör hücreleri arasındaki adhezyonu doğrudan inhibe edebilir (Papapolos SE ve ark. 1988; Tanvetyanon T ve ark. 2006).

ZA, meme kanserinde, prostat kanserinde, lösemide, osteosarkom tedavilerinde kullanılmaktadır (Yaccoby S ve ark. 2002; Peyruchaud o ve ark. 2001). Zoledronik asit infüzyonu sonrasında vücutta ilacın plazma konsantrasyonları hızla artmakta, infüzyon periyodunun sonunda doruk düzeyine ulaşmakta, ardından 4 saat sonra doruk düzeyinin <% 10'una ve 24 saat sonra da <% 1'ine incek şekilde hızlı bir düşüş göstermektedir. Daha sonra, 28. günde ikinci ilaç infüzyonu uygulanıncıya kadar doruk düzeyinin %0.1'ini aşmayacak şekilde oldukça düşük bir konsantrasyonda uzun bir periyod oluşmaktadır

(Virtanen SS ve ark. 2002). İlacın belli periodlarda, tekrarlanan dozlarından sonra ilaç birikimi olmamaktadır. Zoledronik asit değişikliğe uğramadan, metabolize olmadan böbrekten atılır.

Bifosfanatların kandaki biyolojik yarı ömürleri oldukça kısadır. Kemik dokusundaki yarı ömürleri ise yıllarla ifade edilicek kadar uzundur.

Bu ilacın infüzyonundan kısa bir süre sonra kemikteki birikiminin, kandaki plazmada birikiminden 100 kat daha fazla olduğu görülmüştür (Santini D ve ark. 2002).

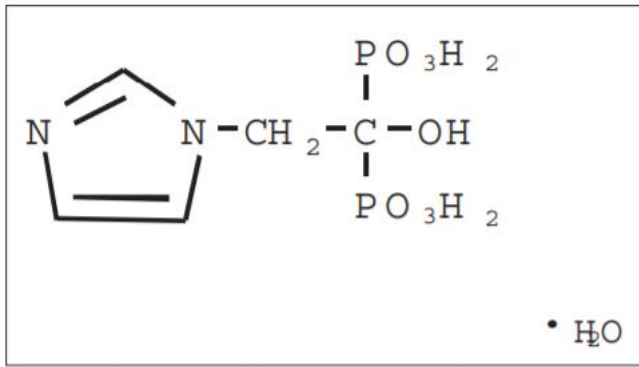


Figure 1. Chemical structure of zoledronic acid.

Şekil 2: Zoledronik asidin kimyasal yapısı

(Akdeniz Üniversitesi, Diş Hekimliği Uzmanlık Tezi, Özalp Oznur)

2.2.6 Bifosfanatların Yan Etkileri

Bisfosfonatlar genellikle iyi tolere edilir. En sık yan etkileri döküntü, ateş, kemik ağrısı ve yorgunluk ile ortaya çıkan akut faz reaksiyonudur ve bu etkiler kısa sürede kaybolur.

Kalsiyum başta olmak üzere, magnezyum ve fosfor serum iyon değerlerinde değişiklikler görülebilir; doz ve infüzyon hızına bağlı olarak, renal fonksiyonlarda bozulmaya neden olabilir. Ağız hijyeni kötü hastalarda, özellikle nitrojen içeren bisfosfonat kullanımı ile çene osteonekrozu ve uzamış tedavilerde, bisfosfonatlara bağlı yetmezlik kırıkları karşımıza çıkabilir (Marx ve ark. 2009; Von Moss R ve ark. 2019).

Anti vasküler endotelial büyüme faktörü olan ilaçlardan olan bifosfanatların çenelerde osteonekroza sebep olduğu bildirilmiştir. Farklı ilaçların ortak yan etkisinden dolayı bu durum Amerikan Ağız ve Çene-Yüz Cerrahları Birliği'ne göre ilaç ile alakalı çenelerin osteonekrozu (MRONJ) olarak ifade edilmiştir (Ruggiero SL ve ark. 2014).

Amerikan Ağız ve Çene-Yüz Cerrahları Birliği'ne göre aşağıda belirtilen kriterlerin tümü karşılandığında MRONJ teşhisi konulur.

- Bifosfanat kullanımı öyküsü olması veya aktif olarak kullanıyor olması
- Maksilofasiyal bölgede 8 haftadan uzun süredir dış ortamla temasta ekspozе kemik
- Baş- boyun bölgesinde radyoterapi görülmemiş olması

2.2.7 Bifosfanatların Klinik Uygulaması

Kemik kırılганlığını azaltmak amacıyla, osteogenezis imperfektalı çocuklarda ve Gaucher Sendromunun kemik lezyonlarının tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır. Kemik mineral yoğunluğunu arttırmak için postmenapozal dönemde kadınlarda osteoporoz tedavisinde önemli bir yere sahiptir ve osteoporoza bağlı oluşan kemik kırıklarını azalttığı için son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Perez-Lopez ve ark. 2004). Multiple myeloma'da osteoklastik aktivitenin tetiklemesi sonucu oluşan iskeletsel komplikasyonları engellemeye yönelik kullanılmaktadır (Ashcroft ve ark. 2003). Paget's hastalığında artan osteoklast sayısını azaltmak adına sıklıkla tedavisinde tercih edilir. Fibröz displazi, heteretropik osifikasyonlar, ankilozan spondilit gibi kemikle ilgili hastalıkların tedavisinde de tercih edilmektedir (Russell ve ark. 2009). Göğüs, prostat ve akciğer gibi kemiğe metastaz olası olan kanserlerin tedavisinde anti-tümöral etkisi nedeniyle kullanılmaktadır (Tianling Chen ve ark. 2002). Malign tümörlerle ilişkili hiperkalsemi tedavisinde, hiperkalsemiyi azaltmak için yoğun şekilde kullanılmaktadırlar (Zimeninnig MB ve ark. 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında in-vivo kısmı İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Laboratuvarı'nda, histopatolojik değerlendirmeleri ise İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Onkoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışması için için, T.C. İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan 25.09.2020 tarihinde, 2020/26 no'lu sayı ile etik kurul onayı alınmıştır.

3.1 Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda örnek sayısı G*Power programı kullanılarak yapılan Power analizi sonucu, ilacın verilmesine göre oluşan ZA alan deney grubu ve SF alan kontrol grubu değişimlerinin kıyaslamalarındaki ortalamalar dikkate alınarak, %95 ve %5 Tip1 hata payı ile her bir grup için örneklem sayısı minimum n=15 hayvan olarak saptanmıştır. Sprague-Dawley cinsi, erkek sıçanlar kullanılmıştır. Deney hayvanları 21 celsius derece oda sıcaklığında, %60 nem oranında, polikarbon şeffaf kafeslerde, her kafeste 2 sıçan olacak şekilde barındırılmıştır. Her bir kafeste libitum pelet yem ve taze, temiz çeşme suyu bulunacak şekilde hayvanların yaşam koşulları sağlanmıştır.

Çalışmamızda; 15 kontrol ve 15 deney grubu olmak üzere toplamda 30 adet sıçan dahil edilecek şekilde çalışma yürütülmüştür. Deney başlangıcında tüm sıçanlara, anestezi altında, sağ üst 1. molar dişlerinin etrafına 5.0 ipek dikiş yerleştirilmiştir. Dikişlerin yerleştirilmesinden sonra periodontal dokularda iltihapsal değişikliklerin oluşması için 3 hafta beklenmiştir. Periodontal iltihabın varlığı sondalamada kanama ölçümü ile değerlendirilmiştir. 21. günde hayvanlarda deneysel periodontitis klinik bulguları gözlemlendikten sonra deney grubundaki hayvanlara kas içi 7.5uq/kg zoledronik asit 6 hafta boyunca haftada bir kez olacak şekilde enjekte edilmiştir. Kontrol grubundaki hayvanlara ise 6 hafta boyunca haftada bir kez olacak şekilde %0.9 serum fizyolojik enjekte edilmiştir (tablo2).

Deney grubu içerisinde sağ üst molar bölge periodontitisli olup, sol üst birinci molar diş bölgesi sağlıklı periodonsiyuma sahiptir. Kontrol grubu içerisinde sağ üst molar diş bölge periodontitisli olup, sol üst birinci molar bölge sağlıklı periodonsiyuma sahiptir. Deney ve kontrol gruplarındaki hayvanların üst çene sağ birinci büyük azı dişlerinde deneysel periodontitis oluşturulmuş olup karşı taraf aynı dişleri ise sağlıklı periodonsiyum olarak kullanılmıştır. Detaylar şekil 3, şekil 4, şekil 5'te gösterilmiştir. Deney sürecinde takip edilen çizelge tablo 2'de belirtilmiştir.

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında zoledronik asidin sıçanlara verilecek dozunun, izotonik serum fizyolojikle, ne kadar seyreltilmesi gerektiği hesaplanmıştır. Zoledronik asitin, serum fizyolojikle seyreltilmesi, İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nde, microtest laboratuvar

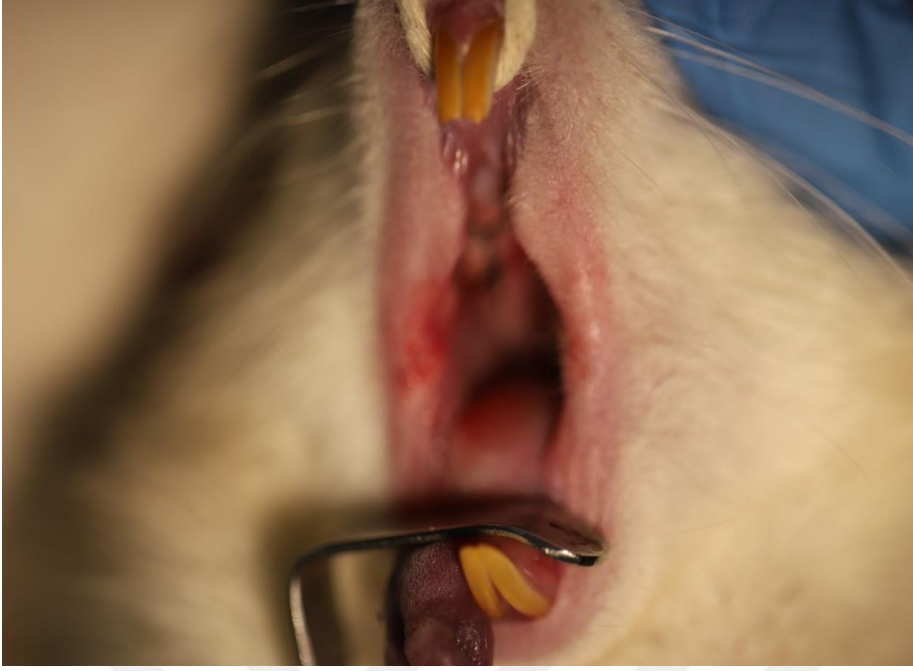
kabininde, steril bir ortamda, gerçekleştirilmiştir. Ortalama 400gr ağırlığındaki sıçanın, 1 cc'lik enjeksiyonlardan alacağı ilaç 0.375ml'dir.

Tüm deney hayvanlarına 6 hafta boyunca 0., 7., 14., 21., 28., ve 35. günlerde; kas içi ilaç verilmiştir. Son ilaç enjeksiyonları tamamlanan deney ve kontrol grubundaki hayvanların dikişleri anestezi altında kaldırılmıştır. Periodontal dokulardaki iltihapsal değişikliklerin normale dönmesi için 7 gün beklenmiştir. Bu iyileşme için beklenen sürede de zoledronik asit vermeye devam edilmiştir. Sonrasında ise tüm hayvanlar sakrifiye edilmiştir (tablo 2).

Sakrifikasyondan sonra tüm hayvanların üst çeneleri rezeke edilip, formaldehit solüsyonunda,1 hafta kadar bekletildikten sonra İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Onkoloji Anabilimdalı'na, histopatolojik inceleme için nakledilmiştir.



Şekil 3: Anestezi verildikten sonra sıçanın ameliyat masasına yerleştirilmesi.



Şekil 4: Üst çenedeki büyük azı dişlerini görmek için dilin ve kesici dişlerin ekarte edilmesi.



Şekil 5: Deneysel periodontitis oluşturulması amacıyla, 5.0 ipek dikişin sağ üst çenede 1.molar dişin etrafına düğümlenerek, mikrobiyal dental plak için retansiyon alanı oluşturulması.

Tablo 1: Çalışma gruplarında yapılan uygulamalar.

GRUP	SİSTEMİK UYGULAMA	LOKAL UYGULAMA	KISALTMA
Deney	Zoledronik Asit	Deneysel Periodontitis(sağ üst)	DDP
		Sağlıklı Periodonsiyum(sol üst)	DSP
Kontrol	Serum Fizyolojik	Deneysel Periodontitis(sağ üst)	KDP
		Sağlıklı Periodonsiyum(sol üst)	KSP

Tablo 2: Deney ve kontrol gruplarında uygulanan çalışma planı.

GÜN	DENEY(DSP/DDP)	KONTROL(KSP/KDP)
0	İpek dikiş yerleştirme (sağ üst 1. molar)	İpek dikiş yerleştirme (sağ üst 1. Molar)
21	ZA enjeksiyonu	SF enjeksiyonu
28	ZA enjeksiyonu	SF enjeksiyonu
35	ZA enjeksiyonu	SF enjeksiyonu
42	ZA enjeksiyonu	SF enjeksiyonu
49	ZA enjeksiyonu	SF enjeksiyonu
56	ZA enjeksiyonu	SF enjeksiyonu
63	İpek dikişin çıkarılması (sağ üst 1. molar)	İpek dikişin çıkarılması (sağ üst 1. molar)
70	Sakrifikasyon	Sakrifikasyon

3.2 Deney Materyalleri

In-vivo deneyin gerçekleştirilmesinde; Sprague- Dawley cinsi 14 haftalık 350₋/+50 gr ağırlığında yetişkin erkek sıçan, ketelar flakon (Ketamine HCL, Pfizer), xylazin bio %2 flakon (xylazine hydrochloride, Bayer), bonedro flakon (zoledronik Asit, vem ilaç), Serum Fizyolojik, 3.0, 5.0 ipek dikiş (Doğsan), standart insülin enjektörleri, formaldehit (%10), presel, castroviejo portegü, avuç içi portegü, williams periodondal sond, doku pensu, dişli penset, parabef ekartör, küçük makas, pamuk kullanılmıştır.

3.2.1 Histoloji

Sakrifikasyondan sonra üst çeneler rezeke edilmiş, alınan parçalar 2 hafta süreyle %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonunda fikse edilmiştir. Fiksasyonun ardından %20 sodyum sitrat ve %50 formik asit karışımlarından hazırlanan solüsyonda dekalsifiye edilmiştir.

Bu işlemin ardından tüm çenelerden molar dişlerin vestibül yüzeylerinden sert damağın ortasından geçen sagital kesitler alınarak parçaların diseksiyonu yapılmıştır. Vestibül yüzler kesit yüzeyine gelecek biçimde yatırılarak hazırlanan parafin bloklardan

elde edilen 3 mikron kalınlığındaki kesitler hematoxilen-eozin ile boyanıp ışık mikroskobunda incelenmiştir.

Tablo 3: Histolojik kesitlerin iltihap, nekroz ve epitel proliferasyonu açısından değerlendirilmesi.

Seviye	İltihap	Nekroz	Epitel Proliferasyonu
0	yok	yok	epitel mine sement sınırında
1	hafif	var	Epitel mine sement sınırının altında kökün 1/3 koronalinde
2	orta	var	Epitel kök hizasının koronal 1/3'ünden daha aşağıda
3	mikroapse oluşumu	var	Furkasyon bölgesinde epitel varlığı

3.2.2 İstatiksel Analiz

Veriler IBM SPSS V23 istatistik bilgisayar programı kullanılarak analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk Testi ile incelendi. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen verilerde gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Testi ile yapıldı ve çoklu karşılaştırmalar Dunn Testi ile incelendi. Kategorik verilerde gruplar arası karşılaştırmalar Pearson Ki Kare Testi ile yapıldı ve çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Z testi ile incelendi. Kategorik veriler için sonuçlar frekans (yüzde) şeklinde sunuldu. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

Hematoksilen-eozin ile boyanan kesitler, ışık mikroskopunda incelenmiş olup aşağıda belirtilmiştir.

Histopatolojik Bulgular

4.1 Periodontal Dokulardaki İltihasal Değişime Ait Bulgular

Tablo 4: Histolojik Bulgular-İltihap

İltihaplanma	KDP	KSP	DDP	DSP	Toplam	p
Yok	6 (40)a	15(100)b	5 (33,3)a	15 (100)b	41 (68,3)	<0,001*
Hafif	9 (60)a	0 (0)b	8 (53,3)a	0 (0)b	17 (28,3)	
Orta	0 (0)a	0 (0)a	2 (13,3)a	0 (0)a	2 (3,3)	

*Pearson Ki-Kare Testi; a-b: Her bir satır içerisinde aynı harfe sahip gruplar arasında anlamlı fark yoktur, frekans (yüzde)

Gruplar arasında periodondal dokulardaki iltihapsal değişikliklerin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$). KDP grubunda altı sıçanda iltihapsal değişiklik gözlenmezken, dokuz sıçanda hafif iltihapsal değişiklik görülmektedir. KSP grubunda patolojik kesitlerde iltihapsal değişikliğe yol açmamıştır. DDP grubunda beş sıçanda iltihapsal değişiklik yok, 8 sıçanda hafif iltihaplanma ve iki sıçanda orta iltihaplanma tespit edilmiştir. DSP grubunda periodontal dokularda iltihapsal değişikliğe ratlanmamıştır (Tablo 4).

4.2 Periodontal Dokulardaki Epitel Proliferasyonu Değerlendirmesine Ait Bulgular

Tablo 5: Histolojik Bulgular- Epitel Proliferasyonu

Epitel proliferasyonu	KDP	KSP	DDP	DSP	Toplam	P
Yok	11 (73,3)abc	15 (100)c	5 (33,3)b	15 (100)ac	46 (76,7)	<0,001
Hafif	4 (26,7)a	0 (0)a	5 (33,3)a	0 (0)a	9 (15)	
Orta	0 (0)a	0 (0)a	2 (13,3)a	0 (0)a	2 (3,3)	
Ağır	0 (0)a	0 (0)a	3 (20)a	0 (0)a	3 (5)	

*Pearson Ki-Kare Testi; Aynı harfe sahip grupların dağılımları arasında anlamlı fark yoktur, frekans (yüzde)

Guplar arasında epitel proliferasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır ($p < 0,001$). KDP grubunda dört sıçanda hafif epitel proliferasyonu tespit edilmiştir. DDP grubunda beş sıçanda hafif epitel proliferasyon, iki sıçanda orta epitel proliferasyon ve üç sıçanda patolojik kesitlerde ağır epitel proliferasyonu tespit edilmiştir. (Tablo 5) KSP ve DSP gruplarındaki patolojik kesitlerde epitel proliferasyonuna rastlanmamıştır.

4.3 Periodontal Dokulardaki Nekroz Oluşumunun Değerlendirilmesine Ait Bulgular

Tablo 6: Histolojik Bulgular-Nekroz

Nekroz	KDP	KSP	DDP	DSP	Toplam	p
Yok	15 (100)a	15 (100)a	8 (53,3)b	15 (100)a	53 (88,3)	0,001*
Hafif	0 (0)a	0 (0)a	6 (40)b	0 (0)a	6 (10)	
Orta	0 (0)a	0 (0)a	1 (6,7)a	0 (0)a	1 (1,7)	

*Pearson Ki-Kare Testi; a-b: Her bir satır içerisinde aynı harfe sahip gruplar arasında anlamlı fark yoktur, frekans (yüzde)

Gruplar arasında periodontal dokularda yalnız DDP grubunda nekroz görülmüş olup, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,001$). DDP grubunda 8 sıçandaki patolojik kesitlerde nekroza rastlanmazken, 6 sıçanda hafif nekroz ve 1 sıçanda ise orta şiddette nekroza rastlanmıştır.

4.4 Periodontal Ligamanın Aralığının İncelenmesine Ait Bulgular

Tablo 7: Histolojik Bulgular-Periodontal Aralık

Grup	n	Ortalama(mm)	Standart Sapma (mm)	Medyan (mm)	Min. (mm)	Max. (mm)	p
KDP	15	0,1227	0,0212	0,13	0,09	0,16	<0,001*
KSP	15	0,07	0,0169	0,07	0,04	0,1	
DDP	15	1,0227	3,31348	0,17	0,14	13	
DSP	15	0,0953	0,1125	0,07	0,05	0,5	
Total	60	0,3277	1,66508	0,095	0,04	13	

*Kruskal Wallis Testi Sonuçları

KSP grubu periodontal ligaman ortanca değeri DDP grubu ortanca değerinden daha düşük elde edilmiştir. KSP grubu periodontal aralık ortanca değeri ile DDP grubu periodontal aralık ortanca değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p<0,001$)

DSP grubu periodontal ligaman ortanca değeri ile DDP grubu periodontal ligaman ortanca değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p<0,001$) DSP grubu periodontal ligaman ortanca değeri DDP grubu ortanca değerinden daha düşük elde edilmiştir.

KSP grubu periodontal ligaman ortanca değeri ile KDP grubu periodontal ligaman ortanca değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. ($p=0,006$) KSP grubu periodontal ligaman ortanca değeri KDP grubu ortanca değerinden daha düşük elde edilmiştir.

DSP grubu periodontal ligaman ortanca değeri ile KDP grubu periodontal ligaman ortanca değeri arasında istatikselsel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,009$). DSP grubu periodontal ligaman ortanca değeri KDP grubu ortanca değerinden daha düşük elde edilmiştir. Diğer grupların ortanca değerleri arasında istatikselsel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (tablo 7).

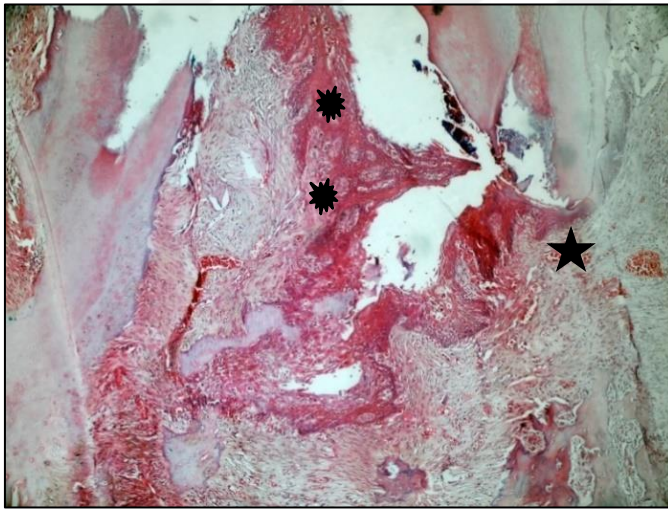
Histolojik sonuçlar, iltihap, periodontal aralık, nekroz ve epitel proliferasyonu açısından değerlendirilmiştir. İltihap açısından sonuçlar değerlendirildiğinde sistemik ZA verilmeyip, periodontitis oluşturulan KDP grubu, sistemik ZA alıp periodontitis oluşturulan DDP grubuna göre iltihap miktarı anlamlı olarak daha düşüktür.

Periodontal dokulardaki nekroz varlığı açısından değerlendirme yapıldığında; sistemik ZA verilmeyip periodontitis oluşturulan KDP grubunda, sistemik ZA verilip periodontitis oluşturulan DDP grubuna göre nekroz miktarı anlamlı olarak daha düşüktür. Bu durum epitel proliferasyonu açısından da anlamlılık göstermektedir.

ZA verilip periodontitis oluşturulan DDP grubundaki epitel proliferasyon varlığı, ZA verilmeyip periodontitis oluşturulan KDP grubuna göre anlamlı olarak daha fazladır.

4.5 Zoledronik Asit Grubu

4.5.1 ZA- Deneysel Periodontitis Grup (DPP)



Şekil 6: DDP (deney grubu deneysel periodontitis) grubuna ait histopatolojik görüntüde nekrotik kemik fragmanları görülmektedir. (H&EX100)

(Yıldız: çok katlı yassı epitel, Asterisk: nekrotik kemik)

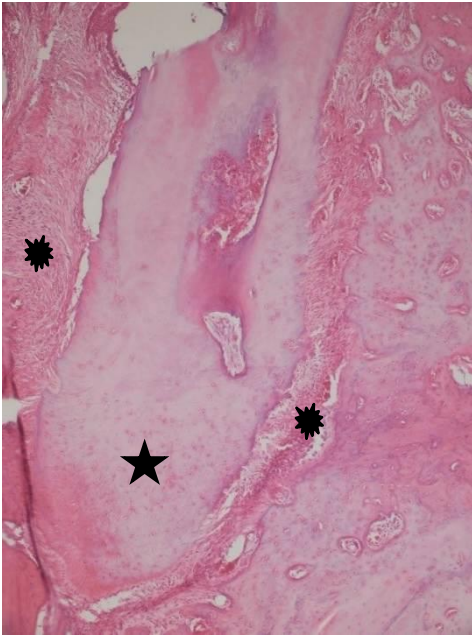
Deney hayvanlarında zoledronik asit verilip, ligatür uygulanan birinci molar dişlerin yüzde 46.7'sinde bir ve ya daha fazla alanda nekrotik kemiğe rastlanmıştır. Deneysel periodontitis varlığında zoledronik asit kullanılan deneklerde epitel proliferasyonu, periodontal sağlıklı gruplara göre istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur.

Bu gruptaki deneklerin ligatüre edilen sağ üst 1. Molar dişlerinde nekrotik alanlara ve boş lakünlü kemik lamellerine rastlanılmıştır. Deneysel periodontitisa varlığında ZA kullanımı, SF kullanımına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede nekroz oluşturmuştur ($p=0,001$).

Deneysel periodontitis varlığında ZA kullanımı ve SF kullanımı arasında epitel proliferasyonu açısından anlamlı fark görülmektedir ($p<0,001$).

Deneysel periodontitis varlığında ZA kullanımı ve SF kullanımı arasında iltihaplanma durumu dağılımı açısından anlamlı derecede fark mevcuttur ($p<0,001$).

4.5.2 ZA- Periodontal Sağlıklı Grup(DSP)



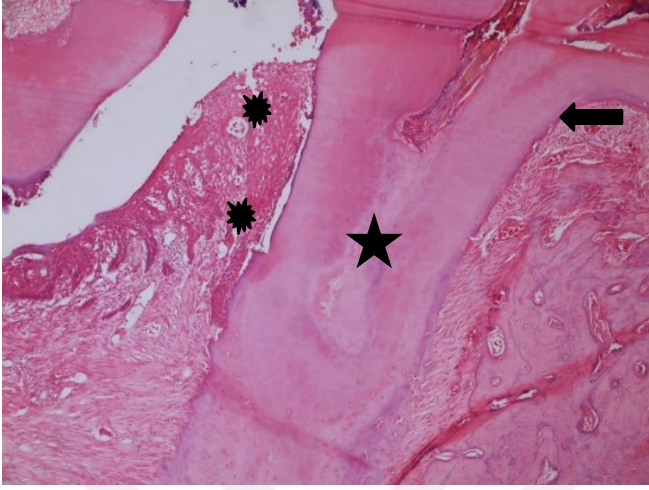
Şekil 7: DSP (deney grubu sağlıklı periodonsiyum) grubuna ait histopatolojik görüntüde normal fizyolojik görünümde diş kökleri ve periodontal dokular görülmektedir (H&EX100)

(yıldız: diş kökü, asteriks: periodontal aralık)

Bu gruptaki deneklerin birinci molar diş kökleri ve çevresinde nekrotik kemik varlığına hiç rastlanmamıştır. Birinci molar diş kökleri çevresinde epitel proliferasyonuna hiç rastlanmamıştır. Birinci molar diş kökleri etrafındaki periodontal dokularda iltihapsal değişiklik mevcut değildir.

4.6 Serum Fizyolojik Grubu

4.6.1 Serum Fizyolojik- Deneysel Periodontitis Grup (KDP)



Şekil 8: KDP(kontrol grubu deneysel periodontitis) grubuna ait histopatolojik görüntü (H&EX100)

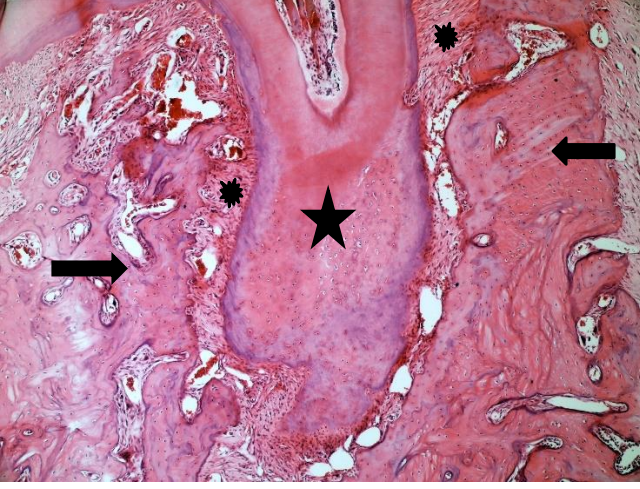
(asteriks :cep epiteli, yıldız: diş kökü , siyah ok: alveol kreti)

Bu gruptaki 15 denekten hiçbirinde nekroza rastlanmamıştır. Bu grupta iltihapsal infiltrasyonu yüzde 60 oranındadır.

SF verilen deneklerde epitel proliferasyonu açısından, periodontal olarak sağlıklı olan ve periodontal olarak problemlili olan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmektedir ($p < 0,001$). Bu da ligatür uygulaması yapılan dişlerde periodontal enflamasyonun anlamlı derecede geliştiğini göstermektedir.

SF verilen gruplardan, deneysel periodontitisli olan ve SF kullanılan gruplardan periodontal sağlıklı olan gruba göre istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.

4.6.2 Serum Fizyolojik- Periodontal Sağlıklı Grup



Şekil 9: KSP (kontrol grubu sağlıklı periodonsiyum) grubuna ait histopatolojik görüntüde doğal yapıda diş kökleri ve çevresinde sağlıklı periodontal dokular görülmektedir. (H&EX100) (yıldız: diş kökü, kalın ok: alveol kemiği, asteriks: periodontal aralık)

Bu gruptaki deneklerin hiç birinde nekrotik kemiğe rastlanmamıştır. Bu grupta iltihap infiltrasyonu bulunmamaktadır.

5.TARTIŞMA

Periodontitis, mikrobiyal dental plakla başlatılan, dişlerin çevresindeki yumuşak dokuya zarar veren ve eğer tedavi edilmezse bireyin dişlerini destekleyen; periodontal ligament, alveol kemiği, sementte yıkımla sonuçlanan, kronik ciddi bir diş eti enfeksiyonudur. Kendiliğinden gelişen osteonekroz vakaları için ciddi bir risk faktörüdür. Periodontitis, dünya genelinde görülen en sık 6. hastalıktır. Amerika'da genç popülasyonun yüzde 47'si bu hastalığa sahiptir (Richards ve ark. 2014; Kassebaum ve ark. 2014; Eke ve ark. 2012). Bu durum çenede osteonekroz oluşumunu tetikleyen temel faktörlerden biridir (Tihumbigere-math V ve ark. 2014; Kang b ve ark. 2013).

Bifosfanatlar pirofosfat analoglarıdır ve kemik hidroksiapatitine güçlü bir şekilde bağlanır. Bifosfanatlar, osteoklast aktivitesini bozarak kemik yıkımını önleyen ajanlardır. BP'lerin P-C-P yapısı hidrolize edilemez, tekrarlanan uygulamalarda kemiklerde birikirler. Kemik erimesi sırasında, BP'ler osteoklastlara alınır ve sitotoksikite sergileyerek uzun süreli kemik rezorpsiyonunu önleyici bir etki oluşturur. BP'ler, nitrojen içeren BP'ler (N-BP'ler) ve nitrojen içermeyen BP'ler (N-BP'ler olmayanlar) olarak ikiye ayrılır. N-BP'ler çok daha güçlü bir etkiye sahiptir ve daha potent özelliktedir. N-BP'lerden daha etkilidir. Bifosfanata bağlı osteonekroz görülmesi genelde nitrojen içeren bifosfanat kullanan hastalarda görülmektedir. Randomize, prospektif insan çalışmaları yüksek doz ve uzun süreli zoledronik asit kullanımının MRONJ riskini arttırdığı bilinmektedir (Coleman ve ark. 2011; Rathbone EJ ve ark.). MRONJ'un çenedeki lokasyonu oldukça önem taşımaktadır.

2003 yılında ilk defa Marx, pamidronik asit ve zoledronik asit alan 36 hastanın, sonrasında gelişen çene osteonekrozunu raporlamışlardır.

Hastaların mandibulada ya da maxillada ya da her ikisinde kemik yüzeyinin açığa çıkması ve şiddetli ağrıyla karakterize bulgular mevcuttur (Marx ve ark. 2003; Migliorati ve ark. 2003).

Bifosfanat tedavisi geçirmiş ya da geçiren hastalarda görülen, yıkıcı bir etkiye sahip bifosfanata bağlı çene nekrozu ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (Jabbour Z ve ark. 2014; Song M ve ark. 2016). Amerikan Ağız ve Çene Yüz Cerrahları Derneği'nden (AAOMS) verilen bilgilere göre; osteonekrozun klinik bulguları baş boyun bölgesinden radyasyon tedavisi almamış olan, çenelere metastaz yapan bir malignite öyküsü olmayan, bifosfanat (zoledronik asit) tedavisi gören hastalarda sekiz haftadan uzun süredir var olan açıkta kalmış kemik yüzeyi olarak tanımlar.

Ancak sadece bifosfanat tedavisi gören hastalarda bu nekroz görülmez. Damarlanmayı önleyen antianjiyojenik ilaç ve antirezortif ilaç kullanan hastalarda da bu nekroz görülür.

Bu yüzden bifosfanata bağlı çene nekrozu yerine (BRONJ), ilaç kullanımına bağlı çene nekrozu (MRONJ) tanımı yapmak gerekmektedir. Bifosfanat kullanımının bilinen en yaygın yan etkisi osteonekrozdur. Özellikle meme kanseri ve multiple miyelomda

kullanılan nitrojen içerikli bifosfanat kullanımına bağlı osteonekroz vakaları mevcuttur (Mehmet Ali Erdem ve ark. 2011).

Hoff ve arkadaşlarının yaptığı çalışma bugüne kadar bilinen en etkili ve kapsamlı çalışma olup, 4000 kanser hastasını incelemişler ve bunlardan 33 tanesinde osteonekroz gelişmiştir. Bu yapılan retrospektif çalışmada, genelde osteonekroz oluşma riskinin yüzde sekiz olduğu bunun yüzde 2.8'inin multiple myelom hastalarında ve yüzde 1.2'sinin meme kanseri hastalarında olduğu sonucuna varmışlardır. Lezyonların daha çok mandibulada olduğu belirtilmiştir (Hoff AO ve ark. 2006).

Bifosfanatların en önemli etkisi; osteoklast aktivitesini inhibe ederek, kemik rezorpsiyonunu önlemektir (Xiong H et al. 2007). Osteoklast aktivitesindeki azalma, osteoklast-osteoblast etkileşiminde değişime neden olmaktadır. Bifosfanatların bu özelliği düşünülerek; periodontal hastalıklara bağlı alveol kemik yıkımına da ne derece kontrol altında tutacağı yeni bir çalışma sahasının temelini oluşturabilmektedir (Denissen H ve ark. 2000).

Oluşan lezyonlara yönelik tekrarlanabilir ya da öngörülebilir tedavi seçenekleri henüz bulunamamıştır. Bu durum hastanın genel sistemik sağlığı ve ağız-diş sağlığı açısından ciddi risk teşkil etmektedir.

Diş çekimi gibi dental travma yaratan işlemler, ilaç kullanımına bağlı osteonekroz oluşumu için ciddi risk faktörüdür. Çenelerinde osteonekroz görülen hastaların yüzde ellisinden fazlasında diş çekimi öyküsü bulunmaktadır. Diş çekiminin, osteonekroz oluşturma riskini 33 kat arttırdığı bilinmektedir (Saad ve ark. 2012; Vahtsevanas ve ark. 2009). Ancak kendiliğinden aniden gelişen ilaca bağlı çene nekrozunun oluşmasında ise, ağızda zaten var olan periodontal ya da periapikal enfeksiyon varlığı ile ilişkili olduğu düşünülebilir.

Bifosfanatların en bilinen yan etkisi çenelerde görülen nekrozdur. Rapor edilen bifosfanata bağlı çene nekrozlarında ise infüze edilen, nitrojen içerikli zoledronik asit ya da pamidronate gibi ilaçların kullanımı sonrası açığa çıkmıştır (Stephen T ve ark., Sonis a, c.). Bronj'da açığa çıkan lezyonlarda, bakteriyel enfeksiyon ve enflamasyon bulunur. Hansen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; BRONJ'da karakterize olan, geçmeyen ve iyileşmeyen inflamatuvar süreçten aktinomiçeslerin rol aldığını göstermişlerdir. Ancak aktinomiçes kolonilerinin nedensel mi ya da tesadüfi mi o bölgede lokalize olduğuyla ilgili kesin karara varamamışlardır (Hansen T ve ark.2006; Kunkel M. ve ark.2006).

Aniden ortaya çıkan ilaca bağlı çene nekrozunda, ağızda var olan periodontal ve periapikal lezyonların mevcudiyeti, ağızdaki enfeksiyon ve konak yanıtıyla ilişkilidir. 2003 yılında ilk kez bifosfanat kullanımına bağlı oluşan çene osteonekrozu raporlanmıştır (Marx ve ark. 2003; Migliorotti ve ark. 2003). Kemik erimesi olarakta bilinen osteoporoz hastalığı, yaşlı kadınlarda genel olarak yaygındır ve tedavisinde antiosteoporotik ve antirezorptif özelliğinden dolayı bifosfanatlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda bifosfanatlar malignite durumlarındaki göğüs, prostat, akciğer kanserleri ve hiperkalsemilerin tedavisinde, Paget hastalığında, multiple myeloma tedavisinde de önemli derecede kullanılan ilaç gruplarındandır. Bu gruptaki hastalarda oluşan osteonekroz, endişe verici olup, diş hekimliğinde tedavinin prognozu

için ciddi önem taşımaktadır (Yasua Endo ve ark. 2020). Diş hekimleri, uzun süreli bifosfanat tedavisi gören periodontal problemlili hastalarda komplikasyon oluşma riskini potansiyel olarak göz önünde bulundurmaları zorundadır (Ficarra G ve ark.).

Bifosfanata bağlı çene nekrozlarının yaklaşık yüzde seksenine yakını, diş hekiminin uyguladığı invaziv dental işlemler, baskı yapan protezler ve diş çekiminden kaynaklandığı bilinmektedir (Levin ve ark. 2007).

Oral mukoza, insan vücudunda eşsiz ve kompleks bir yapıya sahiptir. Vücudun diğer bölümlerinden farklı olarak altındaki kemiğe çok yakındır. Ağız içerisindeki yağ ve kas dokuları, oral mukoza hücreleri ile bifosfanat tedavisi gören, bifosfanattan zengin kemik arasında izolasyon görevi yapmaktadır. Ağız içerisinde BRONJ eğiliminde olan alanlar özellikle, ince oral mukozaya sahip torus, maxilla ve mandibula kretleri gibi alanlardır. Bu anatomik alanlar ağız ortamına özgü oluşumlardır. Bifosfanatların yan etkisi olan bu nekrozların özellikle oral mukozada görülmesi buradaki hücrelerin BRONJ un oluşumunun açıklanmasında önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir (R.H. Kim ve ark.; R.S. ve ark.). Ancak BRONJ'un oral mukoza hücrelerinden mi yoksa altındaki kemikten mi kaynaklanıp kaynaklanmadığı tartışma konusudur ve bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Nitrojen içeren bifosfanatlar hücreli proliferasyonu baskılar ve yara iyileşmesini geciktirir (Regina Landersbeg, Matthew Cozin ve ark.).

Periodontal ligament (PL) kompleks, vasküler, ve iki mineralize bağ dokusu olan, sement ve kemik arasında yerleştirilmiş oldukça hücreli yoğunluğu olan yumuşak bağ dokusudur (Lekic P ve ark. 1997). Bu doku diş pozisyonunun korunmasında ve alveol kemiğine gelen çiğneme kuvvetlerinin dişler tarafından kompanse edilmesinde oldukça önemli bir role sahiptir. Periodontal ligament, fibroblastlar, sementoblastlar ve osteoblastlardan oluşan zengin bir hücre topluluğuna sahiptir. Bu hücreler fizyolojik remodeling ve periodontal yara iyileşmesinde etkin bir role sahiptir.

Lekic ve arkadaşları, periodontal ligament genişliğini belirleyen ve periodonsiyumda remodelingi gerçekleştiren hücre topluluğunu tanımlamaya çalışmışlardır. Bifosfanatların PDL hücrelerinin görevlerini değiştirerek periodontal aralığı daralttığını söylemişlerdir. (Deneyisel olarak oluşturulmuş periodontitisli deney hayvanlarında, düşük dozda verilen bifosfanatın kemik kaybını azalttığı ve alveol kemik yüksekliğini koruduğunu söylemişlerdir (Lekic P ve ark. 1997).

Yaptıkları çalışmaya göre, bifosfanatın (ethane-1-hydroxy-1, 1-bisphosphonate-HEBP), alveol kemiğindeki ve periodontal ligamentteki hücrelerin repopulasyonunu ve farklılaşmasını sağlayarak, kemik yıkımının kontrol altına alınmasında fayda sağlayacağı düşünülmektedir. Bifosfanatlarla ilgili yapılan çalışmaların ana amacı çoğunlukla osteoporoz, Paget hastalığı, malign hiperkalsemi gibi hastalıkların tedavisinde, osteoklast fonksiyonunu inhibe ederek, kemik kütlelerini arttırmayı sağlayan mekanizmasını açıklamak üzerine kuruludur. Diş hekimliği açısından dikkat çekici olan kısım ise bifosfanat kullanımına bağlı kemik kütleliindeki artışa neden olan mekanizmayı açıklamaktır.

Sistemik olarak kullanılan ilaçlarla ve kontrollü oluşturulan deneysel hastalıkların, insanlar üzerinde gerçekleştirilmesi etik değildir. Bu nedenle kontrol ve deney gruplarının olduğu bu çalışmamızda, hayvan modeli kullanılmıştır. Sıçanlarda oluşturulan deneysel periodontal hastalığın klinik ve histopatolojik bulgularının, insanlardaki bulgulara benzer olduğu belirlenmiştir. Periodontal hastalığın; klinik, radyografik ve histolojik özelliklerini açıklayan patogenezin deneysel hayvan modellerini kullanarak bu hastalığa ilişkin önemli bilgiler edinmemizi sağlamıştır (Rafael Scaf de Malon, Chan Ho Park ve ark.).

Bu nedenle plağa bağlı periodontitis oluşturulan hayvan modelleri, hastalığın patofizyolojisinin aydınlatılmasında önemli rol oynar (Pikner S ve ark. 2010; Abrahamson ve ark. 1998; Berglundin ve ark. 1992). Deneysel periodontal hastalık çalışmalarında sıçanlar; molar diş bölgelerinin periodontal yapısının insanlara benzerlik göstermesi, maliyetlerinin ucuz olması, kolay temin edilebilmeleri, beslenmelerinin ve üretilmelerinin kolay olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Derks J ve ark. 2016; Cp M ve ark. 1995; Weinberg MA ve ark. 1999; Struilou X ve ark. 2010).

Deneysel periodontitis modelleri, periodontitis mekanizmasının anlaşılması için sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmamızda, deney grubundaki sıçanların molar dişlerinin etrafına dikiş ipi bağladım. Bu durumu yapmamın amacı; dişlerin etrafında bakteri plağının tutunması için retansiyon alanı yaratmaktır. Daha önceki çalışmalara göre ipek dikiş veya dikiş ipi yerleştirilerek periodontal yıkım oluşturulması hedeflenmiştir (Graves Dt ve ark. 2008). İpek dikişin bölgesel plak birikimini arttırarak, bakteriye bağlı inflamasyon ortamı oluşturularak, alveol kemik yıkımına sebep olduğu bilinmektedir. Bu periodontal yıkımın başlama süreci 1 hafta ile 13 hafta arası değişmektedir (Seto h ve ark. 2007). İpek dikişin çıkarılması inflamasyonun çözünebilmesine sebebiyet verebilir. Deney grubunda, zoledronik asit 6 hafta boyunca verildiği için bu süreçte ipek dikişler molar dişlerin etrafında kaldı.

Ancak biz çalışmamızda iyileşmeye baktığımız için son enjeksiyondan sonra, ipek dikiş uzaklaştırılıp, 2 hafta daha beklenilmiştir. Çalışmamızda dikiş ipleri, deneyin 6. haftasına kadar deneklerde yerleştirilen yerde bırakılmıştır. Sonrasında çıkartılmıştır. Diğer çalışmalardan farklı olarak, çalışmamızda sakrifikasyona kadar 2 hafta iyileşme süreci için beklenilmiştir. Hayvan modelinde doğal olarak ilerleyen ve gelişen periodontitis olmaması nedeniyle lezyonun kendiliğinden iyileşmesine olanak sağlamamak için 6. haftaya kadar deneklerin ağzında tutulmuştur (Merve Özalp 2014). **İpek** dikiş ya da ligatür bağlanarak oluşturulan periodontitis modelleri için sıçanlar dışında, köpekler fareler ve primatlarda kullanılmaktadır (Abe T ve ark. 2012; Kajikawa ve ark. 2017).

Marcheson ve arkadaşları, molar dişlerin arasına ipek dikiş yerleştirirken yaşanan zorlukları çözmek için bir düzenek kurmuşlardır. Basitleştirdikleri ligatür modellerinde, 2.5mm'lik ipek dikişi, farenin iki azı dişi arasına yerleştirerek, diş eti iltihabı ve peridontal kemik yıkımını başlatacak, endojen mikrobiyal dental plak için tutunma alanı oluşturmuşlardır. İzofloran anestezi altında, fare dental yatağı ve ligatür tutucu kullanarak, hem ağız açıklığını sağlıyorlar hem de ligatürü doğru yere yerleştiriyorlar. Ligatür tutucu ve fare dental yatağı, 3 boyutlu olarak tasarlanmıştır. Bu

sayede yerleştirilmesi planlanan ligatür periodontal dokuya, fazla travma yaratmadan kolaylıkla yerleştirilebilir. Sonrasında ise kemik kaybı farenin sadece 1. molar dişi ve 2. molar dişi arasında meydana gelir (Haara O ve ark. 2012; Martins ve ark. 2016; Jiao ve ark. 2013, Hu ve ark. 2017).

Aghaloo ve arkadaşlarının çalışmasında, bifosfanat kullanımına bağlı çene osteonekrozu (BRONJ)'nda diş hastalıklarının önemli bir yeri olduğunu vurgulamışlardır. Bu mekanizmayı açıklamak adına sıçanlarda potent miktarda zoledronik asit vererek Bronj oluşturmuşlardır (Miglioratti ve ark. 2003). Ayrıca sıçanların sağ maksiller birinci molarlarına ligatür yerleştirerek ileri periodontitis oluşturmuşlardır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak deneklere önce zoledronik asit verilmiş sonrasında periodontal hastalığı oluşturmak amacıyla ligatürleme işlemi yapılmıştır. Aghaloo ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada ligatürlemeden önce, haftada 3 defa, üçer hafta boyunca deneklere ZA enjekte edilirken, ligatürlemeden sonra 12 hafta boyunca ZA enjekte edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise ligatürlemeden sonra, deneklere haftada bir, altı hafta boyunca ZA enjekte edilmiştir. Ligatürler çıktıktan sonrasındaki 2 hafta boyunca zoledronik asit enjeksiyonuna devam edilmiştir (Aghaloo Tl ve ark. 2011).

Teknik prosedürde, plak birikimini kolaylaştırmak için posterior dişlerin etrafına ipek ya da pamuktan elde edilmiş çok katmanlı ipek dikiş yerleştirilir (Assuma R ve ark. 1998). İpek dikiş çıkarıldığında ve herhangi bir tedavi metodu uygulandığında çıkan sonuçlar iyileşen periodontal lezyondaki ilacın etkisidir (Gonca Yılmaz ve ark. 2016). Çalışmamızda 6. haftaya kadar ilaç enjeksiyonu yapılmıştır. 6.haftanın sonunda iyileşmeyi gözlemlemek amacıyla ipek dikişler uzaklaştırılmıştır ve sonrasındaki 2 hafta boyunca da ilaç enjekte edilmeye devam edilmiştir.

Çalışmamızda zoledronik asidin periodontal problemi olan hastalarda kullanıldığında ve bu problem ortadan kaldırıldığında devam eden zoledronik asit enjeksiyonunun periodontal dokular üzerinde olası etkilerini değerlendirmek istediğimizden her iki gruba da deneyin başlangıcında herhangi bir ilaç enjeksiyonu yapılmadan ligatür uygulaması yapılmıştır. Deney başlangıcında tüm sıçanlara, anestezi altında, sağ üst 1. molar dişlerinin etrafına 5.0 ipek dikiş yerleştirilmiştir. Çalışmamızda mikrobiyal dental plak retansiyonu oluşturmak amacıyla, ipek dikişin yerleştirilmesi sırasında fazlaca problem yaşanılmıştır. Sıçanların molar dişlerinin çok küçük olması, ağız açıklığının kısıtlı olması, sığ vestibül derinliği ve molar dişlerinin interproksimal kontaktlarının çok sıkı olmasından dolayı, dikiş yerleştirilme işlemi loupe takılarak gerçekleştirilmiş olup, çalışmamızın en zorlayıcı kısmını oluşturmuştur. Tüm hayvanlara dikiş yerleştirilmesi yaklaşık 1 ay sürmüştür. Lokal anestezi altında, hayvanlara yerleştirilen dikişler uzaklaştırılmıştır ve sonrasında 2 hafta kadar iyileşme süresi verilmiştir. Bu süre içinde de zoledronik asit enjeksiyonuna devam edilmiştir.

İlaç etkisi olmadan deneysel periodontitisin etkilerini gözlemleyebilmek ve bu hastalık etkeni ortadan kaldırıldığında yani periodontal problemi olmayan sağlıklı bireylerde ilacın iyileşme üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla kontrol grupları oluşturulmuştur.

Çalışma ile ilgili elde edilen bulguların değerlendirilmesine histopatolojik açıdan bakılmıştır. Bu yöntemle zoledronik asit kullanımının periodontal probleme neden olan etken uzaklaştırıldığında, periodontal dokular üzerinde iyileşmeye etkisini incelemeyi hedefledik (Major P ve ark. 2001).

İpek dikiş çıkarıldığında ve herhangi bir tedavi uygulandığında, elde edilen sonuçlar iyileşen periodontal dokudaki biriken ilacın etkisidir.

Diğer bir deyişle, çalışmamızda uygulanan tıbbi durum, periodontal sağlığı yerinde olmayan ancak tıbbi ihtiyaç nedeniyle zoledronik asit alan hastaların bu süreçte periodontal sağlıklarına kavuştuklarında devam eden ZA tedavisinin periodontal olarak değerlendirilmesidir. Bu şekilde periodontal hastalıklarda, alveol kemik kaybına neden olan durumun önlenmesi ve tedavisi konusunda yeni stratejiler elde edebilmeyi amaçladık.

Çalışmanın histolojik değerlendirmesinde, zoledronik asit kullanılmış ve ligatür kaynaklı oluşturulmuş periodontitisde, lameller kemikte görülen boş lakunalar mevcuttur. Squamoz epitel hücrelerinin inflamasyon göçüyle karakterize edilmiş kabarık nekrotik alanlarda mevcuttur. Bu durum, o bölgelerde meydana gelen yıkımı ifade eder.

Histolojik olarak kemikte nekroz, deney grubundaki hayvanların ligatür yerleştirilen deney grubu deneysel periodontitis (DDP)' de 7'inde tespit edilmişken 8'in'de rastlanmamıştır. DDP grubunda %53,3 oranında nekroza rastlanmazken %40 oranında hafif nekroz ve %6,7 oranında orta nekroza rastlanmıştır. Kontrol grubu deneysel periodontitis (KDP), kontrol grubu sağlıklı periodonsiyum (KSP), deney grubu sağlıklı periodonsiyumda (DSP)'de ise nekroza rastlanmamıştır.

Bu deney grubu, dikişle periodontitis oluşturulmuş kontrol grubuna ve de periodontal olarak sağlıklı olan deney ve kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında nekrotik kemik varlığı anlamlı derecede farklı bulunmuştur. BRONJ'da yumuşak dokudaki düzenli olmayan yara iyileşmelerine sık rastlanılsa da, bifosfanatların oral yumuşak dokuya ve oral hücrelerine etkisi tam olarak bilinmemektedir (R.H. Kım ve ark.).

Tez çalışmamızda periodontal yıkım olan bölgelerde enfeksiyon bulgusu mevcuttur. Yapılan histolojik ölçümlerde KDP ve DDP karşılaştırıldığında; KDP' de yüzde 40 oranında iltihaplanma görülmezken, DDP grubunda yüzde 33.3 oranında iltihaplanma yok. Bu durumda DDP grubunda iltihabi süreç daha belirgindir. ZA verilen ve deneysel periodontitis oluşturulan grupta, ZA verilmeyen ve deneysel periodontitis oluşturulan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazladır. KSP ve DSP gruplarında iltihaplanmaya rastlanmamıştır.

Bu durum ipek dikiş uygulamasının iltihap oluşumunu tetikleyen başlıca etken olduğunu ve zoledronik asit kullanımının bu durumu maskeleyemediğini düşündürür niteliktedir. Li ve arkadaşlarının çalışmalarındaki gibi anlamlı derecede deneysel periodontitis durumunda ZA kullanımının iltihabi odakların oluşumunu arttırdığı gözlenmiştir. Gruplar arasında iltihaplanma durumunun dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur.

Kolpakova ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; zoledronik asit verilen deney grubunun rezeke edilen mandibularında enflamatuvar hücrelerine ve nekroz bulgularına

rastlanmıştır. Zoledronik asit verilmeyen kontrol grubunda ise bu bulgulara rastlanılmamıştır. Aynı zamanda bu bilim insanlarının yaptığı çalışmalarında, uzun süre devam eden bifosfanatın tek başına MRONJ (medication related osteonecrosis of the jaw) oluşumunda risk faktörü olmadığını, asıl risk faktörünün; zoledronik asidin kemik rejenerasyonuna olan ani etkisinden kaynaklandığını vurgulamışlardır (Kolpakova ME ve ark. 2016). Bizim çalışmamızın sonuçları, bu çalışmanın sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir.

Çalışmamızda deneysel periodontitis ile birlikte ZA verilen grupta, deneysel periodontitis olup ZA verilmeyen gruba göre, epitel proliferasyonu daha fazladır. İpek dikiş uygulanmayan, periodontal sağlıklı gruplarda ise epitel proliferasyonuna rastlanmamıştır. Oysaki Landersberg ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, bifosfanat tedavisinin oral mukozal hücrelerinin epitel proliferasyonunu engellediğini ve yara iyileşmesini geciktirdiğini göstermişlerdir. Bu sonucun bizim çalışmamızdan farklı olması dikkat çekicidir (Regina Landersberg, Matthew Cozin ve ark.).

Scheper ve arkadaşları; zoledronik asidin, oral fibroblast ve epitel hücrelerine etkilerini araştırmışlardır (Scheper ve ark.). ZA dozunun, epitel hücre proliferasyonu ya da apoptoz üzerinde etkili olduğu sonucunu çıkarmışlardır. Onların çalışmasına göre ZA'nın düşük dozları hızlıca ve direct olarak, apoptotic süreci indükleyerek oral mukozadaki epitel hücrelerini etkilemiştir. Bu durumda olası bir yumuşak doku yaralanmasında osteonekroz oluşma potansiyelini destekler nitelikte olduğu sonucuna varmışlardır. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmaya paralel olarak; epitel proliferasyonu, ZA verilen ve deneysel periodontitis oluşturulan grupta daha fazla bulunmuştur. Bu sonuçlar ışığında periodontitis varlığında bifosfanatların çene kemiğinde osteonekroza sebep olma potansiyelini destekler niteliktedir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre; periodontal aralık değişkeni ortanca değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. Deneysel periodontitis ile birlikte zoledronik asit verilen grupta (DDP) ortanca değeri 0.17, deneysel periodontitis ile zoledronik asit verilmeyen grupta (KDP) ortanca değeri 0.13, periodontal olarak sağlıklı ve zoledronik asit verilen grupta (DSP) ortanca değeri 0.07, periodontal olarak sağlıklı ve zoledronik asit verilmeyen grupta (KSP) ortanca değeri 0.07 olarak elde edilmiştir. Periodontal olarak sağlıklı gruplarda, zoledronik asit kullanımının, periodontal aralıkta değişikliğe neden olmaması sonucunu göstermiştir. Okamoto ve arkadaşları; zoledronik asitin periodontal aralıktaki etkisini incelemek için bir çalışma yapmışlardır (Okamoto Y ve ark. 2013). Ancak onların çalışmasında bizim çalışmamızdan farklı olarak sıçanlara herhangi bir dental girişimde bulunulmamıştır. Onların çalışmasının sonuçlarına göre zoledronik asitin verilme süresi ve yüksek dozda verilmesi periodontal aralığı ciddi ölçüde daraltmaktadır. Zoledronik asit, periodontal ligament hücrelerini diferansiye ederek, periodontal aralıkta daralmaya neden olmaktadır.

Çalışmada kullanılan sıçanlarda ki ortalama ağırlığın 400gr olduğu varsayılmıştır. Bir sıçanın insülin enjeksiyonundan alacağı ilaç 0.375ml'dir. Uygulanan bu doz, osteoporoz ve kanser hastalarında kilogram başına verilen miligram dikkate alındığında

elde edilen dozlarla paralellik göstermektedir. Sıçanlara verilen bu oran İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Dr. İlknur Bingöl tarafından hesaplanılmıştır. Ancak bu ilacı alan ya da alacak hastalarda görülen kompleks sistemik durum sıçanlarda bulunmamaktadır. Günümüzde deneysel çalışmalarda, ligatürle ya da bizim çalışmamızdaki gibi ipek dikişle oluşturulmuş periodontitis modelleri klinik ve histopatolojik olarak insandaki bulgulara benzesede, ilerleme şekli ve hızı insandaki periodontal hastalıkla farklılıklar içermektedir. Ancak böyle çalışmaların insanlar üzerinde gerçekleştirilmesi etik değildir. İpek dikişle oluşturulmuş periodontitis modellerinin en önemli dezavantajı, sıçanların beslenmesine bağlı olarak bu dikişlerin kopması olmuştur. Bundan dolayı her hafta sıçanların dikişleri kontrol edilmiştir ancak arada yinede çıkan ve fark edilemeyen dikiş iplikleri mevcut olmuştur. Bu durumun çalışma sonuçlarımızı anlamlı derecede etkilemediğini, istatistiksel sonuçlar desteklemektedir.

Bu sonuçlar ışığında periodontitis durumu ortadan kaldırıldığında dahi kullanılan bifosfanatın çene kemiğinde osteonekroza sebep olduğu, intravenöz olarak alınan bifosfanatın ne kadar süreyle verildiğinde bu sonuçta anlamlı farklılıklar elde edilebileceğiyle ilgili yeni ve daha uzun sürede yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca zoledronik asidin kemik oluşum mekanizmasındaki proliferasyona ve diferansiyasyona etkisini açıklayabilecek immunohistokimyasal yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Zoledronik asitin dozu, verilme sıklığı, kullanım periodu değiştirilerek ve de daha fazla çalışma grupları oluşturularak doku üzerindeki iyileşme potansiyeli daha etkili bir şekilde değerlendirilebilir

6. SONUÇ

Çalışmamızda zoledronik asit deneysel periodontitis oluşturulmuş deneklerde kullandırılıp, alveolar kemik yıkımı ve nekroz üzerine etkileri incelenmiştir. Önceki çalışmalardan farklı olarak deneysel periodontitis etkeni ortadan kaldırıldıktan sonra da zoledronik asid uygulamasına devam edilmiş ve iyileşme sürecindeki etkileri incelenmiştir.

Bu çalışmanın bulgularına göre:

1-Zoledronik asit verilen ve ipek dikiş yerleştirilen deney grubunda, ilaç kullanımına bağlı çene osteonekrozunda mikrobiyal yük, enflamasyon ve enfeksiyonun rolü olabileceği konusundaki görüşler ile paralellik göstermektedir.

2- Deneysel periodontitis durumunda ZA kullanımının iltihabi odakların oluşumunu arttırdığı gözlenmiştir. İpek dikiş uygulamasının iltihap oluşumunu anlamlı derecede uyardığı gözlenmiştir.

3- Periodontal olarak sağlıklı gruplarda, zoledronik asit kullanımının, periodontal aralıkta değişikliğe neden olmaması sonucunu göstermiştir.

4-Epitel proliferasyonu açısından çalışmamızın sonuçlarına göre diş çevresinde oluşan iltihap varlığı, ZA verilen ve deneysel periodontitis oluşturulan grupta ZA verilmeyen ve deneysel periodontitis oluşturulan gruba göre daha fazladır.

Bu bulgular ışığında, bifosfanat türevi ilaç kullanımından önce var olan periodontitisin tedavi edilmesi iyileşme üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu düşünülebilir. İyileşme sürecinin hangi mekanizmalar doğrultusunda gerçekleştiği konusunda planlanacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

- 1.Mp C, Westerman B, Sm H, et al. A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population. 2001;1(1997):1137-1144
- 2.Seymour 1979 The Phenotypic Characterization of Lymphocyte Subpopulation in Established Human Periodontal Disease, USA
- 3.S GJ, T JJ. Shouts and whispers: an introduction to immunoregulation in periodontal disease. 2004;35(3):9-13
- 4.Yago Leira, Ramon Iglesias-Rey, Noemi Gomez-Lado et al. Periodontitis and vascular inflammatory biomarkers: an experimental in vivo study in rats, doi:10.1007/s10266-019-00461-3
- 5.De Molon RS, Park CH, Jin Q, Sugai J, Cirelli JA. Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. *Microsc Res Tech*. 2018 Dec;81(12):1412-1421.
- 6.Marchesan J, Girnary MS, Jing L, et al. An experimental murine model to study periodontitis. *Nat Protoc*. 2018 Oct;13(10):2247-2267.
- 7.Smith MM, Knight ET, Al-Harhi L, Leichter JW. Chronic periodontitis and implant dentistry. *Periodontol 2000*. 2017 Jun;74(1):63-73.
- 8.Deng ZL, Szafranski SP, Jarek M, Bhujra S, Wagner-Döbler I. Dysbiosis in chronic periodontitis: Key microbial players and interactions with the human host. *Sci Rep*. 2017 Jun 16;7(1):3703.
- 9.Gawron K, Wojtowicz W, Łazarz-Bartyzel K et al. Metabolomic Status of The Oral Cavity in Chronic Periodontitis. *In Vivo*. 2019 Jul-Aug;33(4):1165-1174.
- 10.Maceler BF, Robertson PB. Immunoglobulin bearing lymphocytes and plasma cells in human periodontal disease. 1977:37-45
- 11.Seymour GJ, Dockrell HM. Enzyme differentiation of lymphocyte subpopulations in sections of human lymph nodes, tonsils and periodontal disease. 1978;00:169-178

- 12.Mp C, Westerman B, Je P, Mj F, Gj S. Acquisition and loss of Porphyromonas gingivalis, Actinobacillus actinomycetemcomitans and Prevotella intermedia over a 5-year period: effect of triclosan /copolymer dentfrice. 2003; july2002: 532-541
- 13.Kumar S. Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis. Dent Clin North Am. 2019 Jan;63(1):69-81.
- 14.Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. Lab Invest. 1976 Mar;34(3):235-49
- 15.Carvalho-Filho PC, Gomes-Filho IS, Role of Porphyromonas gingivalis HmuY in Immunopathogenesis of Chronic Periodontitis. Mediators Inflamm. 2016;2016:7465852
- 16.Berglundh T, Nu Z, Are DM. Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions 2011;38:188-202. Doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01672.x
- 17.Hospital RD, Dentistry H, Francisco S. The Phenotypic characterization of lymphocyte subpopulations in established human periodontal disease. 1979:39-46
- 18.Perez-Lopez, F.R. Postmenopausal osteoporosis and alendronate. Maturitas 48, 179-92(2004)
- 19.Ark, B. O. Et al. Discovery and History of the non-medical uses of bisphosphonates. B.L.J., Ed. Elsevier Sci. B. V. 11-124(1995)
- 20.Russell RGG. Bisphosphonates: The first 40 years. 2011;49:2-19. Doi:10.1016/j.bone.2011
- 21.Fleisch H. Development of bisphosphonates. Breast Cancer Res. 4:30-34, 2002
- 22.Rusell RG (2006) Bisphosphonates From Bench to bedside. Ann. N.Y. Acad. Sci, 1068:p.367-
- 23.Russell, R.G.G., Watts, N.B., Ebetino, F.H& Rogers, M. J. Mechanisms of action of bisphosphonates: Similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. Osteoporos. Int. 19,733-759(2008)
- 24.Cornish J, Bava U, Callon KE, Bai J, Naot D, Reid IR: Bone-bound bisphosphonate inhibits growth of adjacent non-bone cells. Bone 49:710e716,2011.

25. Von Moos R, Costa L, Soares EG, Tepros E, Niepel D, Body JJ. Management of bone health in solid tumors: From bisphosphonates to a monoclonal antibody. *Cancer Treat Rev* 2019;76:57–67
26. Fournier P., Boissier S., Filleur S., Guglielmi J., Cabon F., Colombel M., Clézardin P. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res.* 62:6538-6544, 2002
27. Nobuyuki H, Hiraga T, Williams PJ, Niewolna M, Shimizu N, Mundy GR, Yoneda T. The bisphosphonate zoledronic acid inhibits metastases to bone and liver with suppression of osteopontin production in mouse mammary tumor. *J Bone Miner Res* 2001;16(Suppl 1):S191.
28. Senaratne SG, Mansi JL, Colston KW. The bisphosphonate zoledronic acid impairs membrane localisation and induce cytochrome c release in breast cancer cells. *Br J Cancer* 2002;86(9):1479–86
29. Ashcroft, A. J., Davies, F.E. & Morgan, G.J. Aetiology of bone disease and the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *Lanset Oncol.* 4,284-92(2003)
30. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Zoledronic Acid in Cancer Patients with Bone Metastases, *Journal of Clinical Pharmacology*, 2002;42:1228-1236
31. Cheng, a et al. The dental implications of bisphosphonates and bone disease. *Aust. Dent. J.* 50, S4-S13(2005)
32. Flichy-Fernández A., Balaguer-Martínez J., Peñarrocha-Diago M., Bagán J.V. Bisphosphonates and dental implants: current problems. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 14:E355-E60, 2009
33. Marx, R.E., Cillo, J.E. & Ulloa, J.J Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention and treatment. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 67,2-12(2009)
34. Russell RGG. Bisphosphonates: Mode of Action and Pharmacology. 2014. doi: 10.1542/peds.2006-2023H
35. Green JR, Clezardin P. Mechanisms of bisphosphonate effects on osteoclasts, tumor cell growth and metastasis. *Am J Clin Oncol* 2002;25:S3–9

36.Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H,Thompson DD, Golub E, Rodan GA. Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest* 1991;88(6):2095–105)

37.Senaratne SG, Pirianov G, Mansi JL, Arnett TR, Langrish V. Bisphosphonates induce apoptosis in human breast cancer cell lines. *Br J Cancer* 2000;82(8):1459–68.)

38.Giuliani N., Pedrazzoni M., Passeri G., Girasole G. Bisphosphonates inhibit IL-6 production by human osteoblast-like cells. *Scand. J. Rheumatol.* 27:38-41,1998.

39.Papapoulos SE, Hoekman K, Lowik CWGM, et al. Application of an in vitro model and a clinical protocol in the assessment of the potency of a new bisphosphonate. *J Bone Miner Res* 1988;4:775-81

40.Tanvetyanon T., Stiff PJ. Management of the adverse effects associated with intravenous bisphosphonate. *Annals of Oncology.* 17: 897–907, 2006

41.Yaccoby S, Pearse RN, Johnson CL, Barlogie B, Choi Y, EpsteinJ. Myeloma interacts with the bone marrow microenvironment to induce osteoclastogenesis and is dependent on osteoclast activity. *Br J Haematol* 2002;116(2):278–90.

42.Peyruchaud O, Winding B, Pecheur I, Serre CM, Delmas P, Clézardin P. Early detection of bone metastases in a murine model using fluorescent human breast cancer cells: application to the use of the bisphosphonate zoledronic acid in the treatment of osteolytic lesions. *J Bone Miner Res* 2001;16(11):2027–34

43.Virtanen SS, Väänänen HK, Härkönen PL, Lakkakorpi PT. Alendronate inhibits invasion of PC-3 prostate cancer cells by affecting the mevalonate pathway. *Cancer Res* 2002;62(9):2708–14.

44.Santini D, Vincenzi B, Avvisati G, Dicuonzo G, Battistoni F,Gavasci M, Salerno A, Denaro V, Tonini G. Pamidronate induces modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res* 2002;8(5):1080–4

45.Clohisey DR, O’Keefe PF, Ramnaraine ML. Pamidronate decreases tumor-induced osteoclastogenesis in osteopetrotic mice. *J Orthop Res* 2001;19(4):554–8.

46. Fromiguet O, Lagneaux L, Body JJ. Bisphosphonates induce breast cancer cell death in vitro. *J Bone Miner Res* 2000;15(11):2211–2
47. Barille S, Akhoundi C, Collette M, Mellerin MP, Rapp MJ, Harousseau JL, Bataille R, Amiot M. Metalloproteinases in multiple myeloma: production of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), activation of proMMP-2, and induction of MMP-1 by myeloma cells. *Blood* 1997;90(4):1649–55
48. Corey E, Quinn JE, Brown LG, Roudier MPM, Higano C, Vessella RL. Examination of effects of zoledronic acid on prostate cancer. *J Bone Miner Res* 2001;1(Suppl 1):S192.
49. Green JR, Mueller K, Jaeggi KA. Preclinical pharmacology of CGP 42'446 , a new, potent, heterocyclic bisphosphonate compound. *J Bone Miner Res* 1994;9:745-51
50. Zimering MB. Effect of intravenous bisphosphonates on release of basic fibroblast growth factor in serum of patients with cancer-associated hypercalcemia. *Life Sci* 2002;70(16):1947–60
51. Soydan S., Veziroglu F., Araz K. Bifosfonata Bağlı Olarak Çene Kemiklerinde Gelişen Osteonekrozun Patogenezi ve Tedavisi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 33:61-68, 2009.)
52. Ruggiero S., Dodson TB., Assael LA., Landesberg R., Marx RE., Mehrotra B. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons Position Paper on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw. *Aust. Endod. J.* 35:119-130, 2009)
53. Zhan F, Huang Y, Colla S, Stewart JP, Hanamura I, Gupta S, Epstein J, Yaccoby S et al. The molecular classification of multiple myeloma. *Blood*. 2006 Sep 15;108(6):2020-8. The molecular classification Multiple Myeloma
54. Richards, D. Review finds that severe periodontitis affects 11% of the world population. *Evid. Based Dent.* 15, 70–71 (2014).
55. Kassebaum, N. J. et al. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and metaregression. *J. Dent. Res.* 93, 1045–1053 (2014).
56. Eke, P. I., Dye, B. A., Wei, L., Thornton-Evans, G. O. & Genco, R. J. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J. Dent. Res.* 91, 914–920 (2012).

57. Abe, T. & Hajishengallis, G. Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. *J. Immunol. Methods* 394, 49–54 (2013)
58. Thumbigere-Math V, Michalowicz BS, Hodges JS, et al. Periodontal disease as a risk factor for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Periodontol* 2014;85: 226–33.
59. Kang B, Cheong S, Chaichanasakul T, et al. Periapical disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in mice. *J Bone Miner Res* 2013;28: 1631–40.
jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61:1115e7
60. Coleman R, Burkinshaw R, Winter M, et al: Zoledronic acid. 2011:133-145
61. Rathbone EJ, Brown JE, Marshall HC, Collinson M, Liversedge V, Murden GA et al: Osteonecrosis of the jaw and oral health-related quality of life after adjuvant zoledronic acid: an adjuvant zoledronic acid to reduce recurrence trial subprotocol.(BIG01/04)
62. Marx RE. Pamidronate(Aredia) and zoledronate(Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61:1115e7.
63. Migliorati CA. Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. *J Clin Oncol* 2003;15:4253-4.
64. Jabbour Z, El-Hakim M, Henderson JE et al: Bisphosphonates inhibit bone remodeling in the jaw bones of rats and delay healing following tooth extractions. *Oral Oncol* 2014;50:485-90
65. Song M, Alshaikh A, Kim T, Kim S, Dang M et al: Preexisting Periapical Inflammatory Condition Exacerbates Tooth Extraction-induced Bisphosphonate-related Osteonecrosis of the Jaw Lesions in Mice. *J Endod* 2016;42:1641-6.
66. Mehmet Ali Erdem, Burak Çankaya, Sabri Cemil İşler: Extraction socket healing in rats treated with bisphosphonate; Animal model for bisphosphonate related osteonecrosis of jaws in multiple myeloma patients 2011 Nov 1;16(7):e879-83.
67. Hoff AO, Toth BB, Altundag V, et al: Osteonecrosis of the jaw in patients receiving intravenous bisphosphonate therapy. 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. *J Clin Oncol* 24:8528, 2006 (suppl)
68. Xiong H, Peng B, Wei L, Zhang X, Wang L. Effect of an estrogen-deficient state and alendronate therapy on bone loss resulting from experimental periapical lesions in rats. *J Endod* 2007;33:1304-8.

69. Denissen H, Montanari C, Martinetti R, van Lingen A, van den Hooff A Alveolar bone response to submerged bisphosphonate-complexed hydroxyapatite implants J Periodontol. 2000 Feb;71(2):279-86. doi: 10.1902/jop.2000.71.2.279.

70. Saad F, Brown JE, Van Poznak C, 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* 2012;23:1341–7.

71. Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, et al. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Clin Oncol* 2009;27:5356–62

72. Stephen T. Sonis a,c,* , Brynmor A. Watkins e , Gregory D. Lyng e , Mark A. Lerman a,c, Kenneth C. Anderson b Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients

73. Hansen T, Kunkel M, Weber A, et al. Osteonecrosis of the jaws in patients treated with bisphosphonates – histomorphologic analysis in comparison with infected osteoradionecrosis. *J Oral Pathol Med* 2006;35:155–60

74. Yasuo Endo, Hiromi Funayama, Kouji Yamaguchi,c Yuko Monma,d Zhiqian Yu,f Xue Deng,f Takefumi Oizumi,c Yosuke Shikama,g Yukinori Tanaka,b Satoshi Okada,c Siyoung Kim,h Tomomi Kiyama,i Kanan Bando,h Kazuhiro Shima,h Hikari Suzuki,c and Tetsu Takahashic. Basic Studies on the Mechanism, Prevention, and Treatment of Osteonecrosis of the Jaw Induced by Bisphosphonates. *Yakugaku Zasshi* 140, 63 · 79 (2020)

75. Ficarra G; Osteonecrosis of the jaws in periodontal patients with a history of bisphosphonates treatment,

76. Bisphosphonates Induce Senescence in Normal Human Oral Keratinocytes, R.H. Kim^{1,2,3*}, R.S. Lee¹ , D. Williams¹ , S. Bae¹ , J. Woo¹ , M. Lieberman¹ , J.-E. Oh¹ , Q. Dong¹ , K.-H. Shin^{1,2,3}, M.K. Kang^{1,2,3}, and N.-H. Park^{1,2,3,4})

77. Regina Landesberg, DMD, PhD,* Matthew Cozin, BA,† Serge Cremers, PhD,‡ Victoria Woo, DDS,§ Stavroula Kousteni, PhD,¶ Satrajit Sinha, PhD,** LeeAnn Garrett-Sinha, PhD,†† and Srikala Raghavan, PhD, Inhibition of Oral Mucosal Cell Wound Healing by Bisphosphonates

78. Lekic P, Rubbino I, Kransnoshtein F, Cheiftetz S, McCulloch CA, Tanebaum H. Bisphosphonate modulates proliferation and differentiation of rat periodontal ligament cells during wound healing. *Anat Rec* 1997; 247:329-40.
79. Rafael Scaf de Molon¹ | Chan Ho Park² | Qiming Jin³ | Jim Sugai⁴ | Joni Augusto Cirelli .(Characterization of ligature-induced experimental periodontitis
80. Pikner S. Severity and pattern of periimplantitis-associated bone loss. 2010:442-448. Doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01537.x
81. Abrahamsson I, Soft Tissue Response to Plaque Formation at Different Implant Systems. A Comparative Study In The Dog *Clin Oral Imp Res* 1998;9:73-79 1998
82. Berglundh T, Soft Tissue Reaction to De Novo Plaque Formation on Implants and Teeth, *Clin Oral Imp Res* 1992;3:1-8
83. Derks J, Schaller D, Hakansson J, Wennström JL, Tomasi C, Berglundh T. Effectiveness of Implant Therapy Analyzed in a Swedish Population: Prevalance of Peri-implantitis. 2016. Doi:10.1177/0022034515608832
84. Cp M, Berglundh T, Ericsson I, Klinge B, Po G et al. Resolution of ligature-induced peri-implantitis lesions in the dog. 1995;(1992):1-6.
85. Weinberg MA, Bral M(1999) Laboratory animal models in periodontology. *J Clin Periodontol*,26:p.335-340
86. Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P(2010). Experimental animal models in periodontology: a review. *Open Dent J*, 4:p.37-47
87. Graves DT, Fine D, Teng YT, Van Dyke TE, Hajishengallis G. The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 2008:35-89. Pubmed:18199146
88. Seto H, Toba Y, Takada Y et al. Milk basic protein increases alveolar bone formation in rat experimental periodontitis. 2007:85-89. Doi:10.1111/j.1600-0765.2006.00919.x
89. Özalp Merve. Deneysel olarak oluşturulmuş periodontitis ile birlikte zoledronik asitin oral mukoza üzerine etkilerinin histolojik olarak değerlendirilmesi.(2014)
90. Abe T, Hosur KB, Hajishengallis E, Reis ES, Ricklin D, Lambris JD, Hajishengallis G. Local complement-targeted intervention in periodontitis: proof of concept using a C5a receptor(CD88) antagonist. *J Immunol*. 2012;189:5442.

- 91.Kajikawa, T. et al. Milk fat globule epidermal growth factor 8 inhibits periodontitis in non-human primates and its gingival crevicular fluid levels can differentiate periodontal health from disease in humans. *J. Clin. Periodontol.* 44, 472–483 (2017)
- 92.Haara, O. et al. Ectodysplasin regulates activator-inhibitor balance in murine tooth development through Fgf20 signaling. *Development* 139, 3189–3199 (2012).
- 93.Martins, M. D. et al. Epigenetic modifications of histones in periodontal disease. *J. Dent. Res.* 95, 215–222 (2016).
- 94.Jiao, Y. et al. Induction of bone loss by pathobiont-mediated Nod1 signaling in the oral cavity. *Cell Host Microbe* 13, 595–601 (2013).
- 95.Hu, Y. et al. IL-21/anti-Tim1/CD40 ligand promotes B10 activity in vitro and alleviates bone loss in experimental periodontitis in vivo. *Biochim. Biophys. Acta* 1863, 2149–2157 (2017).
- 96.Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, et al. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J Bone Miner Res.*2011;26(8):1871-1882. Doi:10.1002/jbmr.379
- 97.Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol.* 1998;160:403.
- 98.Gonca Yılmaz Deneysel Olarak Oluşturulmuş Periodontal Yıkım İle Birlikte Zoledronik Asit Uygulamasının Oral Mukoza Üzerine Etkilerinin İmmunohistokimyasal Olarak İncelenmesi. 2016.
- 99.Major P, Lortholary A, Hon J, et al. Zoledronic acid is superior to pamidronate in the treatment of hypercalcemia of malignancy: a pooled analysis of two randomized, controlled clinical trials. *J Clin Oncol* 2001;19:558-67
- 100.Kolpakova ME, Zubarev AA, Artamonova TD et al: Experimental model of osteonecrosis of the jaw in rats treated with zoledronic acid. 2016:6-9 doi:10.1016/j.bjoms.2016.10.006
- 101.Scheper at al. Effect of zoledronic acid on oral fibroblasts and epithelial cells: a potential mechanism of bisphosphonate-associated osteonecrosis
- 102.Okamoto Y, Hirota M, Monden Y, et. Al. High-dose zoledronic acid narrows the periodontal space in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2013;42(5):627-631.

103. Li CL, Lu WW, Seneviratne CJ, Leung WK, Zwahlen RA, Zheng LW. Role of periodontal disease in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in over-ectomized rats. *Clin Oral Implants Res.* 2017;27(1):1/7.



HAM VERİLER

HİSTOLOJİ VERİLERİ

E2		0,13											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	
1		İlt.	Nek.	Ep. Pr.	Per. ar.				İlt.	Nek.	Ep. Pr.	Per. Ar.	
2	K. Pt 1	1	0	0	0,13			D. Pt 1	2	1	3	0,21	
3	K. Pt 2	1	0	0	0,11			D. Pt 2	1	0	3	0,17	
4	K. Pt 3	1	0	1	0,13			D. Pt 3	0	1	0	0,14	
5	K. Pt 4	1	0	0	0,09			D. Pt 4	0	0	0	0,16	
6	K. Pt 5	1	0	0	0,16			D. Pt 5	1	0	1	0,15	
7	K. Pt 6	1	0	1	0,13			D. Pt 6	0	0	0	0,14	
8	K. Pt 7	1	0	1	0,15			D. Pt 7	1	0	1	0,16	
9	K. Pt 8	0	0	0	0,15			D. Pt 8	1	0	0	0,17	
10	K. Pt 9	0	0	0	0,11			D. Pt 9	2	1	1	0,16	
11	K. Pt 10	1	0	1	0,13			D. Pt 10	1	0	0	13	
12	K. Pt 11	0	0	0	0,09			D. Pt 11	0	0	2	0,16	
13	K. Pt 12	1	0	0	0,12			D. Pt 12	1	2	3	0,17	
14	K. Pt 13	0	0	0	0,11			D. Pt 13	1	1	2	0,18	
15	K. Pt 14	0	0	0	0,13			D. Pt 14	1	1	1	0,2	
16	K. Pt 15	0	0	0	0,1			D. Pt 15	0	1	1	0,17	
17													
18	K. S 1	0	0	0	0,06			D. S 1	0	0	0	0,05	
19	K. S 2	0	0	0	0,08			D. S 2	0	0	0	0,09	
20	K. S 3	0	0	0	0,04			D. S 3	0	0	0	0,07	
21	K. S 4	0	0	0	0,07			D. S 4	0	0	0	0,06	
22	K. S 5	0	0	0	0,09			D. S 5	0	0	0	0,05	
23	K. S 6	0	0	0	0,05			D. S 6	0	0	0	0,07	
24	K. S 7	0	0	0	0,1			D. S 7	0	0	0	0,07	
25	K. S 8	0	0	0	0,06			D. S 8	0	0	0	0,08	
26	K. S 9	0	0	0	0,08			D. S 9	0	0	0	0,06	
27	K. S 10	0	0	0	0,06			D. S 10	0	0	0	0,07	
28	K. S 11	0	0	0	0,08			D. S 11	0	0	0	0,5	
29	K. S 12	0	0	0	0,07			D. S 12	0	0	0	0,06	
30	K. S 13	0	0	0	0,05			D. S 13	0	0	0	0,06	
31	K. S 14	0	0	0	0,09			D. S 14	0	0	0	0,08	
32	K. S 15	0	0	0	0,07			D. S 15	0	0	0	0,06	

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

DENEYSEL PERİODONTİTİS OLUŞTURULAN SIÇANLARDA, SİSTEMİK OLARAK KULLANILAN ZOLEDRONİK ASİTİN DOKU İYİLEŞME POTANSİYELİ ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 17	% 17	% 2	% 3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 6
2	docs.neu.edu.tr İnternet Kaynağı	% 3
3	www.leventeralp.com İnternet Kaynağı	% 2
4	acikerisim.nku.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
5	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
6	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	% 1
7	dent.ege.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1