

T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI



İBANDRONİK ASİTİN DİŞ ÇEKİMİ SONRASI SIÇAN ALVEOLAR KEMİĞİNE
ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

Dt. Metin KIZILKAYA

ANKARA / 2010

T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI



İBANDRONİK ASİTİN DİŞ ÇEKİMİ SONRASI SIÇAN ALVEOLAR KEMİĞİNE
ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

Dt. Metin KIZILKAYA

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Kenan ARAZ

ANKARA / 2010

T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Dalında Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05/07/2010

“İbandronik Asitin Diş Çekimi Sonrası Sıçan Alveolar Kemige Etkilerinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi”

TEZ DANIŞMANI: PROF.DR.KENAN ARAZ

TEZ JÜRİSİ ÜYELERİ

Prof.Dr. Kenan Araz

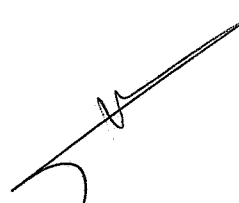
Prof.Dr. Muzaffer Tuncer

Prof.Dr. Sina Uçkan

Doç.Dr. Özgür Zafer Pektaş

Yrd.Doç.Dr. Firdevs Veziroğlu

ONAY:Bu tez Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu'nun 05/07/2010 tarih, 093 sayılı kararıyla kabul edilmiştir.


Prof.Dr.Rengin Erdal
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmamda ve doktora eğitimim süresince tecrübesi ve bilgisi ile bana her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Başkent Üniversitesi Rektörü Sayın **Prof. Dr. Kenan ARAZ**'a ,

Başkent Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Sina UÇKAN**'a ,

Üniversiteye başladığım günden itibaren bütün bilgilerini büyük bir özveriyle benimle paylaşan ve her zaman yanımda olan sevgili ağabeyim Sayın **Dr. Dt. Ufuk ATEŞ**'e,

Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'nda beraber çalıştığım tüm öğretim görevlilerine, asistan arkadaşlarıma ve yardımcılara,

Tezimde kullanılan İbandronik Asit etken maddesini gönderen ve çalışmanın planlanmasında bilgi ve önerilerini esirgemeyen Sayın **Prof. Dr. Frieder BAUSS**'a,

İbandronik asitin doz hesaplamalarında ve hazırlanmasında bana yardımcı olan Başkent Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Doç. Dr. Remzi ERDEM** ve öğretim üyesi Sayın **Yrd. Doç. Dr. Tolga Reşat AYDOS**'a,

Deney hayvanlarının proje boyunca bakımında ve deney hayvanlarına yapılan işlemlerde emeği geçen Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi Ünite Sorumlusu Sayın **Dr. Didem BACANLI** ve merkez çalışanlarına,

Histopatolojik preparatların hazırlanması ve değerlendirilmesinde emeği geçen Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın **Prof. Dr. Handan ÖZDEMİR** ve Patoloji Anabilim Dalı çalışanlarına,

İstatistiksel analizlerin hesaplanmasında ve yorumlanmasında bana yardımcı olan Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın **Yrd. Doç. Dr. Ayşe Canan YAZICI**'ya,

Hayatlarını çocuklarına adanmış olan annem **Hamiyet KIZILKAYA** ve babam **Hayrettin KIZILKAYA**'ya, ağabeyim **Gürkan KIZILKAYA**'ya, sevgili nişanlım **Pelin GAZİOĞLU**'na ve hayatımın anlamı melek kardeşim **Gökhan KIZILKAYA**'ya ,

Sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

ÖZET

İbandronik Asitin Diş Çekimi Sonrası Sıçan Alveolar Kemiğine Etkilerinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi.

Bu çalışmanın amacı nitrojen içeren potent bisfosfonatlardan olan ibandronik asitin farklı dozlarının diş çekimi sonrası alveolar yara iyileşmesi üzerine etkilerini incelemektir.

Araştırmada deney hayvanı olarak Spraque-Dawley türü 30 adet dişi sıçan kullanılmıştır. Deney hayvanları 3 gruba ayrılarak 1. gruba 0.033 mg/kg dozda ibandronik asit, 2. gruba 0.1 mg/kg dozda ibandronik asit ve 3. gruba da distile su enjeksiyonu subkütan (s.c) olacak şekilde 6 hafta boyunca haftada 1 kez yapılmıştır. Enjeksiyonu takiben 5. günde bütün hayvanların sol mandibular molar dişleri çekilmiştir. Diş çekiminden 8 hafta sonra bütün deney hayvanları sakrifiye edilerek hemimandibulaları çıkartılmış ve histopatolojik inceleme için hazırlanmıştır.

Histopatolojik değerlendirme sonucu elde edilen veriler istatistiksel analiz yöntemleriyle incelenmiştir. Her üç grupta da yeni kemik oluşumu gözlemlenmiştir. Osteoblastik ve osteoklastik aktivite her üç grupta da artmıştır. Vasküler proliferasyon ve inflamasyon 1. ve 2. grupta kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde fazla bulunurken 2. grupta görülen mukozal ülserasyon 1. grup ve kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde fazla bulunmuştur. Sadece 2. gruptaki 3 deney hayvanında (% 35) görülen osteonekroz istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çalışmada elde edilen histopatolojik bulgular sonucunda potent bisfosfonatlardan olan ibandronik asitin diş çekimi sonrası osteonekroza sebep olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : İbandronik Asit, Osteonekroz, Diş çekimi, Alveolar yara iyileşmesi

ABSTRACT

Histopathologic Evaluation of the Effects of Ibandronic Acid to the Alveolar Bone After Tooth Extractions.

The aim of this study is to research the effects of the potent nitrogen containing bisphosphonate ibandronic acid at different doses to the alveolar wound healing after molar tooth extractions.

In this research 30 female Sprague-Dawley rats were used as experimental animals. The animals were divided into three groups; first group received 0.033 mg/kg ibandronic acid, second group received 0.1mg/kg ibandronic acid and third group received distillate water injections subcutaneously for 6 weeks. Five days following the injection left mandibular molar teeth were extracted in each group. Animals were sacrificed 8 weeks postoperatively and left hemimandibles were removed and prepared for histopathological examination.

Histopathological findings were statistically analyzed. New bone formation were observed in all groups. Osteoblastic and osteoclastic activity were increased in three groups. Increase of vascular proliferation and inflammation was significantly higher in group 1 and group 2 than in control group. Mucosal ulceration in group 2 was significantly higher than group 1 and control group. Osteonecrosis was only seen in 3 of the animals (% 35) from group 2 and it was statistically significant.

It is concluded that the potent bisphosphonate ibandronic acid may cause osteonecrosis after simple tooth extraction.

Key Words : Ibandronic Acid, Osteonecrosis, Tooth extraction, Alveolar wound healing.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	ix
ŞEKİLLER.....	x
RESİMLER.....	xi
TABLolar.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kemik Oluşumunun Fizyolojisi.....	4
2.2. Bisfosfonatlar.....	7
2.2.1. Bisfosfonatların Kimyasal Yapısı.....	7
2.2.2. Bisfosfonatların Sınıflandırılması.....	9
2.2.3. Bisfosfonatların Etki Mekanizması	10
2.2.4. İbandronat (İbandronik Asit).....	14
2.3. Metastatik Kemik Hastalıkları ve Bisfosfonat Tedavisinin Rolü.....	17
2.4. Bisfosfonatlar ve Osteokemonekroz.....	19

2.4.1. Bisfosfonatla İlişkili Çene Kemiği Osteonekrozunda Tedavi Seçenekleri.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. İbandronik Asit Etken Maddesinin Temini.....	32
3.2. Subkütan Enjeksiyon İçin İbandronik Asit Çözeltisinin Hazırlanması.....	32
3.3. Cerrahi İşlemler.....	34
3.4. Histopatolojik Preparatların Hazırlanması.....	38
3.5. İstatistiksel Analiz	39
4. BULGULAR.....	40
5. TARTIŞMA.....	56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63
7. KAYNAKLAR.....	64

KISALTMALAR VE SİMGELER

Ark.	: Arkadaşları
ATP	: Adenozin Trifosfat
ADP	: Adenozin Difosfat
N-BF	: Nitrojen İçeren Bisfosfonatlar
FPP	: Farnesyl Difosfat
GPP	: Geranil Difosfat
RANK	: Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör κ B
RANKL	: Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör κ B Ligand
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
TGF- β	: Transforming Büyüme Faktörü – β
AKMAD	: Amerikan Kemik ve Mineral Araştırma Derneği
BİÇO	: Bisfosfonatlarla İlişkili Çene Kemiği Osteonekrozu
FDA	: Food and Drug Administration
PTH	: Paratiroid Hormon
Mg	: Miligram
Kg	: Kilogram
s.c.	: Subkütanöz
i.p.	: İntraperitoneal
ml	: Mililitre
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
i.v.	: İntravenöz
ASCO	: American Society of Clinical Oncology
RADAR	: Research on Adverse Drug Events and Reports

ŞEKİLLER

Şekil 2.1: Hematopoietik ve stromal hücrelerin ilişkisi.....	5
Şekil 2.2: Osteoblastların diferansiyasyon yolu.....	5
Şekil 2.3: Temel pirofosfat yapısı.....	8
Şekil 2.4: Merkezi karbon atomuna bağlanan R ₁ ve R ₂ zincirlerini gösteren temel bisfosfonat yapısı.....	8
Şekil 2.5: Yaygın kullanılan bisfosfonatların kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.6: İbandronat sodyumun yapısal formülü.....	15
Şekil 2.7: Fizyolojik kemik remodelinginin ve anjiyogenezisinin potent bisfosfonatlarla inhibisyonu sonucu kemiğin rejeneratif kapasitesinin bozulması ve osteonekroz oluşumu.....	21
Şekil 4.1: Gruplar arası ağırlık değişim grafiği.....	43
Şekil 4.2: 1. gruptaki (İbandronik Asit 0,033mg/kg) ağırlık değişimi grafiği.....	43
Şekil 4.3: 2. gruptaki (İbandronik Asit 0,1mg/kg) ağırlık değişimi grafiği.....	44
Şekil 4.4: Kontrol grubundaki ağırlık değişimi grafiği.....	44
Şekil 4.5: Tüm gruptaki deney hayvanlarının diş çekim bölgesindeki yeni kemik oluşumlarının dağılımı.....	45
Şekil 4.6: Deney hayvanlarının diş çekim bölgelerinde mukozal ülserasyon varlığının dağılımı.....	47
Şekil 4.7: Deney hayvanlarının diş çekim bölgelerindeki osteoblastik ve osteoklastik aktivitelerin dağılımı.....	50
Şekil 4.8: Deney hayvanlarının diş çekim bölgelerinde osteonekroz görülme sıklığının dağılımı.....	51
Şekil 4.9: Deney hayvanlarının diş çekim bölgelerinde inflamasyon ve vasküler proliferasyon düzeylerinin dağılımı.....	53

RESİMLER

Resim 2.1: Multiple myeloma hastalığı sebebiyle kemoterapi ve zolendronik asit ile tedavi gören 70 yaşında kadın hastada görülen BİÇO.....	23
Resim 2.2: Multiple myelomaya bağlı olarak 2.5 yıldır zolendronik asit tedavisi gören 64 yaşındaki kadın hastada premolar diş çekimi sonrası maksillada görülen BİÇO.....	23
Resim 3.1: İbandronik asitin enjeksiyonluk çözeltisinin hazırlanması: ibandronik asit monosodyum monohidrat tuzunun distile suda çözelti haline getirilmesi.....	33
Resim 3.2: İbandronik asit ve distile su enjeksiyonu: belirlenen dozda enjekte edilecek hacmin hipodermik enjektörlere çekilmesi.....	33
Resim 3.3: Subkütan enjeksiyon işlemi.....	34
Resim 3.4: Diş çekimi yapılacak bölgenin izolasyonu.....	35
Resim 3.5: Sol mandibular molar dişlerin ekartasyonu.....	35
Resim 3.6: Çekilmiş sol mandibular molar dişler.....	36
Resim 3.7: Çekim bölgesinin 6.0 Vicryl süturlarla kapatılması.....	36
Resim 3.8: Atravmatik diş çekimi sonrası alveolar mukozanın görünümü.....	37
Resim 4.1: Kontrol grubunda intakt yüzey epiteli, altta kemik oluşumu, stromada vasküler proliferasyon ve minimal inflamasyon.....	46
Resim 4.2: 1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) yeni kemik oluşumu, etrafındaki granülasyon dokusu, vasküler proliferasyon ve inflamasyon.....	46

Resim 4.3: 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) yüzeyde epitelyal ülserasyon, altta kemik gelişimi ve stromada inflamasyon.....	48
Resim 4.4: 1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) yüzeyde intakt epitel, altta kemik gelişimi.....	48
Resim 4.5: 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) ülsere epitel ve kemikte osteonekroz.....	51
Resim 4.6: 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) yüzeyde ülserasyon, nekrotik kemik, sekestr parçası, kemik etrafında inflamasyon ve vasküler proliferasyon.....	52
Resim 4.7: 1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) yüzeyel ülserasyon, vasküler proliferasyon, mikst inflamasyon ve kemik gelişimi.....	53
Resim 4.8: 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) yüzeyde epitel tamamen kalmış, eksüda mevcut, altta yeni kemik oluşumu, stromada yoğun inflamasyon.....	54
Resim 4.9: 1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) yüzeyde ülserasyon, yeni kemik gelişimi, kemik etrafında vasküler proliferasyon, inflamatuvar hücreler.....	55

TABLÖLAR

Tablo 2.1: Onkolojik uygulamalarda klinik kullanımı mevcut olan bisfosfonatlar.....	19
Tablo 4.1: Tüm gruptaki sıçanların her bir işlem zamanındaki ağırlıklarının ortalaması $\pm$ standart sapma değerleri ve ortanca değerleri.....	41
Tablo 4.2: Her bir grup içinde farklı zamanlardaki ağırlıkların ortalaması $\pm$ standart sapma değerleri ve ortanca değerleri.....	42
Tablo 4.3: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin çekim bölgelerinde yeni kemik oluşumu açısından histopatolojik olarak değerlendirilme bulguları.....	45
Tablo 4.4: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin mukozal ülserasyon açısından histopatolojik olarak değerlendirilme bulguları.....	47
Tablo 4.5: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin osteoblastik aktivite açısından histopatolojik olarak değerlendirilme bulguları.....	49
Tablo 4.6: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin osteoklastik aktivite açısından histopatolojik olarak değerlendirilme bulguları.....	49
Tablo 4.7: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin osteonekroz açısından histopatolojik olarak değerlendirilme bulguları.....	50
Tablo 4.8: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin inflamasyon ve vasküler proliferasyon dereceleri açısından histopatolojik olarak değerlendirilme bulguları.....	52

1.GİRİŞ

Bisfosfonatlar osteoklastik aktivite inhibisyonunu sağlayan son derece kuvvetli kimyasal ajanlardır. Etki mekanizmaları tam olarak açıklanamamış olmasına rağmen kemikteki hidroksiapatit yapının çözünmesini engelledikleri, kemik iliği öncü hücrelerinin osteoklast oluşturma potansiyellerini inhibe ettikleri, osteoklast inhibitörünü stimule edip osteoklast apoptozisini sağladıkları kesin olarak ispatlanmıştır.

Bisfosfonatlar nitrojen içermeyen ve nitrojen içerenler (aminobisfosfonatlar) olmak üzere 2 ayrı gruba ve 3 jenerasyona ayrılmaktadırlar. Nitrojen içeren bisfosfonatlar, nitrojen içermeyen bisfosfonatlara göre çok daha etkilidirler.

Günümüzde bisfosfonatlar osteoklastik aktivite ile ilişkili kemik kaybının tedavisini gerektiren osteoporoz, paget hastalığı, multiple myeloma, metastatik meme ve prostat kanseri ve diğer metastatik hastalıkların tedavisinde kullanılan primer ajanlardır.

Bu tarz ciddi hastalıkların tedavisindeki etkinliklerinden dolayı dünya çapında kullanımları çok yaygındır.

Önceleri bisfosfonatların yan etkileri akut faz reaksiyonları, gastrointestinal yan etkiler ve renal yan etkiler olarak bildirilirken 2003 te Marx ve arkadaşları (ark.) bisfosfonata bağlı çene kemiği osteonekrozunu yeni bir yan etki olarak bildirmişlerdir ve bu komplikasyon giderek artan vaka sayılarıyla literatürdeki yerini almıştır.

Amerikan Kemik ve Mineral Araştırma Derneği' nin yayınladığı bir başmakalede bisfosfonatlarla ilişkili çene kemiği osteonekrozu; “kraniyofasiyal bölgeden radyoterapi almamış olup bisfosfonat tedavisi gören hastalarda maksillofasiyal bölgede bir doktor tarafından teşhisi konulduğu andan itibaren 8 haftada iyileşmeyen ekspoze kemik varlığı” olarak tanımlanmaktadır.

Çene kemiği osteonekrozu gelişimi ile bisfosfonat kullanımı arasındaki patofizyolojik bağlantı tam olarak çözülememiş olmasına rağmen bisfosfonatların yüksek dozda ve uzun süre kullanımına bağlı hem osteoklast hem de osteoblast hücrelerinde Ca^{+}

birikmesi sonucu kemik turnoverının bozulduğu ve bu turnoverın azalmasına bağlı olarak avasküler nekroz olduğu düşünülmektedir.

Bisfosfonatla ilişkili çene kemiği osteonekrozu genellikle diş çekimi sonrası, dental protez kullanımına bağlı olarak ve periodontal hastalık varlığında görülse de, dental etkenlerden bağımsız olarak da ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca bisfosfonat tedavisinin süresi, ilacın veriliş şekli ve tipi de potansiyel risk faktörlerindendir.

Kanser tedavisinde kullanılan intravenöz (i.v) bisfosfonat dozları osteoporoz tedavisinde kullanılan oral bisfosfonat dozlarına göre yaklaşık 10 kat daha fazladır ve i.v bisfosfonatların % 50' den fazlasının kemik matriksine inkorporasyonu olmaktadır. Bu nedenle bisfosfonat kullanımına bağlı çene kemiği osteonekrozu, i.v kullanılan bisfosfonatlarda oral kullanılanlara göre çok daha fazla oranda görülmektedir.

Bisfosfonat kullanımına bağlı çene kemiği osteonekrozu vakaları daha çok aminobisfosfonatlardan zolendronik asit ve pamidronatın multiple myeloma veya metastatik hastalıkların tedavisinde i.v kullanımına bağlı olarak rapor edilmektedir. Bunun dışında osteoporoz tedavisinde alendronatın oral kullanımına bağlı olarak rapor edilen çene kemiği osteonekrozu vakaları da bulunmaktadır.

Bisfosfonatların çene kemiğinde osteonekroz oluşturmalarının patofizyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır ve osteonekroz teşhisi konulmuş hastalara uygulanacak en iyi tedavi şekli tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle kullanılan ilaç, ilacın dozu, veriliş şekli ve süresi gibi spesifik faktörlerin araştırılmasına, doğru görüntüleme yöntemlerinin geliştirilmesine, uygun tedavi yönteminin tam olarak belirlenmesine, osteonekrozun oluşumundaki patofizyolojinin anlaşılmasına ve farmakogenetik çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tarz çalışmaların yapılabilmesi için en uygun yöntem değişik hayvan modelleri üzerinde çalışmaktır. Hayvan çalışmalarında ilaçların biyoyararlanımı, biyodağılımı, kemik turnoverına etkileri, diş çekimi veya diğer cerrahi işlemler sonrası kemik iyileşmesi üzerine etkileri gibi etkenlerin incelenmesi gerekmektedir.

Nitrojen içerikli potent bisfosfonatlardan olan ibandronik asitin osteoporoz tedavisinde kullanımının dışında onkolojik endikasyonlarda kullanımı da artmaktadır. Nefrolojik yan etkilerinin zolendronik asite göre çok daha az olduğunu bildiren klinik veriler elde

edilmiştir fakat kullanım alanı gittikçe genişleyen ibandronik asitin çene kemiğine etkileri tam olarak bilinmemektedir. Literatürde sadece ibandronik asit kullanımı sonrası görülen çene kemiği osteonekrozu vakası çok nadirdir.

Bu çalışmada nitrojen içeren (aminobisfosfonat) bisfosfonatlardan olan ibandronatın farklı dozlarının diş çekimi sonrası alveolar kemik iyileşmesi üzerine etkilerini histopatolojik olarak değerlendirilecektir. Yapılan değerlendirme sonucunda hem osteoporoz tedavisinde hem de metastatik hastalıklarda oral veya i.v olarak kullanılan ve kullanımı ülkemizde de giderek yaygınlaşan bir ilaç olan ibandronik asitin çene kemiğine etkileri hakkında bilgi sahibi olunabilecektir.

2.GENEL BİLGİLER

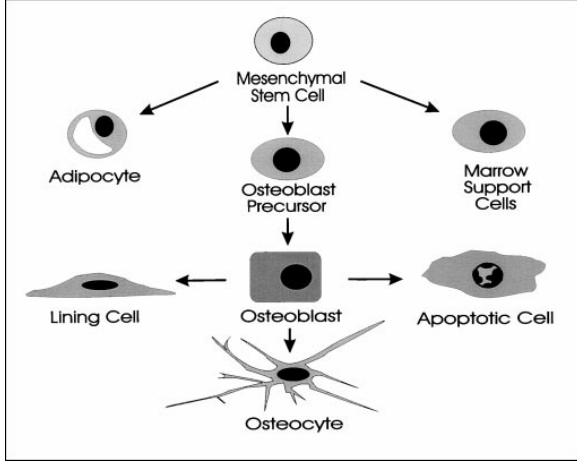
2.1 Kemik Oluşumunun Fizyolojisi

İskelet remodeling işlemi hayat boyu devam eden metabolik olarak aktif bir organdır. Bu remodeling işlemi hem iskeletin yapısal bütünlüğünün korunması hem de kalsiyum ve fosfor için depo vazifesi görmesi gibi metabolik fonksiyonları için gereklidir. Bu ikili fonksiyonlar farklı mekanik kuvvetler veya metabolik ve nutrisyonel stresler altında değişmektedir (1).

Kemik; kartilaj analogun yerleşmesinden sonra gelişmeye kodlanmış bölgelere mineralize dokuların depozisyonu ile oluşan “modeling” işlemi ile oluşur. Kemiğin uzaması düzenli bir sırayla kartilajın yerini kemik dokusunun almasıyla olur ve buna “endokondral” kemik oluşumu denir. Kemik özellikle kafatası gibi yassı kemiklerde kartilajdan bağımsız olarak “membranöz” kemik olarak şekillenir fakat hala kartilaj yüzeye komşudur.

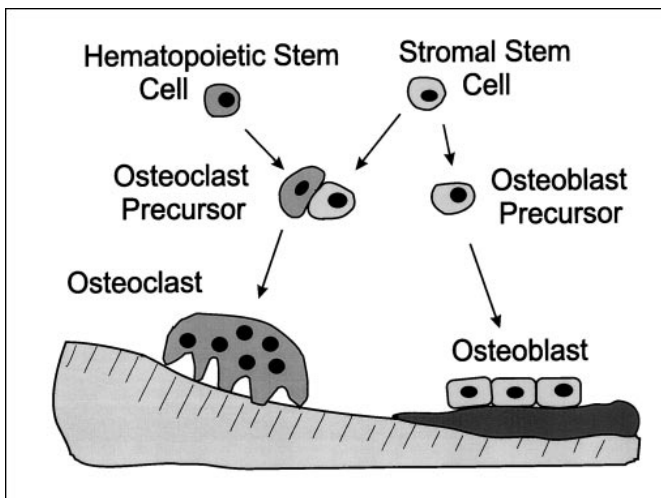
Kemiğin remodelingi fetal hayatın başlarında başlar. Metabolik aktivitenin neredeyse tamamı genç yetişkinlerde iskeletin tamamıyla şekillendiği formda olur. Kemik remodeling siklusu mezenşimal osteoblastik soy ve hematopoietik osteoklastik soyun etkileşimlerine dayanan yüksek derecede düzenli ardışık kompleks basamaklar içerir (2). Remodeling işleminde “aktivasyon” fazı osteoblast soyunun mezenşimal hücrelerine lokal veya sistemik faktörlerin etkilerine bağlıdır. Başlangıç aktivasyon basamağı osteoklast ve osteoblast prekürsör hücrelerinin etkileşimini içerir (Şekil 2.1).

Bu etkileşim sonucu büyük multinukleuslu osteoklastların diferansiyasyonu, migrasyonu ve füzyonu gerçekleşir. Bu hücreler mineralize kemik yüzeyine bağlanarak özellikle Kathepsin K gibi düşük Ph da kollajenleride içeren kemik matriks komponentlerini degrade edebilen hidrojen iyonları ve lizozomal enzimleri salgılayarak rezorpsiyonu başlatırlar. Osteoklastların kemik yüzeyine yapışması kemik yüzeyindeki hücrelerin mineralize yüzey örtüsünü kaldıracak olan proteolitik enzimleri serbest bırakacak hücrelere spesifik değişimlerini gerektirir.



Şekil 2.1: Hematopoietik ve stromal hücrelerin ilişkisi (Dr. Carold C. Pillbeam, Connecticut Sağlık Merkezi Farmington CT tarafından çizilmiştir.)

Osteoklastik rezorpsiyon, trabeküler kemik yüzeyinde kortikal kemiğin silindirik Haversian Kanalları veya Howship Lakünleri adı verilen irregüler kaviteler oluşturur. Bunu takiben, makrofajlar gibi mononükleer hücrelerin kemik yüzeyinde bulunduğu “geri dönüşüm” fazı vardır. Bunlar rezorpsiyon prosesini tamamlarlar ve formasyonu başlatacak sinyalleri oluştururlar. Formasyon fazında rezorpsiyon ile oluşturulan kaviteler, mineralize matriks depolarından ve mezenşimal prekürsörlerden differansiye olan osteoblast tabakaları ile tamamen dolar (Şekil 2.2); yani mezenşimal hücreler formasyon fazında matriksi örten fonksiyonel osteoblastlara dönüşürler (1,2).



Şekil 2.2: Osteoblastların diferansiyasyon yolu (Dr. Carold C. Pillbeam, Connecticut Sağlık Merkezi Farmington CT tarafından çizilmiştir.)

Osteoblastlar için prekürsör mezenşimal veya stromal kök hücreler pluripotenttir ve kemik iliği destek hücreleri; adipositler, fibroblastlar kas veya kartilaj hücrelerine diferansiye olabilirler. Adipozit yolu özel önem taşımaktadır; çünkü osteoblast oluşturabilecek kapasitedeki hücreler bu soya dönüşebilirler ve artık kemik oluşumu için uygun değildir. Yaşlanmayla birlikte kemik iliği daha yoğun bir hal alır ve osteoblast yenilenmesi bozulur. Osteoblastlar diferansiye olup matriks sentezi döngülerini tamamladıktan sonra kemik yüzeyinde yassı bağlayıcı hücrelere dönüşebilirler, osteosit olarak kemiğe gömülebilirler veya programlı hücre ölümüne, yani apoptozise uğrayabilirler (3). Osteositler kemikteki sıvı akışının sağlanmasında kritik görev üstlenirler ve bu sıvı akışındaki değişiklikler çarpma gibi mekanik kuvvetlere karşı hücrel cevabın oluşturulmasında sinyal görevi görürler.

Remodeling siklusunda kalsiyumu regüle eden hormonların etkileri iskeletin metabolik fonksiyonlarına yarar sağlamaktadır. Diğer sistemik hormonlar iskeletin genel büyümesini kontrol ederler. Mekanik kuvvetlerdeki değişimlere verilen remodeling siklusunun korunması gibi cevaplar ve mikro kırıkların tamiri işlemleri lokal olarak sitokinler, prostaglandinler ve büyüme faktörleri tarafından sağlanır (1).

Kemiğin metabolik olarak aktif olması sadece yapısal bütünlüğü sağlamak için değil hemostazın sağlanması için de gereklidir. İskeletsel remodeling mekanik kuvvetlerle veya mikro hasarlarla ve kalsiyum ve fosfor miktarındaki değişikliklere hormonal cevaplarla tetiklenebilir (4). İskelet ayrıca asidoza karşı ikincil bir defans hattı oluşturur. Geniş kemik mineral yüzeyi toksinleri ve ağır metalleri absorbe ederek diğer organlara olabilecek yan etkileri minimize eder (4).

2.2. Bisfosfonatlar

Bisfosfonatlar 19. yüzyılın ortalarında Alman kimyagerler tarafından sentezlenmiştir. İlk olarak sanayi alanında boru hatları üzerine kalsiyum tuzlarının çökmesini önlemek amacıyla kullanılmışlardır.

1960'lı yıllarda bu ilaçların böbrek taşı oluşumunu engelleme potansiyelini hedef alan çalışmalarla anti rezorptif etkisi Fleisch ve ark. tarafından tanımlanmıştır. 1970'li yılların sonunda kalsiyum fosfata yüksek afiniteleri sayesinde Tc99m ile birlikte osseoz gamma-grafileri elde etmek için kullanılmışlardır. Ayrıca anti-tartar ve anti-plak etkilerinden dolayı diş macunları içine katılmışlardır.

Bisfosfonat çekirdeği merkezi karbon atomuna bağlanmış iki fosfat grubundan oluşmaktadır. Bu P-C-P bağlantısı insanlarda metabolize edilemez ve böylece bisfosfonatlar son derece stabil kalarak biyolojik aktivitelerini canlı dokularda uzun yıllar boyunca koruyabilirler. Kemiğin hidroksiapatit kristallerinin pozitif yüklü yüzeyi ile fosfat grubunun negatif yüklü yüzeyi arasında yüksek bir afinite oluşur.

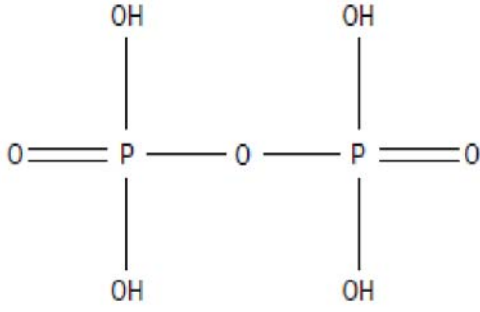
Bisfosfonatlar ilk olarak endüstri alanında kullanılmaya başlanmış olup, osseoz dokuya bağlanma özellikleri ve kuvvetli antirezorptif etkilerinin keşfedilmesinden sonra osteoporoz, metastatik meme ve prostat kanseri, multiple myeloma, paget hastalığı ve diğer birçok metastatik hastalıklara bağlı oluşan komplikasyonları önlemede kullanımları dünya çapında yaygınlaşmıştır.

2.2.1 Bisfosfonatların Kimyasal Yapısı :

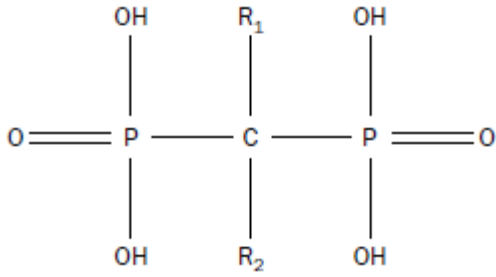
Bisfosfonatlar pirofosfat analoglarıdır (Şekil 2.3). Bisfosfonatlarda pirofosfatta fosfatları bağlayan merkezi molekül olan oksijenin yerini karbon molekülü almıştır. Bisfosfonatlar Ca^{++} gibi 2 değerli katyonların bağlanmasına olanak veren üç boyutlu yapılarıyla kemiğe yüksek afinite göstererek özellikle remodeling görülen kemik yüzeylerini hedef alırlar (5).

Bisfosfonatlar fosfat-karbon-fosfat zincirinden oluşan oldukça basit kimyasal bileşiklerdir. Bu merkezi karbon molekülünün varlığı, iki tane yan zincirin bu kimyasal

yapıya bağlanmasına imkan verir (Şekil 2.4). Karbon molekülü hidrolize rezistans oluşturup, osteoklastlar tarafından parçalanmayı önler, pirofosfat benzeri inhibisyonla kemik rezorpsiyonu engellenir (6).



Şekil 2.3 : Temel Pirofosfat yapısı



Şekil 2.4: Merkezi karbon atomuna bağlanan R₁ ve R₂ zincirlerini gösteren temel bisfosfonat yapısı

Yan zincirlerden biri (R₁) genellikle hidroksil grubu içerir ve bu grup bileşiğe kemik mineraline ve kalsiyum kristallerine yüksek bağlanma özelliğini vererek kemik matriksine yapışmasını sağlar (6).

İkinci serbest karbon bağına (R₂) değişik kimyasal gruplar bağlanır ve bu değişkenlik bisfosfonatın antirezorptif potansiyelini belirler. İstenilen anti-rezorptif etki ile istenmeyen yeni osteoitlerin demineralizasyonu arasındaki terapötik indeks oranı artışından bu zincir sorumludur (6).

2.2.2 Bisfosfonatların Sınıflandırılması:

Bisfosfonatlar 2 ana gruba ayrılmaktadır.

1- Nitrojen İçermeyen Bisfosfonatlar:

- Etidronat
- Klodronat
- Medronat
- Tiludronat

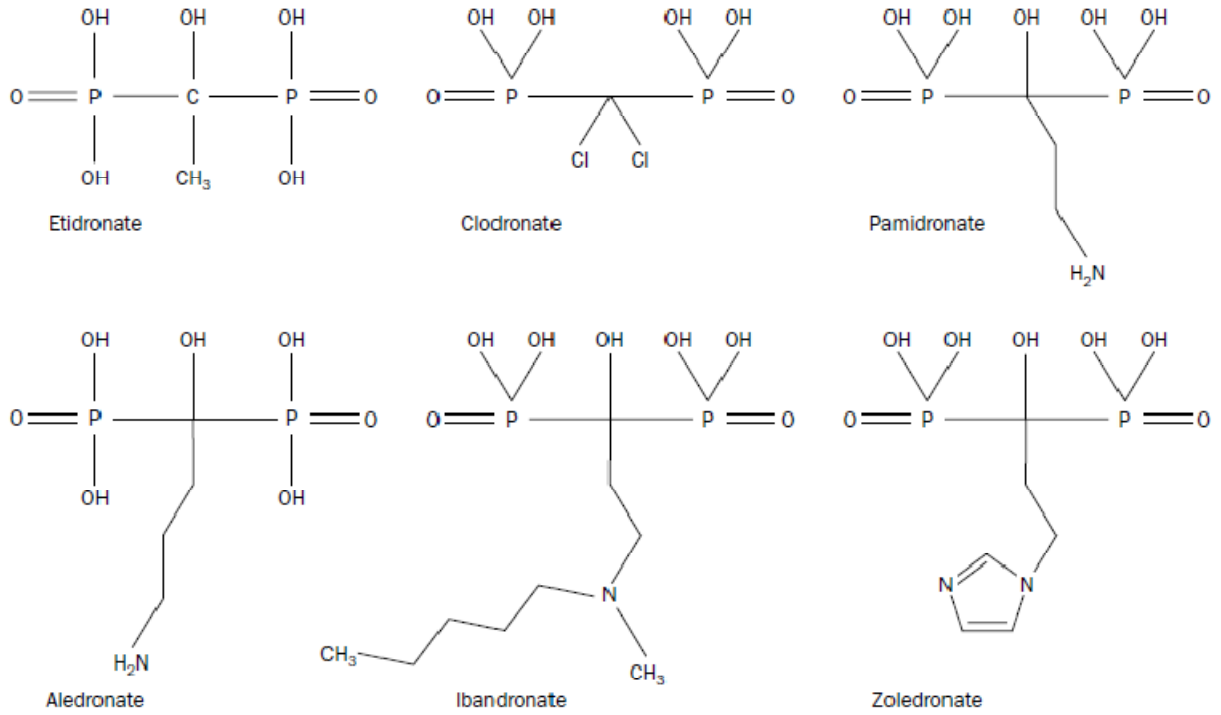
Bu bisfosfonatlar aynı zamanda 1. jenerasyon bisfosfonatlar olarak bilinirler ve 30 yılı aşkın süredir klinik kullanımları mevcuttur. Merkezi karbon atomuna bağlanan basit zincirlerden (medronat, klodronat, etidronat) veya klorofenil grubu içeren zincirlerden (tiludronat) oluşurlar ve en az potent olan bisfosfonatlardır. Bazıları kemik demineralizasyonuna sebep olabilirler (5,6).

2- Nitrojen İçeren Bisfosfonatlar (Aminobisfosfonatlar)

- Alendronat
- Pamidronat
- İbandronat
- Risedronat
- Zolendronat

Nitrojen içeren aminobisfosfonatlardan alendronat ve pamidronat, 2. jenerasyon bisfosfonatlar olarak adlandırılırlar ve tek bir nitrojen atomu içeren basit alifatik zincirlere sahip olmaları dolayısıyla 1. jenerasyon bisfosfonatlardan ayrılırlar (6).

Risedronat, ibandronat ve zolendronat ise daha potent 3. jenerasyon bisfosfonatlar olarak tanımlanırlar. Risedronat heterosiklik halka yapısına ve zolendronat ise 2 nitrojen atomu içeren 5 üyeli imidazol halka yapısına sahiptir ve bu yapı ilacı diğer bisfosfonatlara göre daha potent bir hale getirmektedir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 : Yaygın kullanılan bisfosfonatların kimyasal yapısı

2.2.3 Bisfosfonatların Etki Mekanizması :

Basit bisfosfonatların (klodronat, etidronat) osteoklastlar üzerine etkilerini anlamak için yapılan en önemli buluş Dictyostelium yapışkan küf amiplerinin pirofosfatı andıran bisfosfonatları intraselüler olarak metabolize edebildiğinin bulunmasıdır (7). Bu çalışmaları takiben memeli hücrelerinin pirofosfat benzeri yapılar olan birinci jenerasyon bisfosfonatlardan klodronat ve etidronatı intraselüler olarak metilen içeren (AppCp tip) Adenozin Trifosfat (ATP) analoglarına çevirdiği bulunmuştur (8). Bu AppCp tip metabolitleri osteoklastların sitozollerinde ve efektif olarak bisfosfonatları özümseyen diğer hücre tiplerinde yüksek konsantrasyonlara ulaşabilirler (9). Klodronatın AppCCl₂p metabolitinin in vitro olarak osteoklastlarda birikmesi osteoklast apoptozisini sağlayarak kemik rezorpsiyonunu önler (10). AppCCl₂p metabolitinin sitotoksik etkisinin moleküler temeli izole insan osteoklastlarında alendronat, klodronat ve klodronat metaboliti AppCCl₂p'nin izole mitokondri, mitokondriyal kesitler ve mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etkileri araştırılarak AppCCl₂p'nin mitokondriyal oksijen tüketimini Adenozin Difosfat (ADP)

ve ATP translokaz enziminin kompetitif inhibisyonunu içeren bir mekanizmayla engellediği bulunmuştur. Alendronat veya klodronatın doğal formunun mitokondri üzerine herhangi bir ani etkisi görülmemiştir (11). Özetle basit bisfosfonatların metabolitleri osteoklast apoptozisini indükleyerek kemik rezorpsiyonunu inhibe ederler (12).

Nitrojen içeren bisfosfonatlar (N-BF) ATP' nin toksik analoglarına metabolize edilmezler (13). Bunun yerine mevalonat yolunun anahtar enzimlerinden olan Farnesyl Difosfat (FPP) sentetaz inhibisyonu yoluyla etki gösterirler. Bu enzi N-BF' in nanomolar konsantrasyonları ile inhibe edilir. Zolendronik asit ve yapısal olarak benzeri olan minodronat FPP sentetazın potent inhibitörleridirler ve enzimi picomolar konsantrasyonlar da inhibe edebilirler. Rekombinan insan FPP sentetaz üzerinde yapılan çalışmalarda R₂ yan zincirinin yapısal minör modifikasyonları ve biçimlendirilmesinin antirezorptif potansiyeli etkileyeceği ve ayrıca FPP sentetaz inhibisyonunu etkileyeceği gösterilmiştir (14,15,16). N-BF enzimin bağlayıcı bölümündeki geranil difosfata (GPP) bağlanırlar (17,18).

FPP sentetaz inhibisyonu ile N-BF; FPP ve onun metaboliti olan geranilgeranil difosfatın sentezini önlerler. Bu isoprenoid lipitler Dolichol ve Ubikinon gibi birçok metabolitin üretiminde yapıtaşı olmakla beraber küçük GTPaz' ları da içeren proteinlerin post-translasyonel modifikasyonları (prenilasyon) için gereklidir (19, 20, 21).

N-BF' in protein prenilasyonunun inhibisyonunu in vitro olarak osteoklastlar osteoblastlar, makrofajlar, epitelyal ve endotelyal hücreler, meme, myeloma ve prostat tümör hücreleri üzerinde de yapabildiği gösterilmiştir (12).

Ras, Rho ve Rab familyasından olan prenil olmuş küçük GTPaz' lar osteoklast fonksiyonu için önemli sinyal proteinleridirler ve birçok hücresel işlemi düzenlerler (22). Mevalonat yolunun inhibisyonu ve özellikle geranilgeranile küçük GTPaz' lar gibi prenil proteinlerin kaybı N-BF' in major etki mekanizmasını oluşturmaktadır. Bu mekanizma FPP sentetaz inhibisyonunun atlanması ve geranilgeranilasyonu restore eden isoprenoid lipit substratı ile yenileyici hücreler aracılığıyla N-BF'in osteoklast formasyonu apoptozis ve kemik rezorpsiyonu üzerine etkilerinin üstesinden

gelinebilmesiyle ispatlanmıştır (23, 24). Buna ek olarak statinler veya GGTI-298 gibi protein geranilgeranilasyonunun diğer inhibitörleri de bifosfonatlara benzeyen etkiler göstermiştir (25,26). Fakat Van Beek ve ark. pamidronatın osteoklast molekülleri üzerine henüz tanımlanamayan fakat farklı bir hedefi olduğunu bildirmişlerdir, çünkü yenileyici hücreler ve protein prenilasyonu için verilen substrat ile pamidronatın antirezorptif etkisinin üstesinden gelinememektedir (27).

N-BF'ın tümör hücrelerinin survival, proliferasyon, adhezyon, migrasyon ve invazyonunu azalttığı birçok çalışmada in vitro olarak gösterilmiştir (28,29). Bisfosfonatların anti-tümör etkilerinin birçoğu FPP sentetaz inhibisyonu yolu ile oluşmaktadır, çünkü protein prenilasyonu için gerekli olan isoprenoid substratları (Farnesol veya Geranilgeraniol) ile yenileyici hücreler bu etkilerin üstesinden gelebilmektedir (30, 31). Bunun yanı sıra N-BF'ın tümör hücrelerinin adezyon ve invazyonunu etkilemedeki yapı-aktivite ilişkisi FPP Sentetaz inhibisyonundaki yapı-aktivite ilişkisi ile benzerdir (32, 33). Bazı N-BF'ın in vitro olarak endotelial hücrelerin yaşayabilirlik, migrasyon ve aktivitelerini etkilediği ve bu etkilerden bazılarının geranilgeranil pirofosfatlı yenileyici hücrelerle geri dönüştürülebildiği dolayısıyla etkilerinin protein prenilasyonu yolu ile oluştuğu gösterilmiştir (34, 35). Fare modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda N-BF'ın iskeletsel metastazları veya kemikteki tümör yığılmasını azaltabildiği bununla birlikte ekstra-iskeletsel bölgelerde de etkili olabildiği gösterilmiştir (29, 35, 36). Bisfosfonatların deneysel modellerde ve tümörögenезisli hayvan modellerinde anjiogenezisi inhibe edebildiği (29, 37, 38) ve kanser hastalarındaki platelet-derive büyüme faktörü ile proanjiogenik vasküler endotelial büyüme faktörünün sirkulasyon seviyelerini azaltabildiği gösterilmiştir (39, 40). Fakat N-BF'ın tümör, endotel veya makrofaj gibi diğer hücrelere direk internalizasyonunun protein prenilasyonu yolu ile olup olmadığı açık bir şekilde belirlenememiştir. N-BF'ın iskeletsel metastazlara kemikteki tümöral yığılmalara hatta anjiogenezise etkisi tek başına kemik rezorpsiyonunun inhibisyonu etkisiyle de olabilir (41, 42).

Bisfosfonatların etki mekanizmasını anlamak için bisfosfonatların osteoblastlar üzerindeki etkilerini de incelemek gerekir (43). Bisfosfonatlar osteoklast diferansiyasyon faktörlerinden olan reseptör aktivatör nükleer faktör κ B ligand (RANKL) salgılanmasını etkilerler (44). Osteoblast prekürsör hücrelerinden salgılanan RANKL osteoklast ve osteoklast prekürsörlerinden salgılanan RANK

reseptörlerine bağlanır (45,46). RANKL osteoklastların multinükleer hücelere füzyonu, aktivasyonu ve diferansiyasyonu için gereklidir (47). RANKL' in etkisi RANKL için antagonist reseptör olarak etki eden ve kemik rezorpsiyonunu önleyen osteoprotegerin tarafından bloke edilir. Osteoprotegerin osteoblastlar tarafından salgılanır ve tümör nekroz faktör (TNF) reseptör familyasındandır (48).

Bisfosfonatlar kimyasal yapıları ve moleküler etki mekanizmalarına göre iki gruba ayrılırlar. Basit bisfosfonatlar osteoklast apoptozis indüksiyonu ile sonuçlanan osteoklastlarda intrasellüler olarak biriken nonhidrolize ATP analoglarına metabolik olarak inkorpore olurlar. Nitrojen içeren bisfosfonatlar ise daha potent olup mevalonat yolundaki FPP sentetaz inhibisyonu yolu ile etki gösterirler. Osteoklastlardaki bu enzimin inhibisyonu küçük GTPaz sinyal proteinlerinin prenilasyonu için gerekli olan isoprenoid lipidlerinin biosentezini önler. FPP sentetaz inhibisyonu in-vivo olarak yan etkilerden in-vitro olarak anti-tümör etkilerden sorumlu gözükmemektedir. Birçok hayvan modelinde N-BF' in anti-tümör aktiviteleri gösterilmiş olsada bu etkilerin direkt olarak tümör hücreleri, endotelyal hücreler veya diğer nonosteoklast hücrelerin protein prenilasyonu yolu ile olup olmadığı in vivo olarak doğrulanmalıdır (12). Bunun yanı sıra bisfosfonatların osteoklastik kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir. Fakat osteoblastlara in vitro etkilerinin mekanizması osteoklastlara olan etkileri kadar net açıklanamamıştır. Bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.2.4 İbandronat (İbandronik Asit)

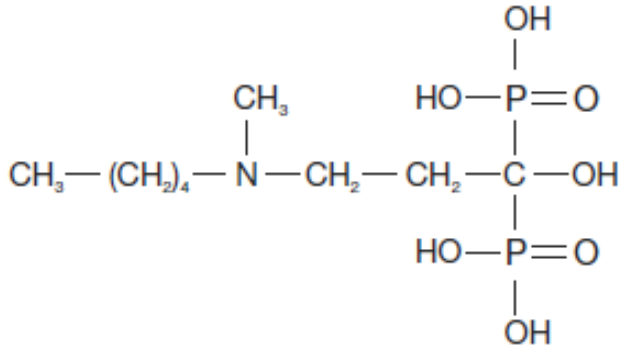
İbandronat sodyum osteoklastla ilişkili kemik rezorpsiyonunu önleyen 3. jenerasyon nitrojen içeren bisfosfonattır. İbandronat sodyumun kimyasal ismi 3-(*N*-methyl-*N*-pentyl)amino-1-hidroksopropan-1,1-difosfonik asit, monosodyum tuzu, monohidrattır. Moleküler formülü $C_9H_{22}NO_7P_2Na \cdot H_2O$ dur (49).

İbandronatın diğer bisfosfonatlarla karşılaştırıldığında yüksek bir antirezorptif etkinliği olduğu görülmüştür. Bu etkinlik kemik rezorpsiyonun inhibisyonu için gerek duyulan dozun minimal olmasıyla açıklanır.

İbandronat R_1 yan zincirinde iskeletsel yapışmanın kuvvetini arttıran ve hidroksiapatit kristal büyümesini önleyen hidroksil grubu içerir (50). R_2 yan zinciri antirezorptif potansiyelin major belirleyicisidir (51). R_2 yan zincirinde ibandronat en potent yan zincirlerden biri olan tersiyer nitrojen grubu içerir. Yapısal özelliğinden dolayı ibandronat sırasıyla risedronat, alendronat, pamidronat ve klodronattan 2, 10, 50 ve 500 kat daha potent bulunmuştur (52), (Şekil 2.6).

İbandronat osteoklastla ilişkili kemik rezorpsiyonunu mevolonat yolundaki (HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A) olarak da bilinen) FPP sentetaz inhibisyonu ile sağlar (14, 53). FPP sentetaz inhibisyonu normal osteoklast fonksiyonu için gerekli olan küçük GTP bağlayıcı proteinlerden olan rho, ras veya rab prenilasyonunu bozar. Bu inhibisyon osteoklast sito-iskeletsel düzenlemesini membran dalgalanmasını ve varlığını sürdürmesini etkiler.

İbandronatın farmakokinetiği incelendiğinde oral uygulamalardan sonra gastrointestinal sistem tarafından zayıf absorpsiyona uğradığı görülmüştür. Dolaşıma girdikten sonra ilacın % 40 -% 60' ı kemik yüzeyine sıkıca bağlanır ve geri kalan miktarı değişime uğramadan böbrekler yoluyla atılır. İbandronat metabolize edilmez ve sistemik dozlarda yumuşak dokuya bağlanması % 2' den azdır. Protein bağlanması azdır ve major sitokrom p450 izoformlarının inhibisyonu veya indüksiyonuna neden olmaz. Bu sebeple ilaç ilaç etkileşimleri görülmesi olasılığı azdır (54).



Şekil 2.6 : İbandronat sodyumun yapısal formülü

İbandronatın meme kanserinde ve kemik metastazında iskeletsel olayları önlemede ve malignansilere bağlı hiperkalsemilerin tedavisinde kullanılması (Amerika Birleşik Devletleri dışında), Post-menapozal osteoporozun önlenmesinde ve tedavisinde kullanımı Avrupa Birliği ve Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylanmıştır (55).

İbandronik asit onkolojik endikasyonda hem intravenöz (6mg/kg her 3-4 haftada 1 : 60 dakika infüzyon zamanı), hem de oral formulasyon (50 mg günlük) olarak kullanılabilir. Bunların haricinde bir de yükleme dozu vardır; (6mg 3 gün peşpeşe infüzyon) kreatinin klerensi >50mL / dakika olan hastalarda 15 dakika üstünde infüzyon gerektirir (55). Ayrıca vertebral ve vertebral olmayan kırıklara etkinliği, kalça ve omurgalardaki kemik mineral dansite kazanımları ve kemik rezorpsiyonunun premenopozal seviyelere redüksiyonu açısından karşılaştırıldığında günlük oral ibandronata eşit hatta daha üstün terapötik etkinliği saptanmış olan post menopozal osteoporoz tedavisinde kullanılabilecek ilk aylık oral bisfosfonattır (54).

İbandronat tedavisinin metastatik kemik hastalığı bulunan hastalarda potansiyel yararlanımı multifaktoriyeldir. Preklinik data, klinik denemeler, pazarlama sonrası gözetim gelecekte ibandronat reçete etme kararının sadece etkinlik değil birçok faktöre bağlı olacağını düşündürmektedir. İbandronat iskeletle ilişkili olayları ve kemik ağrılarını azaltmakta ve yaşam kalitesini arttırmakta etkilidir ve bu etkiler renal güvenliği riske etmeden edinilmektedir. Bunun yanı sıra ibandronatın erken uygulamaları kemik lezyonu gelişimini, tümörle ilişkili anjiyogenezis ve tümör hücre proliferasyonunu azaltabilir (55).

3 adet faz 3 klinik denemede oral ve i.v ibandronatın karşılaştırılabilir etkinliği bulunmuştur. İskeletle ilişkili olayların gelişmesinde ve kemik ağrısında kayda değer risk azalması oluşturmıştır. Bunun yanı sıra oral ibandronatın i.v zolendronik asite göre kemik turnover markerlarının azalmasındaki etkinliği istatistiksel olarak daha az bulunmamıştır. Standart doz ibandronatın uzun dönem denemelerde kemik ağrısını azalttığı ve ibandronatın yükleme dozunun infüzyondan sonraki birkaç günde kemik ağrısını hızlı ve anlamlı bir şekilde azalttığı bilinmektedir (55).

Preklinik çalışmalarda renal fonksiyonun ibandronat ile korunduğu, 4 yıllık takip süresi olan bir çalışmada ibandronatın daha önceden var olan renal yetersizliği olan hastalarda bile renal sağlığı koruduğu, hatta ibandronatın ciddi renal hasarı olan hastalarda kullanılabilecek tek bisfosfonat olduğunu bildirilmektedir (56).

Klinik çalışmaların yanı sıra ibandronatın klinik kullanımına ilişkin datalar artık oluşturulmaktadır. Retrospektif bir çalışmada i.v zolendronik asitin i.v ibandronik asite göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla renal hasar oluşturduğu gözlemlenmiştir (57). Zolendronik asitle tedavi edilirken renal fonksiyonlarında gerileme görülen hastaların ilacı ibandronik asite çevrildiğinde renal fonksiyonların artan bir trend yakaladığı görülmüştür (58).

Sonuç olarak ibandronat, metastatik kemik kanseri olan hastalarda iskeletsel bütünlüğü, renal fonksiyonları korur, olumlu bir güvenlik profili vardır ve hızlı bir şekilde kemik ağrılarını azaltabilir. Fiyat-fayda analizi yapan iki çalışmada oral ibandronatın metastatik meme kanserli hastalarda fiyat-efektifliğinin i.v zolendronik asite göre daha iyi olduğu bulunmuştur (59, 60). İntravenöz ibandronik asit için fiyat-fayda datası bulunmamaktadır; fakat infüzyon süresinin kısalmasının fiyatı etkileyeceği ve 15 dakikalık ibandronat infüzyonlarının infüzyon merkezlerindeki hasta akış hızını arttıracığı ve hastalar için çok daha kolay olacağı düşünülmektedir (55).

2.3 Metastatik Kemik Hastalıkları ve Bisfosfonat Tedavisinin Rolü

Metastatik meme, prostat veya akciğer gibi sık görülen kanserlerde hastaların yaklaşık % 80' inde metastaz yeri kemiktir (61, 62). Metastatik kemik hastalığı sıklıkla osteoklast ve dolayısıyla osteoblast regülasyonunun artmasıyla sonuçlanır ve bu da hatırı sayılır morbidite, kemikte ağrı, azalmış mobilizasyon, patolojik kırıklar, malignansilere bağlı hiperkalsemiler ve spinal kord veya sinir kökü kompresyonlarına yol açar (63, 64).

Kemik metastazları genellikle predominant olarak osteolitik (kemiği parçalayan örneğin: meme ve akciğer kanseri) veya osteoblastik (kemik oluşturan örneğin: prostat kanseri) olabilir, bazen de mikst olarak görülür (65). Osteolitik metastazlar tipik olarak osteoklast aktive edici faktörlerin regülasyonlarındaki artmayla oluşur. Bu aktive edici faktörler kemik mikroçevresinden predominant olarak tümör hücreleri tarafından salınan paratiroid hormonla ilişkili peptidi içerir (PTHrP). Bunun tersi olarak osteoblastik metastazlar invaziv tümör hücrelerinin ürettiği büyüme faktörleri ile oluşur. Osteoblast proliferasyonu ve diferansiyasyonunu stimule eden fibroblast büyüme faktörü ve kemik morfogenetik proteinleri salınır. Fakat bunun yanısıra insan meme kanserinin hayvan modelinde taklit edildiği bir çalışmada osteoblastik metastazın predominant gelişiminde osteolitik başlangıcın olduğu bulunmuştur (65, 66). Bu durum kemik remodeling prosesindeki kemik rezorpsiyonu ve formasyonu arasındaki multifaktöriyel etkileşim gözönünde bulundurulduğunda çok da şaşırtıcı bir durum değildir. Ayrıca bu durum osteoklastla ilişkili kemik rezorpsiyonu inhibitörlerinin osteolitik aktivite sonrası görülen osteoblastik metastazların tedavisinde de etkili olabileceğini göstermektedir.

Kemik metastazlarının gelişimi genellikle “habis döngü “ olarak tanımlanır (65). Kemik mikroçevresinde bulunan birçok tümör hücresi osteoklastik aktiviteyi stimule eder (PTHrP). Osteoklastla ilişkili kemik rezorpsiyonu süresince kemikte depolanmış olan büyüme faktörleri salınır (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF) ve Transforming Büyüme Faktörü – β (TGF- β)). Bu faktörler metastatik kanser hücrelerinin yaşamasını, proliferasyonunu ve tümör hücrelerinin osteoklast aktive edici faktörler salgılamasını stimule eder. Sonuç olarak osteoklast aktivitesi artar ve bu artış

osteolizin kendini yenileyebilen döngüsüne yol açar ve kemik destruksiyonu ve tümör büyümesine sebep olur.

Kanserle ilişkili kemik ağrısının altında yatan mekanizma tam olarak anlaşılamamış olsa da hayvan modellerinden elde edilen bilgiler hem hastalığın indüklediği osteolizin hem de tümörün kendisinin kemik ağrısı oluşumuna katkı yaptığı ve kemik destruksiyonunun sinir fiberlerinde kompresyona veya nöronal sentisizasyona yol açtığı düşünülmektedir (67).

Bazı analjeziklerle bu ağrının azaltılması mümkün olsa da genelde metastatik kemik hastalıklarında tedavinin ana basamağını bisfosfonatlar oluşturmaktadır (63, 68, 69). Güncel öneriler bisfosfonat tedavisi başlatıldıktan sonra hastanın genel durumunda hatırı sayılır bir iyileşme görülene kadar devam edilmesi gerektiğini bildirmektedir (68, 70); ancak metastatik meme kanserli birçok hastada hastalık ağrısız bir süreç içerdiğinden iskeletsel komplikasyonların tedavisi uzun dönem etkinlik ve güvenilirlikte olmalıdır (71, 72). İlerlemiş meme kanseri ve klinik olarak kemik metastazı bulunup bisfosfonat kullanan kadınlarda yapılan randomize çalışmada bisfosfonatların plasebo veya bisfosfonat kullanmayan gruplarla karşılaştırıldığında iskeletsel olayların gelişme riskini düşürdüğü ve ilk iskeletsel olay gelişme süresini uzattığı, kemik ağrısını azaltıp hayat kalitesini arttırdığı rapor edilmiştir (73).

Kemik metastazlı meme, prostat ve diğer kanserleri içeren hastalarda yapılan daha geniş randomize klinik derlemede bisfosfonat tedavisinin kırık oranını, palyatif radyoterapi gereksinimini ve hiperkalsemileri azalttığı gösterilmiştir (74). Günümüzde onkolojik endikasyonlarda 4 adet bisfosfonat (klodronat, pamidronat, zolendronik asit, ibandronik asit) kullanılmaktadır (Tablo 2.1).

	Klodronat (Bonefos[®], Ostac[®])	Pamidronat (Aredia[®])	Zolendronik Asit (Zometa[®])	İbandronik Asit (Bondronat[®])
Formulasyonu	Oral tablet (Nadiren i.v.)	i.v infüzyon	i.v infüzyon	Oral tablet veya i.v infüzyon
Uygulama Süresi (i.v)	2-4 saat	>2saat	≥ 15 Dakika	15-60 Dakika
Doz Rejimi	Oral : 1600 mg/gün Aralık : 800–3200 mg/gün(maksimum); i.v. 900 mg her 3–4 haftada 1	90 mg i.v. Her 3–4 Haftada 1	4 mg i.v. Her 3–4 haftada 1	6 mg i.v. Her 3–4 Haftada 1 Oral: 50 mg/gün
Endikasyonu	Meme Kanserine bağlı MKH, Multiple Myeloma, MBH	Meme Kanserine bağlı MKH, Multiple Myeloma, MBH	Meme, prostat, akciğer ve diğer solid tümörlere bağlı MKH, Multiple Myeloma, MBH	Meme Kanserine bağlı MKH, MBH

*Klodronat değişik ülkelerde farklı isimlerle de bulunmaktadır, MKH = Metastatik kemik hastalığı, MBH= Malignansilere bağlı hiperkalsemi.

Tablo 2.1 : Onkolojik uygulamalarda klinik kullanımı mevcut olan bisfosfonatlar

2.4 Bisfosfonatlar ve Osteonekroz:

Amerikan Kemik ve Mineral Araştırma Derneği (AKMAD) Bisfosfonatlarla ilişkili Çene Kemiği Osteonekrozu (BİÇÖ)' nu; "kraniyofasiyal bölgeden radyoterapi almamış olup bisfosfonat tedavisi gören hastalarda maksillofasiyal bölgede bir doktor tarafından teşhisi konulduğu andan itibaren 8 haftada iyileşmeyen ekspoze kemik varlığı" olarak tanımlamaktadır. 8 haftalık zaman periyodu travma, diş çekimi ve oral cerrahi prosedürler sonrası yumuşak doku kapanmasının tamamlanması ve ekspoze kemik varlığının olmaması için yeterli süre olarak görülmektedir. Lezyonun birden ortaya çıktığı veya ne zaman başladığı bilinmeyen durumlarda 8 haftalık sürenin lezyonun bir doktor tarafından dökümanite edildiği anda başlatılması önerilmektedir (75).

Şüpheli olarak görülen BİÇO vakaları “kraniyofasiyal bölgeden radyoterapi almamış olup bisfosfonat tedavisi gören hastalarda maksillofasiyal bölgede bir doktor tarafından teşhisi konulduğu andan itibaren 8 haftadan daha az bir süredir var olan ve iyileşmeyen ekspoze kemik varlığı” olarak tanımlanmaktadır. Şüpheli BİÇO vakalarında takip önemlidir. BİÇO ve şüpheli BİÇO vakalarında ekspoze kemik varlığına ek olarak bazı semptomlar görülebilir.

Bisfosfonatla ilişkili çene kemiği osteonekrozu vakalarında ve şüpheli vakalarda ağrı, şişlik, parestezi, süpürasyon, yumuşak doku ülserasyonu, intra veya ekstraoral açıklıklar, dişlerin kaybı, radrografik çeşitlilik (hiçbir radyografik bulgu olmamasından radyolüsensi veya radyoopasitelere kadar değişen) gibi ek semptomlar görülebilir.

AKMAD bu bulguların ekspoze kemik varlığı olmadan tek tek veya bir arada bulunması durumunda BİÇO teşhisi koymak için yeterli olmayacağını bildirmiştir. Fakat bu bulgular hastalığın erken evrelerini oluşturabilir (75).

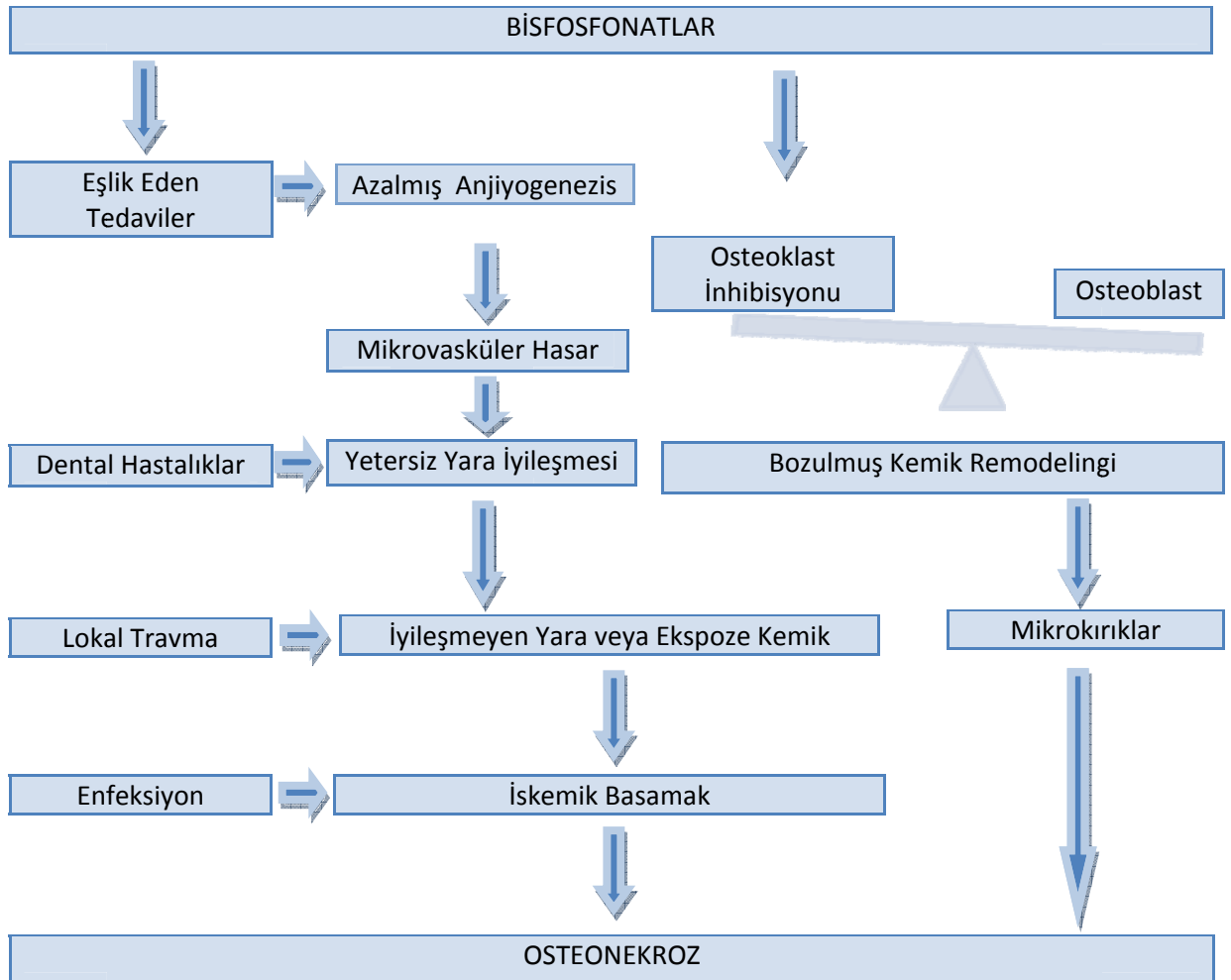
BİÇO’ nun ayırıcı tanılarında periodontal hastalıklar, gingivitis, mukozitis, enfeksiyöz osteomyelit, temporomandibular eklem hastalıkları, çürüklerin oluşturduğu periapikal patoloji, osteoradyonekroz, nevralji ile görülen kavitasyonel osteonekroz ve kemik tümörleri veya metastazları göz önünde bulundurulmalıdır (75).

Çenelerde görülen osteonekroz tarihinde ilk olarak beyaz fosforla ilişkili endüstrilerde çalışan işçilerde görülmüştür fakat sosyoekonomik koşulların iyileştirilmesi ve beyaz fosforun yasaklanması ile bu durum ortadan kalkmıştır (76). Daha sonra da radyoterapi ve kemoterapi alan hastalarda osteoradyonekroz olarak görülmüştür. Osteoradyonekrozlar hiperbarik oksijen tedavisi ve cerrahi tedaviye yanıt verirlerken BİÇO da durum farklıdır (77).

Bisfosfonatla ilişkili çene kemiği osteonekrozunu ilk tanımlayan 2003 yılında Marx ve ark. oldu. Marx ve ark. multiple myeloma, metastatik meme kanserine bağlı hiperkalsemi tedavisi ve osteoporoz tedavisi için pamidronat ve zolendronik asit kullanan 36 hastada görülen çene kemiği osteonekrozunu yayınladı (78). Bu yayından hemen sonra Ruggiero ve ark. 63 vaka içeren daha büyük bir seriyi

yayınlandı (79). Her sene artan sayıda vaka bildirimleri yayınlanmaya devam etmektedir.

Bisfosfonatların çene kemiğinde yol açtığı osteonekrozun patofizyolojisi tam olarak açıklanamamıştır. Fakat birçok çalışmada kemik remodelinginin bozulması, daha önceden var olan dental hastalıklar, lokal travma, kanser tedavileri, azalmış anjiyogenezis ve bozulmuş kemik mikroçevresinin yol açtığı enfeksiyon gibi multifaktöriyel etyolojiden bahsedilmektedir (80, 81, 82), (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 : Fizyolojik kemik remodelinginin ve anjiyogenezisinin potent bisfosfonatlarla inhibisyonu sonucu kemiğin rejeneratif kapasitesinin bozulması ve osteonekroz oluşumu

Çene kemikleri insan vücudunda dış çevre ile sürekli kontakt halinde olan tek kemiklerdir ve dişler ve çiğneme kuvvetleri aracılığıyla sürekli mikrotravmaya uğramaktadırlar. Alveolar prostesteki kemik turnoverının uzun kemiklere göre 10 kat fazla olduğu bilinmektedir. Bisfosfonat uygulamalarının bu turnoverı bozması olası etkenlerdendir (75).

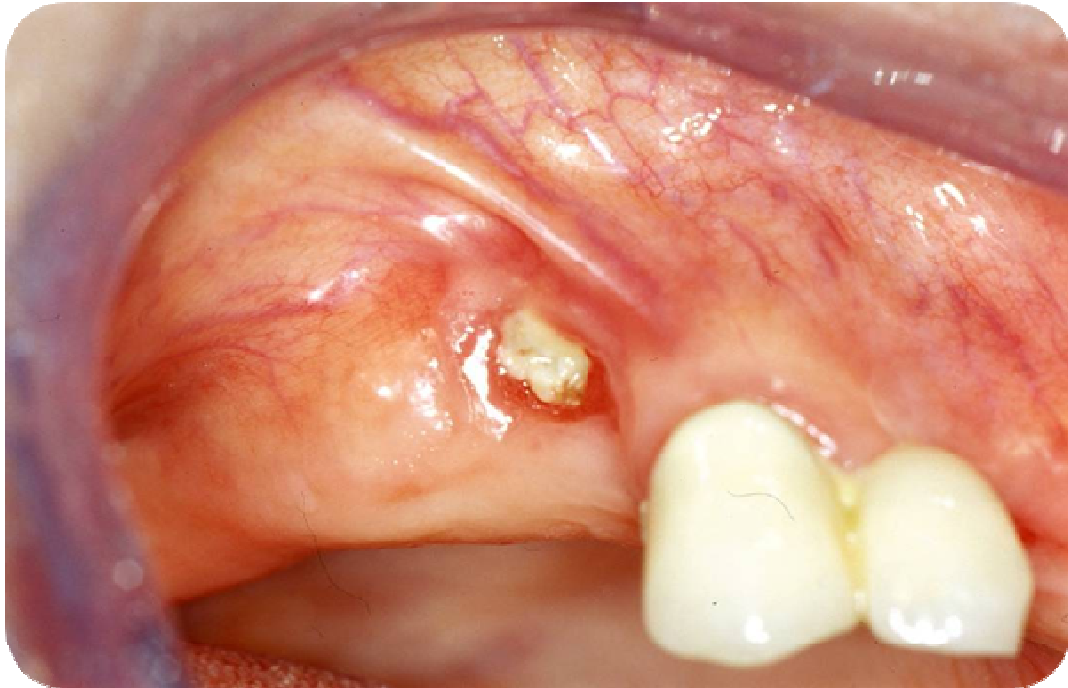
Her ne kadar BİÇÖ vakalarının % 25'inin kendiliğinden oluştuğu rapor edilmiş olsa da lokal cerrahiler, diş çekimi ve protez kullanımının en önemli risk faktörlerinden olduğu bildirilmiştir (83). Bu tür bir dental prosedür BİÇÖ teşhisi konulan hastaların %65-70'inde retrospektif olarak belirlenmektedir (84). Bu gözlem alveolar kemiğin rejeneratif kapasitesinin, osteoblastlar ile osteoklastlar arasındaki hassas etkileşimin bozulması ile riske atılmış olduğu teorisini düşündürmektedir.

Dental komorbiditeler tüm vakaların yaklaşık % 30'unda görülmektedir ve korunma için önemli hedeflerdir. Marx ve ark. BİÇÖ vakalarında periodontitis (%84), çürük (% 29), dental apse (% 13), önceden yapılmış kanal tedavisi (% 11) veya mandibular torus gibi anatomik varyasyonlar rapor etmişlerdir (83).

Woo ve ark.'nın yayınladığı 368 vaka raporunu içeren sistematik derlemede BİÇÖ'nün mandibulada görülme oranı % 65 maksillada % 26 ve her iki çenede birden görülme oranı ise % 9 olarak rapor edilmiştir (85), (Resim 2.1,2.2). Vakaların yaklaşık olarak üçte biri ağrısız olarak rapor edilmiştir (83, 85). Kadın: erkek oranı 3:2 olarak bildirilmiştir. Maksillada mandibulaya göre multifokal veya bilateral görülme sıklığı daha fazla bulunmuştur (sırasıyla % 31 ve % 23). Vakaların çoğu posterior lingual mandibulada mylohyoid sırtı yakın olarak görülmüştür. Vakaların % 60'ı diş çekimi veya diğer dentoalveolar cerrahi prosedürleri takiben görülürken, geriye kalanlar kendiliğinden oluşmuştur. Lokal travmanın muhtemel etkenlerinden dental protez kullanımı da diş çekiminden sonra ikinci sırada gelen etken olarak görülmektedir (85). Marx ve ark. kendiliğinden oluşan BİÇÖ vakalarının % 39'unun kolaylıkla travmatize olabilen kemik ekzostozlarında lokalize olduğunu bildirmiştir (83). Bunun yanı sıra bisfosfonat kullanımıyla ilişkilendirilen implant kaybını bildiren bir vaka raporu bulunmaktadır (86). Birçok hasta intravenöz bisfosfonatlarla (% 94) tedavi görmekte iken (pamidronat ve zolendronik asit) geri kalanları osteoporoz ve paget hastalığı tedavisi için oral bisfosfonatlarla tedavi görmektedir (79, 83, 85).



Resim 2.1 : Multiple myeloma hastalığı sebebiyle kemoterapi ve zolendronik asit ile tedavi gören 70 yaşında kadın hastada görülen BİÇO



Resim 2.2 : Multiple myelomaya bağlı olarak 2.5 yıldır zolendronik asit tedavisi gören 64 yaşındaki kadın hastada premolar diş çekimi sonrası maksilla da görülen BİÇO

Klinik olarak intraoral lezyonlar pürüzsüz veya pürüzlü yüzeyli ekspoze sert kemik alanları olarak görülürler. Pürüzlü kemik sınırları üzerindeki yumuşak dokularda ağırlı ülserler görülebilir.

Radyografik değerlendirmede erken dönemde bir değişiklik görülmeyebilir, fakat bazı araştırmacılar periodontal ligamanların genişlemesi gibi kronik periodontal enfeksiyondan ayırt edilemeyen, ilk bakışta görülmesi zor olan değişiklikler rapor etmişlerdir (83). Daha ileri vakalarda güve yeniği görüntüsü radyopak sekestr içeren veya içermeyen kötü sınırlı radyolüsensiler görülebilir. Ruggiero ve ark.'nın 63 vakayı içeren serisinde 5 vakada patolojik çene kırıkları görülmüştür (79).

Ekspoze kemik kültürlerinde aktinomiçes türleri izole edilebilir fakat aktinomiçesler dental florada sık rastlanan komponentler olduğundan durumun gerçek süpüratif bir enfeksiyon mu yoksa sadece yüzey kolonizasyonu mu olduğunun ayırımı dikkatli bir şekilde yapılmalıdır.

BİÇÖ vakalarında iyonize radyasyon tedavisi sonrası görülen osteoradyonekroza benzer tablolar görülebilir ve osteoradyonekroz da sıklıkla diş çekimi sonrası görülür. Osteoradyonekrozun maksillada görülme sıklığı çok azdır ve erkekler kadınlara göre daha fazla etkilenir (87, 88).

BİÇÖ gelişiminde en önemli faktörler kullanılan bisfosfonatın tipi, total dozu ve travma, dental cerrahi veya dental enfeksiyon hikayesidir. BİÇÖ hastalarının % 94' ünün pamidronat veya zolendronik asit tedavisi gördüğü bildirilmektedir. Onkolojik endikasyonlarda kullanılan bisfosfonat dozları osteoporoz için kullanılan dozlardan 10-12 kat daha fazladır (89).

Zolendronik asitle tedavi gören hastalarda BİÇÖ görülme riski diğer ilaçlarla tedavi görenlere göre daha fazladır ve zamanla artmaktadır. Bunun sebebi ilacın uzun yarılanma ömrü olabilir. Oral lezyonlar bisfosfonat tedavisinden sonra 4 ay gibi bir sürede gelişebilmektedir. İlaçların kullanım süreleri 22 aydan 39 aya kadar değişen ortanca süreler ve 9 aydan 14 aya kadar değişen ortalama süreler içermektedir (83, 90, 91).

Zolendronik asitle tedavide kümülatif risk ilk 1 yılda % 1 iken 3. yılda % 21 ve pamidronatla ve zolendronik asitle başlanıp pamidronatla devam edilen tedavilerde ilk yılda % 0 iken 3. Yılda % 4 olarak öngörülmektedir (90). Bir başka çalışmada zolendronik asitle tedavi gören 211 hastanın % 10' unda BİÇO görülürken pamidronatla tedavi gören 413 hastanın % 4' ünde BİÇO görülmüştür (92).

Uluslararası Myeloma Kuruluşunun 904' ü multiple myeloma ve 299' u meme kanseri hastası olmak üzere 1203 hastada yaptığı web tabanlı bir araştırmada myeloma hastalarının % 7' sinde ve meme kanseri hastalarının % 4' ünde osteonekroz rapor edilirken, myeloma hastalarının % 6' sında, meme kanseri hastalarının da % 8' inde şüpheli osteonekroz lezyonları teşhis edilmiştir (92). Tek merkezde yürütülen ve intravenöz bisfosfonatlarla tedavi gören 252 hastayı içeren başka bir çalışmada 111 multiple myeloma hastasının % 10' unda ve 46 meme kanseri hastasının % 3' ünde osteonekroz gelişmiştir (90).

Osteoporoz tedavisi için günde 10 mg alendronatla tedavi gören hastalarda BİÇO görülen birkaç vaka raporu bulunmaktadır (79, 83, 93). Kadınlarda yaşla birlikte alendronat ve ibandronat gibi osteoporoz tedavisi için kullanılan ilaçların kullanım süresi arttıkça vaka raporlarının sayısının artacağı endişesi bulunmaktadır. Osteonekrozların neredeyse tamamından aminobisfosfonatlar sorumlu tutulsa da literatürde nitrojen içermeyen disodyum klodronatın oral kullanımından sonra görülen ağrılı, pürülan akıntılı ve ekspoze kemik içeren BİÇO vakası yayınlanmıştır (94).

Multiple myeloma hastaları protrombotik hastalardır ve bisfosfonat tedavisinin yanında glukokortikoidler, talidomid gibi diğer anti-anjiyojenik ajanlarla ve bortezomib gibi yeni proteazom inhibitörleriyle tedavi görmektedirler (95,96). Bu ajanların osteonekroz gelişimi bakımından risk faktörü oluşturup oluşturmadığıyla ilgili çelişkiler vardır. Kortikosteroid ve talidomidin osteonekroz için risk faktörü oluşturmadığını savunan makaleler mevcutken (90,92); multiple myeloma hastalarında kullanılan deksametazonun osteonekroza sebep olduğunu ve anjiyogenezis inhibitörü olan talidomidin osteonekroz açısından potansiyel bir risk faktörü oluşturduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (97, 98).

Bunların dışında sigara kullanımı gibi lokal faktörler ve diyabet, periferik vasküler hastalıklar gibi tıbbi durumların osteonekroz üzerindeki etkilerinin de araştırılması gerekmektedir. Diyabet bozulmuş yara iyileşmesi, dokulardaki hipoksi, azalmış kemik turnover ve remodelingiyle osteoblast ve osteositlerin apoptozis indüksiyonuyla ilişkilidir (99, 100). Bir çalışmada BİÇO hastalarında % 58 oranında görülen diyabet ve bozulmuş glukoz toleransı rapor edilmiştir (101).

2.4.1 Bisfosfonatla ilişkili Çene kemiği Osteonekrozunda Tedavi Seçenekleri

Bisfosfonatla ilişkili çene kemiği osteonekrozu vakalarının tedavisinde yayınlanmış olan birçok yöntem bulunmaktadır. Fakat bu yöntemlerin hiçbirisi kesin tedavi şekli olarak kabul edilmemektedir. Günümüzde BİÇO hastalarına tedavi yaklaşımında kabul gören ve AKMAD tarafından da önerilen en önemli uygulama hastaları 3 gruba ayırmaktır.

1. Grup: Osteoporoz hastaları veya diğer malign olmayan kemik hastalıkları sebebiyle bisfosfonat tedavisi gören veya bisfosfonat tedavisine başlayacak olan hastalar :

Osteoporoz ve paget hastalığında rutin dental tedaviler esnasında BİÇO gelişme riskinin 1/10000 ile 1/100000 arasında değişen düşük bir oranda olduğu konusunda hastalar bilgilendirilmelidir.

Bu konuda endişe duyan hastalar konuyla ilgili bilgi sahibi olan diş hekimlerine yönlendirilmelidir. Hastalar iyi bir oral hijyene sahip olmaları ve rutin dental muayene ve gitmeleri konusunda uyarılmalıdır.

BİÇO gelişimi bisfosfonatların kullanım süresinin uzunluğuyla ilişkili olduğundan ve risk az olduğundan dolayı oral bisfosfonat tedavisi başlamadan önce dental muayene gerekli değildir.

Üç yıldan uzun süredir oral bisfosfonat kullanan hastalarda periodontal hastalık varlığında cerrahi olmayan tedavi uygulanması önerilmektedir. Eğer cerrahi tedavi

gerekliyse ilk amaç periodontal hastalığı elimine etmek veya azaltmak olmalıdır. Kemik konturlarının düzeltilmesi işlemleri gerekliyse değerlendirilmelidir.

Güncel bilgiler osteoporoz tedavisi için oral bisfosfonat kullanan hastalara dental implant yerleştirilmesinin kontraendike olmadığını bildirmektedir. Fakat dental implant uygulaması düşünülüyorsa uygun bilgiler içeren konsent form onaylatılması ve dökümantasyon önerilmektedir.

Endodontik tedavi, eğer mümkünse diş çekimine ve periapikal cerrahiye tercih edilmelidir.

İnvaziv dental prosedürler uygulanacaksa bazı uzmanlar bisfosfonat tedavisine işlem öncesinde ve sonrasında belli bir süreyle ara verilmesini önermektedir. Bisfosfonat tedavisine ara verilmesinin dental işlemlerin sonuçlarına etkilerinin pozitif olacağını bildiren herhangi bir data bulunmamaktadır. Fakat bisfosfonatların iskelet sistemi üzerindeki uzun süre retansiyonu göz önünde bulundurulduğunda tedaviye bir süre ara verilmesinin hastanın iskeletsel durumunu olumsuz etkilemeyeceği düşünülmektedir.

Osteoporoz hastalığında i.v bisfosfonat tedavisi uygulaması yeni bir uygulamadır. Fakat i.v bisfosfonat uygulaması ile BİÇÖ gelişimi riskini değerlendirebilecek data bulunmadığından bu riskin oral bisfosfonat kullanımındaki riskle farklı olup olmadığı bilinmemektedir.

2. Grup: Malignant hastalığı olup bisfosfonat tedavisi gören veya bisfosfonat tedavisine başlayacak olan hastalar:

Malignant hastalığı olanlar BİÇÖ gelişimi riskinin % 1 ile % 10 arasında değiştiği hususunda bilgilendirilmelidir (85,102).

İntravenöz bisfosfonat tedavisine başlamadan önce hastalara mümkün olan en kısa zamanda uzman bir diş hekimi tarafından dental muayene yapılmalıdır. Dental değerlendirmeler hastanın klinik ve dental durumu göz önünde bulundurularak bisfosfonat tedavisi boyunca 6 aydan 12 aya varan aralıklarla devam ettirilmelidir.

Eğer hastanın klinik durumu bisfosfonat tedavisini başlatılmasının geciktirilmesine müsait ise invaziv dental prosedürler uygulanabilir ve bisfosfonat tedavisi iyileşme tamamlandıktan sonra başlatılabilir (85). Bisfosfonat tedavisi dental tedavilerle beraber başlatılması gerekiyorsa cerrahi bölgenin tamamen iyileştiğinden emin olacak şekilde hasta dikkatlice takip edilmelidir.

İmplant yerleştirilmesi, torusların düzeltilmesi ve asemptomatik dişlerin çekimi gibi elektif dentoalveolar cerrahi prosedürler önerilmemektedir.

Eğer mümkünse çekim gerektiren semptomatik dişler endodontik veya cerrahi olmayan periodontal tedavilerle ağızda tutulmalıdır. Sadece diş aşırı derecede mobilse ve aspirasyon riski taşıyorsa çekilmelidir. Periapikal veya periodontal cerrahiler önerilmemektedir. Eğer semptomatik bir diş, mevcut ekspoze ve nekrotik kemiğin içindeyse nekrotik durumu daha da alevlendireceği düşünülmendiğinden diş çekimi önerilmektedir.

3. Grup: Bisfosfonatla ilişkili çene kemiği osteonekrozu teşhisi konmuş olan hastalar

Hastalığın tedavisi dental uzmanlar tarafından yapılmalıdır (79,103). Ağrı uygun bir şekilde tedavi edilmelidir.

Vaka uygun bir şekilde ilacın üreticisine ve bilimsel literatüre rapor edilmelidir. Diş hekimleri bisfosfonat kullanan hastalarının tedavisi ve takibi için düzenli olarak yenilenen www.ada.org/prof/resources/topics/osteonecrosis.asp sitesinden faydalanabilirler. Hekimler BİÇO vakalarını www.fda.gov/MedWatch/report.htm internet adresi ile Food and Drug Administration (FDA)' ın oluşturduğu FDA MedWatch programına bildirmelidirler (104,105).

Enfeksiyon kontrolünde: Oral antimikrobiyal gargaralar (% 0.12' lik klorheksidin diglukonat) kullanılabilir. Sistemik antibiyotik tedavisi başlanabilir (79, 85, 91). Kök hücre transplantasyonu düşünülen multiple myeloma hastalarında enfeksiyonun tamamıyla yok edilmesi çok önemlidir. Fakat agresif antibiyotik tedavisine rağmen

bazı hastalarda inatçı enfeksiyonlar ve ekspozite kemik varlığı kalıcı olabilmektedir. Böyle durumlarda transplantasyon işleminin riskleri ve getirileri vaka bazında göz önünde bulundurularak karar verilmelidir.

Cerrahi tedaviler konservatif olmalı veya ertelenmelidir (79, 85, 103). Komşu yumuşak dokulara travmaları önlemek amacıyla sivri kemik duvarlarının alınması önerilmektedir. Sağlam kemiği ekspozite etmeden serbest kemik sekestrlerinin alınması önerilmektedir. Patolojik kırık veya büyük nekrotik kemik segmentleri görülen semptomatik hastalarda segmental çene rezeksiyonları gerekebilir.

Bazı uzmanlar BİÇÖ teşhisi konulmuş vakalarda i.v bisfosfonat tedavisini durdurmayı önermektedirler. Daha önce de bahsedildiği gibi bisfosfonat tedavisini durdurmanın BİÇÖ nun tedavisi olacağını bildiren data bulunmamaktadır. Bu durumda uygulanacak prosedürü hasta bazında değerlendirmek gerekir. Hastanın bisfosfonat tedavisini hangi endikasyonla kullandığı dikkatle incelenmelidir. Eğer hasta agresif iskeletsel metastatik hastalığa bağlı olarak bisfosfonat kullanıyorsa tedaviye devam etmelidir fakat iskeletsel hastalık ılımlı seyrediyorsa veya hasta bisfosfonat tedavisini metastaz gelişimini önlemek için görüyorsa tedaviye ara verilebilir.

BİÇÖ tedavisinde kemikteki turnoverı artıracak paratiroid hormon (PTH) kullanılması tavsiye edilmektedir. Bisfosfonat terapisine ara vererek 6 ay boyunca PTH kullanılması kemikteki turnover oranını gösteren osteokalsin değerinin % 74 artmasını sağlar. PTH osteoklastik aktivitede önemli bir değişiklik yaratmasa da osteonekrozun iyileşmesine katkı sağlar (106).

Hiperbarik oksijen tedavisi bazı araştırmacılar tarafından önerilse de bu tedavinin etkisiz olduğu bildirilmiştir (79).

Beslenme zorluğu çeken ileri derecedeki BİÇÖ vakaları beslenme ihtiyaçlarını diyet takviyeleri ve tüple beslenme gibi oral olmayan beslenme yöntemleriyle sağlayabilirler.

Bisfosfonat konusunun bugüne kadar cevap verilemeyen soruların çözümü için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır. Osteonekrozların bisfosfonatlar dışında diğer

antirezorptif ilaçlarla da oluşup oluşmadığını ve kemik rezorpsiyonun baskılandığı osteopetrozis gibi diğer hastalıklarda çene kemiği osteonekrozu görülüp görülmediği araştırılmalıdır. Hastalarda BİÇÖ riski yaratan; bisfosfonatla tedavi süresi, kullanılan ilaç, doz, uygulama şekli, yaş, cinsiyet, medikal durum, ve bisfosfonatla birlikte alınan diğer medikasyonlar gibi spesifik faktörler aydınlatılmalıdır. Alternatif doz takvimleri oluşturup bisfosfonat dozunu düşürmenin veya sıklığını azaltmanın BİÇÖ gelişimi azaltıp azaltmayacağı ve ilacın yararını düşürüp düşürmeyeceği araştırılmalıdır. Fiziksel muayene, semptomlar, görüntüleme ve diğer parametreler göz önünde bulundurularak BİÇÖ vakalarına evreleme ve dereceleme sistemi getirmek önemlidir. Oral hijyenin sağlanması ve düzenli dental bakımın BİÇÖ gelişimini önleyip önlemeyeceği araştırılmalıdır.

Birçok araştırmacı ve uluslararası birlikler BİÇÖ gelişmiş hastaların tedavileri için metodlar önerse de BİÇÖ görülen hastalar için en iyi tedavi şekli hala kesin tanımlanamamıştır ve tanımlanması gerekmektedir. Bu tanımlamaları doğru yapmanın en etkili yollarından biri de düzgün planlanmış hayvan çalışmaları yapmaktır. Bu çalışmalar bisfosfonatların biyoyararlanımı, biyodağılımını inceleyebilir. Diğer iskeletsel bölgelere göre maksilla ve mandibula kemiklerindeki kemik metabolizmasındaki ve turnoverındaki bölgesel değişiklikleri inceleyebilir. Mandibular ve maksiller kemiğin vaskülarizasyonundaki bölgesel değişimler incelenebilir. Bisfosfonat tedavisi sonrası dişeti-kemik etkileşimleri, farmakokinetik çalışmalar yapılabilir. Değişik hayvan modellerinde farklı cerrahi yöntemler kullanarak bisfosfonat tedavisi sonrası kemik iyileşmesini değerlendirmek ve kemik turnover'ını stimule eden ajanların bu duruma etkilerini incelemek gerekmektedir.

Günümüzde BİÇÖ vakalarının büyük çoğunluğundan zolendronik asit ve pamidronat sorumlu tutulmaktadır. Osteoporoz tedavisinde ve onkolojik endikasyonlarda oral ve i.v olarak kullanılabilen ve de kullanımının zamanla artmasıyla klinik sonuçları yeni yeni bildirilen potent bisfosfonatlardan olan ibandronik asitin diş çekimi sonrası çene kemiğine etkilerini inceleyen hayvan çalışması bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışma ile ibandronik asitin dentoalveolar cerrahi sonrası muhtemel etkileri konusunda bilgi sahibi olunması amaçlanmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında deney hayvanı olarak Spraque-Dawley ırkı, dişi sıçanlar (ortalama vücut ağırlığı $237.72 \pm 19,19$ mg $n=30$) kullanıldı. Deney hayvanları Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi, Üretim Ünitesi'nden temin edildi. Bu çalışma, Başkent Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylandı (proje no: D-DA09/06, onay tarihi: 08/01/2010) ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklendi. Deneysel çalışmalar, son olarak 2008' de güncellenen Helsinki Bildirgesi ile Başkent Üniversitesi Araştırma Merkezi Kurallarına ve Başkent Üniversitesi Deneysel/Klinik Araştırma İlkelerine uygun olarak gerçekleştirildi. Ortama alışmalarının sağlanması için deneysel çalışmalardan 10 gün önce Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi, Araştırma Ünitesi' ne nakledilen sıçanlar, burada, sıcaklığı ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) ve bağıl nemi ($\% .32 \pm 7$) sabit tutulan, havalandırılan ve 12 saat aydınlık / karanlık döngüsü uygulanan deney hayvanı odalarında, standart sıçan kafeslerinde 5' erli gruplar halinde barındırıldı. Deneysel çalışmalar, Araştırma Ünitesi Laboratuvarları'nda ve Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Deneysel çalışmalar süresince, deney hayvanlarına yem ve su kısıtlaması uygulanmadı (ad libitum).

Bisfosfonata bağlı çene kemiği osteonekrozlarının $\% 60'$ a yakının basit diş çekimi veya diğer dentoalveolar cerrahi girişimler sonrasında olduğu ve bunların $\% 65'$ inin mandibulada geliştiği göz önünde bulundurularak, deney hayvanlarının sol mandibular molar dişlerinin çekilmesi planlandı. Sıçanlar rasgele olarak, sayıca eşit olacak şekilde 3 gruba ayrıldı:

1. Grup: İbandronik Asit (0.033 mg/kg, haftada 1 kez, s.c., 6 hafta boyunca, $n=10$)
2. Grup: İbandronik Asit (0.1 mg/kg, haftada 1 kez, s.c., 6 hafta boyunca, $n=10$)
3. Grup: Kontrol Grubu: (distile su, haftada 1 kez, s.c., 6 hafta boyunca, $n=10$)

Tez çalışmasında, sıçanlara uygulanan ibandronik asit dozları, ilacın klinik kullanımda uygulanan dozu esas alınarak, terapötik ve supratherapötik düzeyde

olacak şekilde belirlendi. İlaç uygulamaları bittikten sonraki 5. günde bütün sıçanların sol mandibular molar dişleri çekildi, diş çekiminden sonra, alveolar kemik iyileşmesinin tamamlanması için 8 hafta beklendi. Sıçanlarda herhangi bir cerrahi girişimin veya deneysel işlemin yapılmadığı bu 8 haftalık dönemin sonunda, sıçanlar yüksek doz anestezi madde uygulaması (ketamin, 150 mg/kg, intraperitoneal (i.p.)) ile sakrifiye edilerek, mandibulaları çıkartıldı. Sıçanlardan çıkartılan sol hemimandibulalar yumuşak dokulardan temizlendi ve histopatolojik inceleme için hazırlandı.

3.1 İbandronik Asit Etken Maddesinin Temini

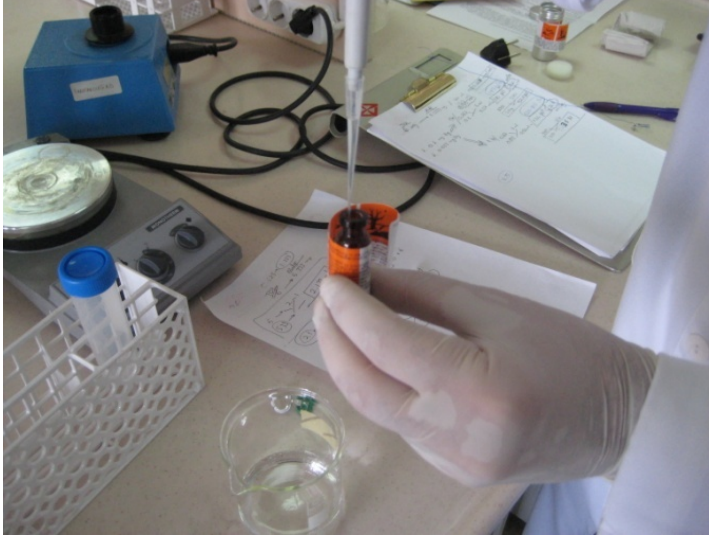
İbandronik Asit etken maddesi, bu tez çalışmasında kullanılmak üzere, üretici firma tarafından hibe edildi (ibandronik asit monosodyum monohidrat tuzu, Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Almanya). 1 g serbest aside eşdeğer 1,125 g ibandronik asit monosodyum monohidrat tuzundan hazırlanan ibandronik asit, üretici firmanın önerileri doğrultusunda enjeksiyonluk çözelti haline getirildi.

3.2 Subkütan Enjeksiyon İçin İbandronik Asit Çözeltisinin Hazırlanması:

İbandronik asit, kanser hastalarında, 2 siklus şeklinde, 3 haftada toplam 6 mg olacak şekilde kullanılır (55). Buna göre, klinikte kullanılan terapötik dozun yaklaşık olarak 0.033 mg/kg/hafta olduğu hesaplanarak, tez çalışmasında, sıçanlara uygulanacak supratrapötik doz 0.1 mg/kg/hafta olarak belirlendi.

Aktif madde olarak 5.3333 mg ibandronik asit içeren 6 mg ibandronik asit monosodyum monohidrat tuzu. 100 ml distile suda çözündürülerek, 0.0533 mg/ml konsantrasyonunda stok çözelti elde edildi (Resim 3.1). Stok çözelti, her biri 10 ml'lik steril deney tüplerine bölünerek, üretici firmanın önerisi doğrultusunda, enjeksiyonların yapılacağı güne kadar buzdolabında saklandı. Kontrol grubuna uygulanan steril distile su da benzer şekilde buzdolabında saklandı. Her hafta, enjeksiyonların yapılacağı gün, stok çözelti ve distile su içeren, birer adet 10 ml'lik tüp buzdolabından çıkartılarak uygun sıcaklığa ulaşınca kadar oda sıcaklığında bekletildi. Ardından ilgili gruplarda sırasıyla 0,033 ve 0,1 mg/kg dozlarında ibandronik asit çözeltisi, toplam 500 mikrolitre hacimde olacak şekilde steril distile su ile

tamamlanarak hipodermik enjektör ile cilt altı yoldan sıçanlara enjekte edildi. Enjeksiyon işleminin yaratacağı strese bağlı olası karıştırıcı etkiyi ekarte etmek amacıyla kontrol grubundaki sıçanlara da 500 mikrolitre hacminde steril distile su yine aynı biçimde ve aynı yoldan enjekte edildi (Resim 3.2, 3.3).



Resim 3.1: İbandronik asitin enjeksiyonluk çözeltisinin hazırlanması: İbandronik asit monosodyum monohidrat tuzunun distile suda çözelti haline getirilmesi

Her hafta başında deney hayvanlarının vücut ağırlıkları tartılarak, uygulanacak dozun standardizasyonu sağlandı.



Resim 3.2: İbandronik asit ve distile su enjeksiyonu : belirlenen dozda enjekte edilecek hacmin hipodermik enjektörlere çekilmesi

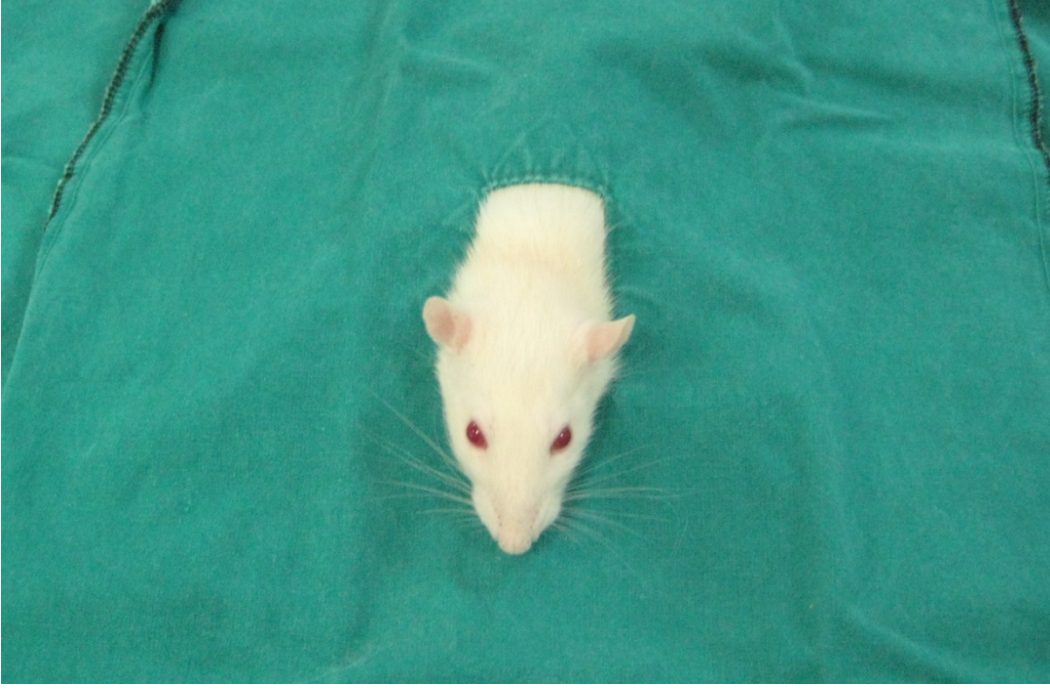


Resim 3.3: Subkütan enjeksiyon işlemi

3.3 Cerrahi İşlemler

Cerrahi işleme başlamadan önce deneklere premedikasyon amacı ile intramusküler 8 mg/kg xylazine enjeksiyonu yapıldı. Anestezi sağlamak amacı ile 50 mg/kg Ketamin intramuskuler olarak enjekte edildi.

Derin anestezi sağlandıktan sonra deney hayvanının operasyon bölgesi dışarıda kalacak şekilde steril örtülerle kapatıldı (Resim 3.4). Diş çekimi yapılacak olan sol mandibular molar bölgedeki dişler küçük Farabeuf ekartörleri ve künt uçlu periost ekartörleri yardımıyla ekarte edilerek açığa çıkarıldı (Resim 3.5). Ucu inceltilmiş 90° açılı özel pensler ile diş çekimi işlemi yapıldı (Resim 3.6). Alveolar mukozada rüpturasyon gözlenen deneklere 6.0 Vicryl suture materyali ile 1 yada 2 adet basit suture atıldı (Resim 3.7). Diğer deneklerin çekim bölgelerine herhangi bir müdahale yapılmadı (Resim 3.8).



Resim 3.4: Diş çekimi yapılacak bölgenin izolasyonu



Resim 3.5: Sol mandibular molar dişlerin ekartasyonu



Resim 3.6: Çekilmiş sol mandibular molar dişler



Resim 3.7: Çekim bölgesinin 6.0 Vicryl s uturlarla kapatılması



Resim 3.8: Atravmatik diş çekimi sonrası alveolar mukozanın görünümü

Hayvanların bakımları ve beslenmeleri Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi' nde bakım sorumluları tarafından veteriner hekim kontrolünde sağlandı.

Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının 3 tanesi dentoalveolar cerrahi işlem sırasında, 3 tanesi anestezi verilmesinden hemen sonra, 2 tanesi de işlemden sonraki günlerde öldü. Deney hayvanlarının sayısı 1. grupta (İbandronik Asit 0.033 mg/kg) 7, 2. grupta (İbandronik Asit 0.1 mg/kg) 8, ve kontrol grubunda 7 olarak çalışmaya başlandı. Bu sayılar istatistiksel olarak sınır kabul edilerek ek deney hayvanına ihtiyaç duyulmadı. Tüm denekler diş çekiminden 60 gün sonra aşırı doz anestezi (150 mg/kg pentotal overdoz ketamin) ile sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen deneklerin mandibulalarının histopatolojik preparatlarının hazırlanması ve kesit alınması işlemi Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı' nda yapıldı.

3.4 Histopatolojik Preparatların Hazırlanması

Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra çıkartılan hemimandibular kemik dokusu kesilerek elde edilen doku örnekleri alındıktan hemen sonra % 10 tamponlanmış formaldehite alındı. Tespit olan bu dokular daha sonrasında dekalsifikasyon işlemi için sodium sitrat (% 20) ve formik asit (% 50) içeren solusyona alınmıştır. Dekalsifiye olan dokular çalkalandıktan sonra örneklenmiş ve rutin takip işleminden sonra parafin bloklara gömülmüştür. Parafin bloklardan hazırlanan 4µ incelikteki kesitler Hematoksilen Eozin ve Mason Trichrome boyası ile boyanmıştır.

Tüm kesitler çekim soketlerindeki alanlardaki yeni kemik oluşumları açısından incelenmiş ve bu alandaki osteoblastik, osteoklastik aktivite, yüzey epiteli ile çevre yumuşak dokudaki inflamasyon ve vasküler proliferasyon değerlendirilmiştir. Stromal iltihabi hücre infiltrasyonu ve vasküler proliferasyon derecesi 0-2+ arası skala ile ayrı ayrı gradelenmiştir. Osteoblastik ve osteoklastik aktivite ile yüzey epitelindeki ülserasyon var veya yok olarak değerlendirilmiştir

Stromada izlenen iltihabi hücre infiltrasyonu gradelemesi

(0): İltihabi hücre infiltrasyonu mevcut değil.

(1+): Biyopsinin % 30' undan azını infiltre eden iltihabi hücre infiltrasyonu mevcut

(2+): Biyopsinin % 30' undan fazlasını infiltre eden iltihabi hücre infiltrasyonu mevcut

Vasküler Proliferasyonun Gradelemesi

V0: Belirgin damar proliferasyonu yok

V1: Hafif derecede damar proliferasyonu var

V2: Belirgin damar proliferasyonu mevcut

3.5 İstatistiksel Analiz

Kilo değişkeninin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Varyansların homojenliği ise Levene testi ile analiz edildi. Parametrik testlerin ön şartlarının yerine gelmediği görüldüğünden üç grubun söz konusu değişken bakımından karşılaştırılması amacıyla Kruskal-Wallis testi, her bir grup içinde farklı zaman periyodlarındaki kilo değişimlerinin birbirleri ile karşılaştırılması amacıyla ise Friedman testi ve ardından çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Bonferroni-Dunn testi kullanıldı. Kategorik verilerin analizinde olabilirlik oran testi (Likelihood Ratio) kullanıldı. Sonuçlar kategorik değişkenler için n (%), sürekli değişkenler için ise ortalama $\pm$ standart sapma ve ortanca değer olarak ifade edildi. $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veri setinin analizinde SPSS 17.0 istatistik paket programı kullanıldı (Statistical Package for the Social Sciences, version 17.0, SSPS Inc, Chicago, IL, USA).

4. BULGULAR

Deney hayvanlarının çalışmanın başladığı haftadaki kiloları, 6 hafta süren enjeksiyon boyunca her enjeksiyon işlemi öncesindeki kiloları, dış çekimi günündeki kiloları ve sakrifikasyon günündeki kiloları not edildi. Gruplar arasındaki kilo farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 4.1, Şekil 4.1). Gruplar kendi içinde incelendiğinde 1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) deney hayvanlarının 3. haftadaki, 6. haftadaki, dış çekimi günündeki ve sakrifikasyon günündeki ağırlıklarında 2. haftadaki ağırlıklarına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış görüldü ($p=0,005$) (Tablo 4.2, Şekil 4.2). 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) deney hayvanlarının sakrifikasyon günündeki ağırlıklarında 2. haftadaki ağırlıklarına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış görüldü ($p=0.12$), (Tablo 4.2, Şekil 4.3). 3. grupta (kontrol grubu: distile su) deney hayvanlarının sakrifikasyon günündeki ağırlıklarında 1. haftadaki ağırlıklarına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış görüldü ($p=0,18$) (Tablo 4.2, Şekil 4.4).

Histopatolojik inceleme sonucunda bütün gruplarda dış çekimi yapılan bölgelerde yeni kemik oluşumu görülmüştür (Tablo 4.3, Şekil 4.5). 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg), 1. grup (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) ve 3. gruba (kontrol grubu: distile su) göre mukozal ülserasyonda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış görülmüştür ($p<0,01$), (Tablo 4.4, Şekil 4.6). Bütün gruplarda osteoblastik ve osteoklastik aktivitede artış görülmüştür (Tablo 4.5, Tablo 4.6, Şekil 4.7). Sadece 2.grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) 3 örnekte osteonekroz görülürken diğer gruplarda osteonekroz görülmedi ($p<0.05$), (Tablo 4.7, Şekil 4.8). 1. gruptaki (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) ve 2. gruptaki (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) vasküler proliferasyon ve inflamasyondaki artış 3. gruba (kontrol grubu: distile su) göre istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0,05$), (Tablo 4.8, Şekil 4.9).

Tablo 4.1: Tüm gruplardaki sıçanların her bir işlem zamanındaki ağırlıklarının ortalaması $\pm$ standart sapma değerleri ve ortanca değerleri

	Ortalama $\pm$ Standart Sapma			Ortanca Değer
	Kontrol	İbandronik Asit: 0.1 mg/kg	İbandronik Asit: 0.033 mg/kg	p
1.Hafta	229 $\pm$ 20.45 (220)	245.12 $\pm$ 13.32 (243)	238 $\pm$ 22.39 (238)	0,131
2.Hafta	232.57 $\pm$ 22.37 (232)	243.62 $\pm$ 12.44 (244.5)	231.57 $\pm$ 18.98 (235)	0,166
3.Hafta	233.71 $\pm$ 20.27 (229)	250.50 $\pm$ 12.39 (252)	239.85 $\pm$ 16.33 (243)	0,099
4.Hafta	237.28 $\pm$ 20.59 (234)	246.50 $\pm$ 15.31 (246.5)	236.42 $\pm$ 16.78 (238)	0,409
5.Hafta	240.28 $\pm$ 19.26 (234)	247.12 $\pm$ 13.72 (246)	237.28 $\pm$ 17.31 (240)	0,388
6.Hafta	244.28 $\pm$ 20.80 (240)	251.12 $\pm$ 15.58 (251.5)	241.14 $\pm$ 19.20 (244)	0,623
Diş Çekimi	243.57 $\pm$ 16.42 (240)	247.12 $\pm$ 15.38 (244)	243 $\pm$ 21.67 (245)	0,905
Sakrifikasyon	245.14 $\pm$ 13.72 (243)	252.62 $\pm$ 14.20 (252)	248.14 $\pm$ 25.11 (251)	0,634

Kruskal Wallis

Deney hayvanlarının 6 haftalık enjeksiyon süresince, diş çekimi gününde ve sakrifikasyon günündeki ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlam yaratacak bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.2: Her bir grup içinde farklı zamanlardaki ağırlıkların ortalaması $\pm$ standart sapma değerleri ve ortanca değerleri

Ortalama $\pm$ Standart Sapma								
Ortanca Değer								
	1. Hafta	2. Hafta	3.Hafta	4.Hafta	5.Hafta	6. Hafta	Diş Çekimi	Sakrifikasyon
Kontrol	229 $\pm$ 20.45 (220)	232.57 $\pm$ 22.37 (232)	233.71 $\pm$ 20.27 (229)	237.28 $\pm$ 20.59 (234)	240.28 $\pm$ 19.26 (234)	244.28 $\pm$ 20.80 (240)	243.57 $\pm$ 16.42 (240)	245.14 $\pm$ 13.72* (243)
İbandronik Asit (0.1 mg/kg)	245.12 $\pm$ 13.32 (243)	243.62 $\pm$ 12.44 (244.5)	250.50 $\pm$ 12.39 (252)	246.50 $\pm$ 15.31 (246.5)	247.12 $\pm$ 13.72 (246)	251.12 $\pm$ 15.58 (251.5)	247.12 $\pm$ 15.38 (244)	252.62 $\pm$ 14.20* (252)
İbandronik Asit (0.033 mg/kg)	238 $\pm$ 22.39 (238)	231.57 $\pm$ 18.98 (235)	239.85 $\pm$ 16.33** (243)	236.42 $\pm$ 16.78 (238)	237.28 $\pm$ 17.31 (240)	241.14 $\pm$ 19.20** (244)	243 $\pm$ 21.67** (245)	248.14 $\pm$ 25.11** (251)

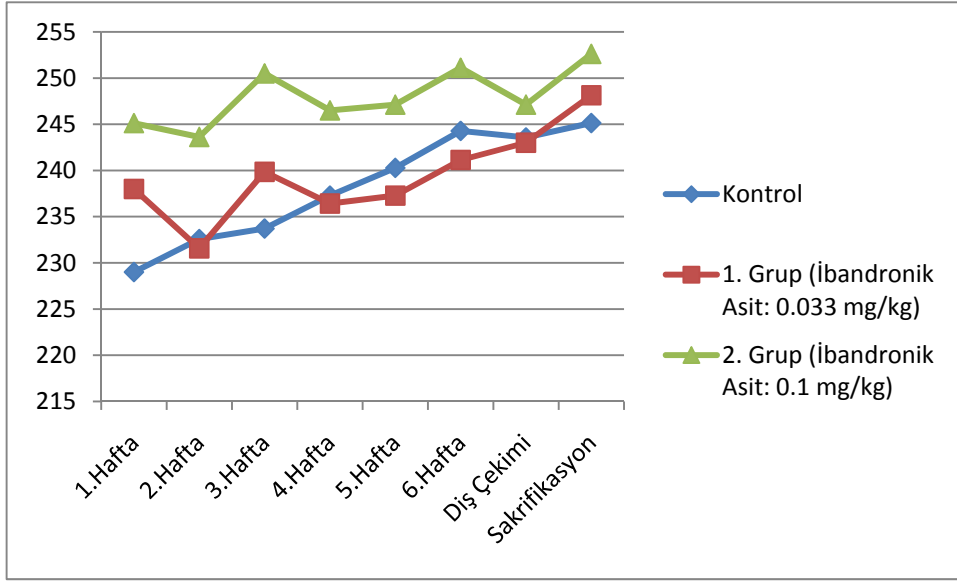
Friedman / Bonferroni-Dunn

(*: $p<0.05$, **: $p<0.01$)

*Kontrol grubunda deney hayvanlarının sakrifikasyon günündeki ağırlıklarında 1. haftadaki ağırlıklarına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış görüldü ($p<0,05$).

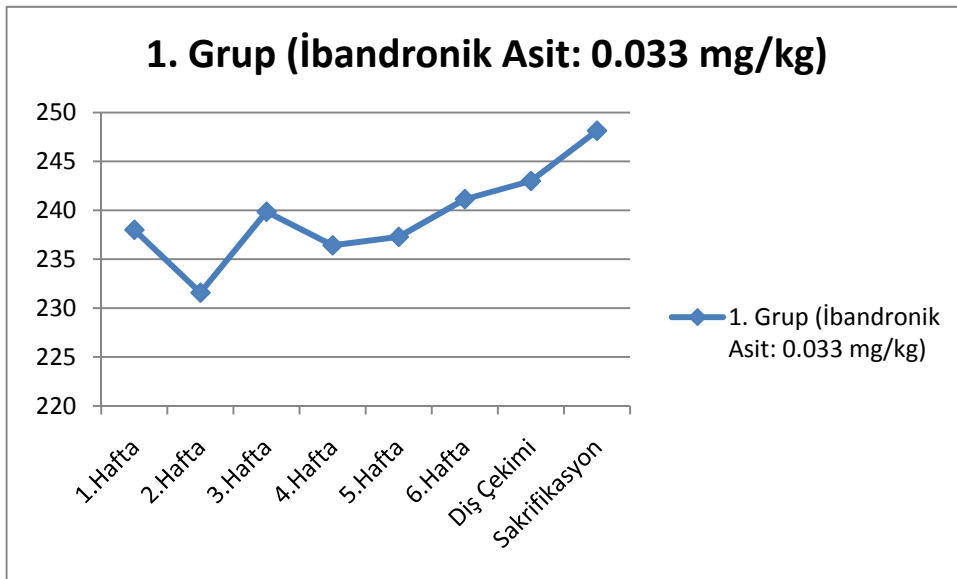
* 2.grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) deney hayvanlarının sakrifikasyon günündeki ağırlıklarında 2. haftadaki ağırlıklarına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış görüldü ($p<0,05$).

** 1.grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) deney hayvanlarının 3. haftadaki, 6. haftadaki, diş çekimi günündeki ve sakrifikasyon günündeki ağırlıklarında 2. haftadaki ağırlıklarına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış görüldü ($p<0,01$).



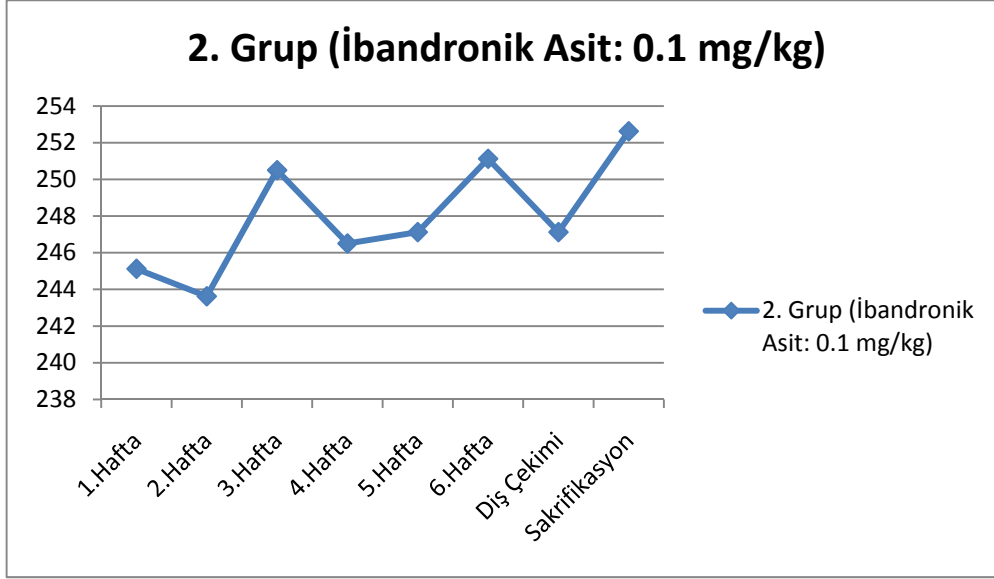
Şekil 4.1: Gruplar arası ağırlık değişim grafiği

Deney hayvanlarının başlangıç ağırlıklarında ve deney süresince değişen ağırlıklarında gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunamadı.



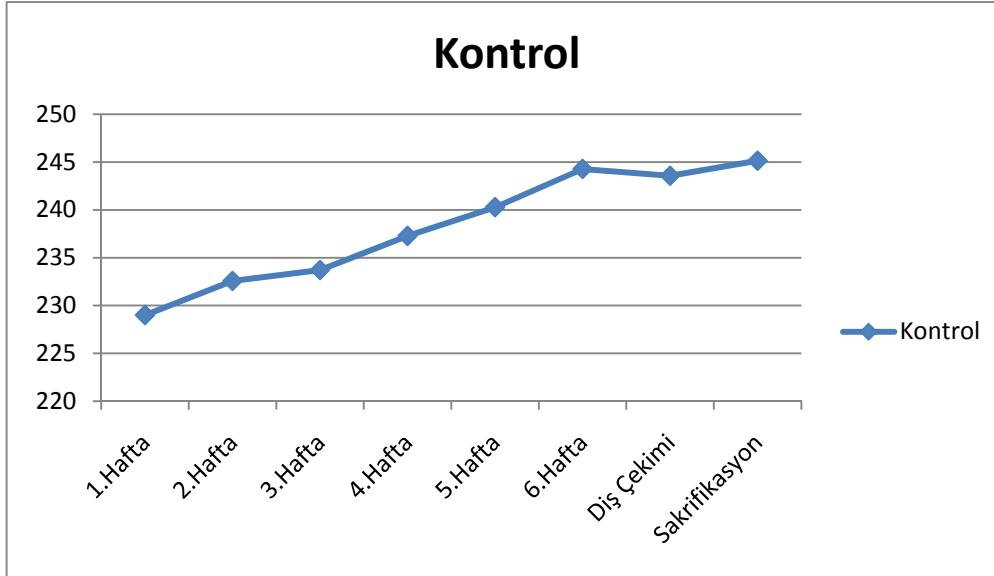
Şekil 4.2: 1.gruptaki (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) ağırlık değişimi grafiği

1.grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) deney hayvanlarının 3. haftadaki, 6. haftadaki, diş çekimi günündeki ve sakrifikasyon günündeki ağırlıklarının 2. haftadaki ağırlıklarına göre artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).



Şekil 4.3: 2.gruptaki (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) ağırlık değişimi grafiği

2.grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) deney hayvanlarının 2. haftadaki ağırlıkları ile sakrifikasyon günündeki ağırlıklarının ortalamasındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,12$).



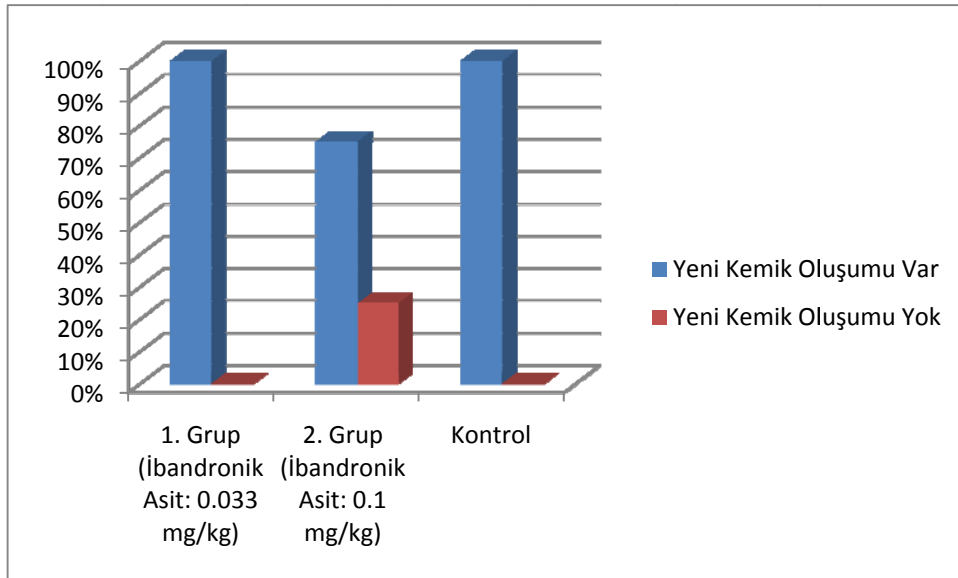
Şekil 4.4 : Kontrol grubundaki ağırlık değişimi grafiği

Kontrol grubundaki deney hayvanlarının ağırlıklarında 1. haftada ölçülen ağırlık değeri ile sakrifikasyon gününde ölçülen ağırlık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunan artış görüldü ($p=0,18$).

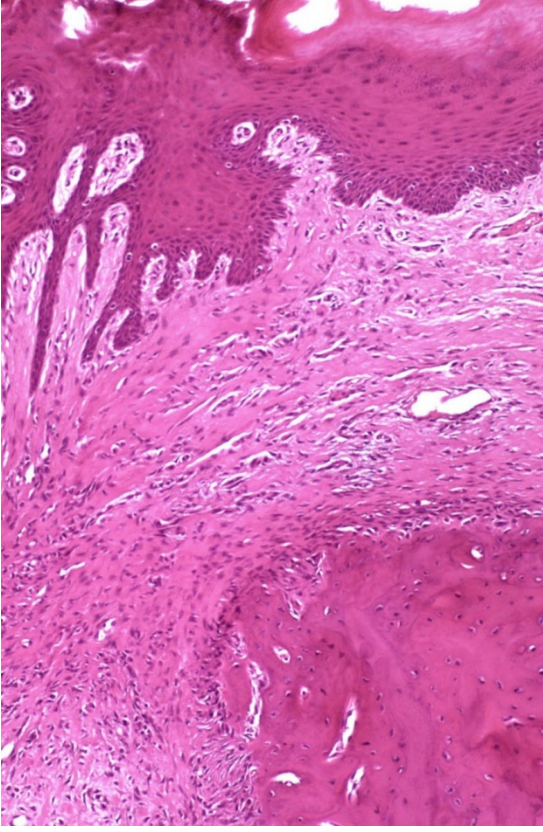
Tablo 4.3 : Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin çekim bölgelerinde yeni kemik oluşumu açısından histolojik olarak değerlendirilme bulguları

	Kontrol n(%)	İbandronik Asit: 0.033 mg/kg n(%)	İbandronik Asit: 0.1 mg/kg n(%)	p
Yeni Kemik Oluşumu				
Var	7 (100)	7 (100)	6 (75)	0,110
Yok	0 (0)	0 (100)	2 (25)	

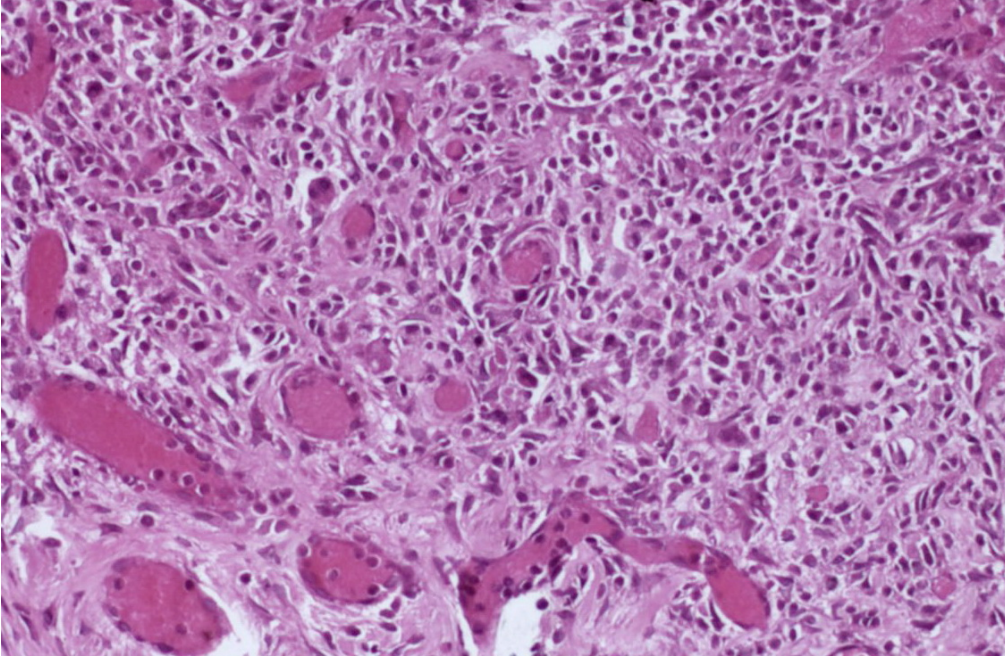
Kontrol grubu ve 1.grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) diş çekim bölgelerinde yeni kemik oluşum miktarı % 100 olarak görülürken 2.grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) 8 sıçandan 6' sında (% 75) yeni kemik oluşumu görülmüştür (Resim 4.1,4.2). Diş çekimi bölgelerinde yeni kemik oluşumu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (**p=0,110**).



Şekil 4.5: Tüm gruplardaki deney hayvanlarının diş çekim bölgesindeki yeni kemik oluşumlarının dağılımı



Resim 4.1: Kontrol grubunda intakt yüzey epiteli, altta kemik oluşumu stromada vasküler proliferasyon ve minimal inflamasyon

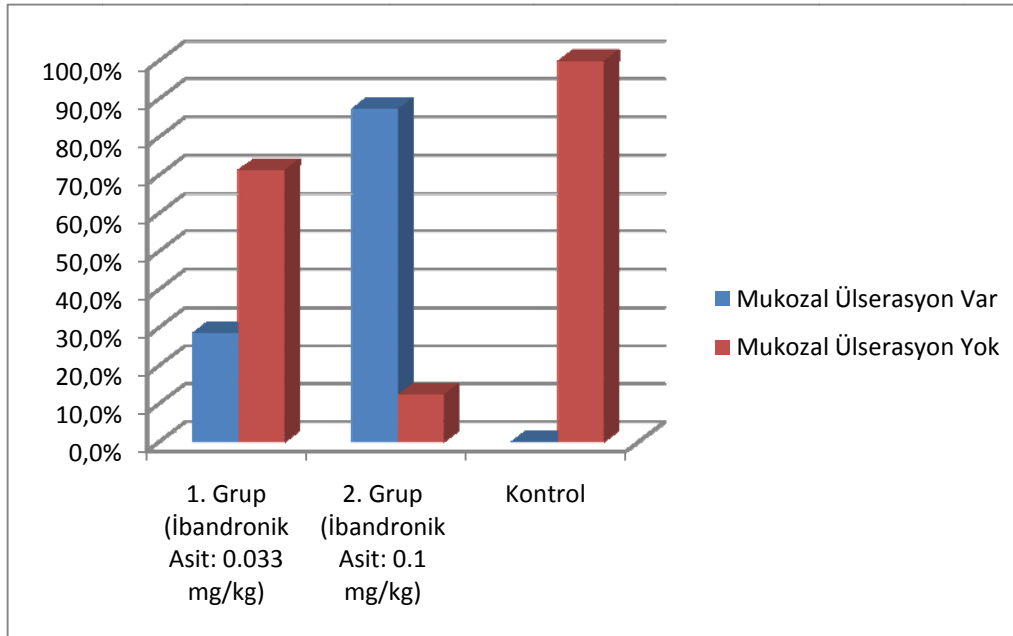


Resim 4.2: 1.grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) yeni kemik oluşumu, etrafındaki granülasyon dokusu, vasküler proliferasyon ve inflamasyon

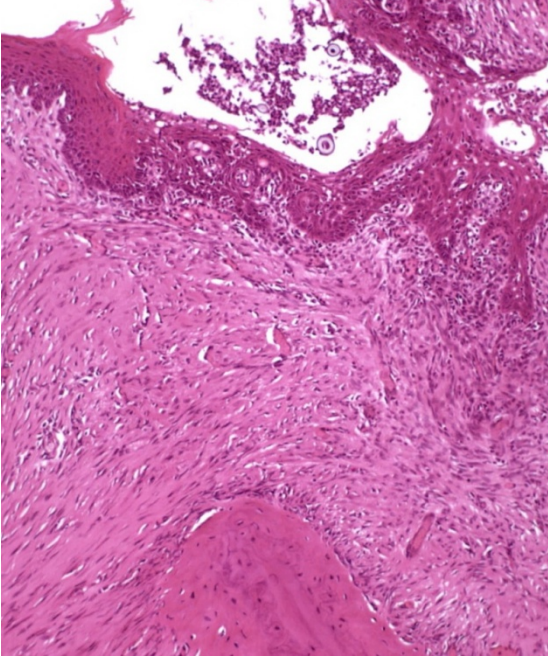
Tablo 4.4: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin mukozal ülserasyon açısından histolojik olarak değerlendirilme bulguları

	Kontrol n(%)	İbandronik Asit: 0.033 mg/kg n(%)	İbandronik Asit: 0.1 mg/kg n(%)	p
Mukozal Ülserasyon				
Var	0 (0)	2 (28.6)	7 (87.5)	<0.001
Yok	7 (100)	5 (71.4)	1 (12.5)	

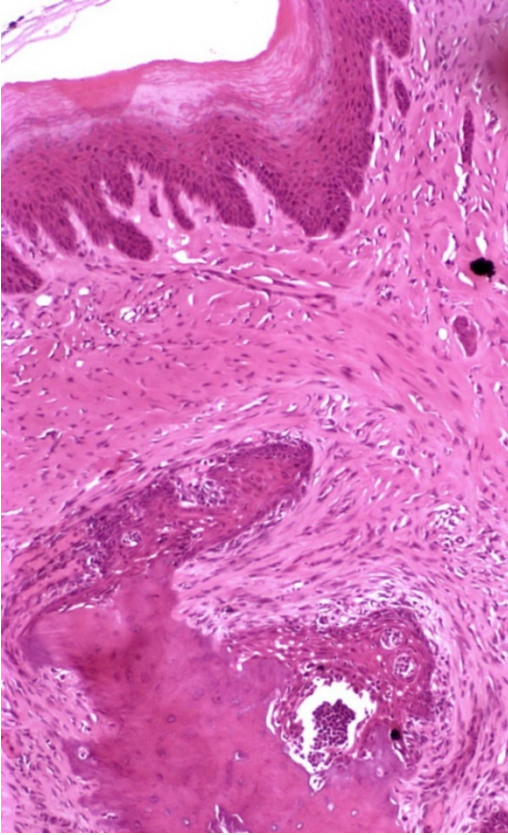
Kontrol grubunda hiçbir denekte mukozal ülserasyon görülmezken, 1.grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) 2 denekte ve 2.grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) ise 7 denekte mukozal ülserasyon görülmüştür (Resim 4.3, 4.4). 2.grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) görülen mukozal ülserasyon kontrol ve 1.gruba (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde fazla bulunmuştur ($p<0,01$).



Şekil 4.6: Deney hayvanlarının diş çekim bölgelerinde mukozal ülserasyon varlığının dağılımı



Resim 4.3: 2.grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) yüzeyde epitelyal ülserasyon, altta kemik gelişimi ve stromada inflamasyon



Resim 4.4: 1.grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) yüzeyde intakt epitelyum altta kemik gelişimi

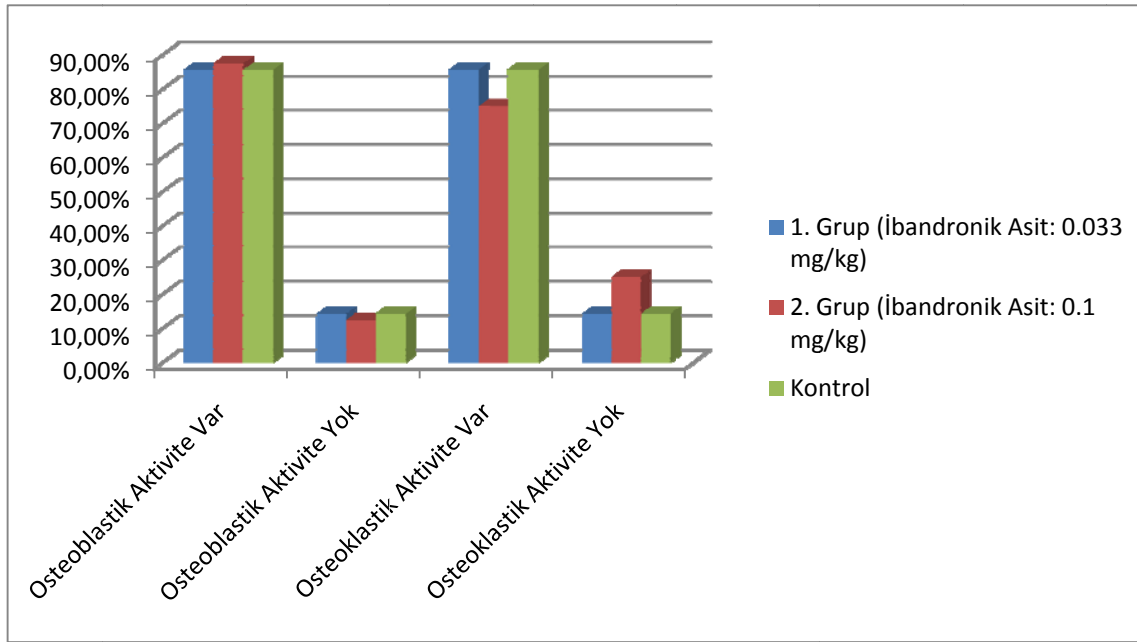
Tablo 4.5: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin osteoblastik aktivite açısından histolojik olarak değerlendirilme bulguları

	Kontrol n(%)	İbandronik Asit: 0.033 mg/kg n(%)	İbandronik Asit: 0.1 mg/kg n(%)	p
Osteoblastik Aktivite				
Var	6 (85.7)	6 (85.7)	7 (87.5)	0,993
Yok	1 (14.3)	1 (14.3)	1 (12.5)	

Diş çekimi yapılan bölgelerden alınan doku örnekleri incelendiğinde kontrol grubunda % 85.7, 1.grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) % 85.7 ve 2.grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) % 87.5 oranında osteoblastik aktivite ve sırasıyla % 85.7, % 85.7, % 75 oranında da osteoklastik aktivite görülmüştür. Gruplar arasında hem osteoblastik hem de osteoklastik aktivite artışı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. (Sırasıyla **p=0.993**, **p=0,826**).

Tablo 4.6: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin osteoklastik aktivite açısından histolojik olarak değerlendirilme bulguları

	Kontrol n(%)	İbandronik Asit: 0.033 mg/kg n(%)	İbandronik Asit: 0.1 mg/kg n(%)	p
Osteoklastik Aktivite				
Var	6 (85.7)	6 (85.7)	6 (75)	0,826
Yok	1 (14.3)	1 (14.3)	2 (25)	

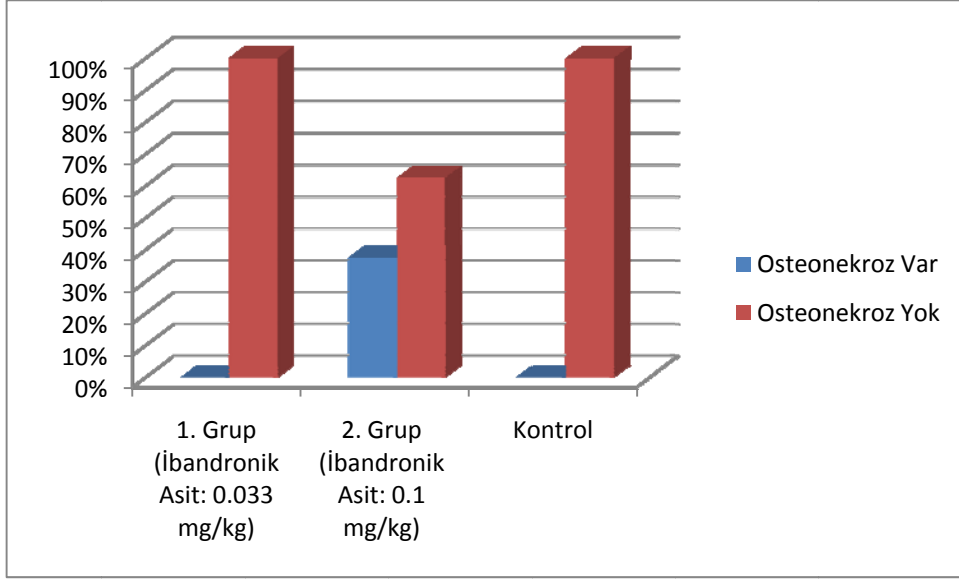


Şekil 4.7: Deney hayvanlarının diş çekim bölgelerindeki osteblastik ve osteoklastik aktivitelerin dağılımı

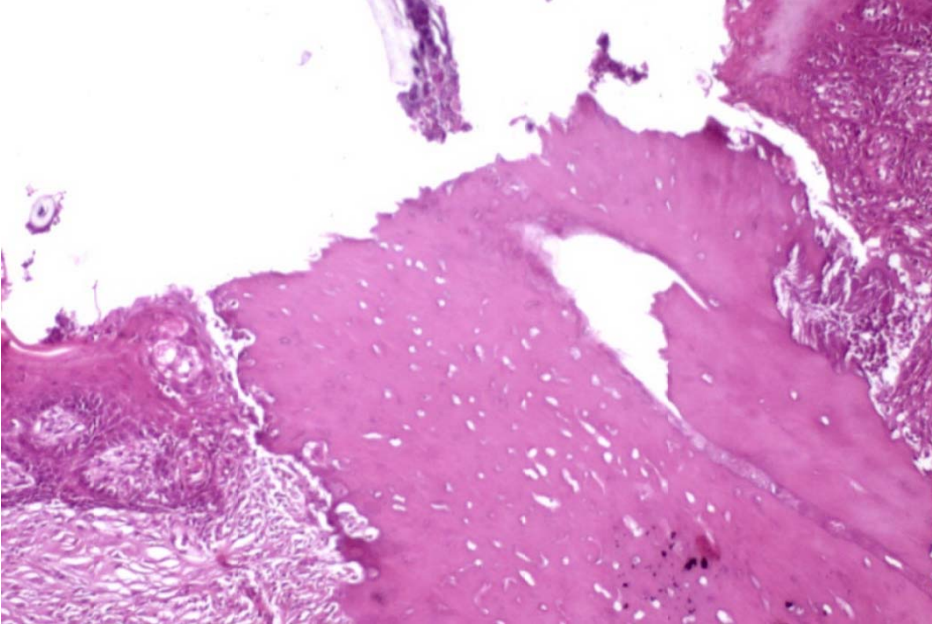
Tablo 4.7: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin osteonekroz açısından histolojik olarak değerlendirilme bulguları

	Kontrol n(%)	İbandronik Asit: 0.033 mg/kg n(%)	İbandronik Asit: 0.1 mg/kg n(%)	p
Osteonekroz				
Var	0 (0)	0 (0)	3 (37.5)	0,031
Yok	7 (100)	7 (100)	5 (62.5)	

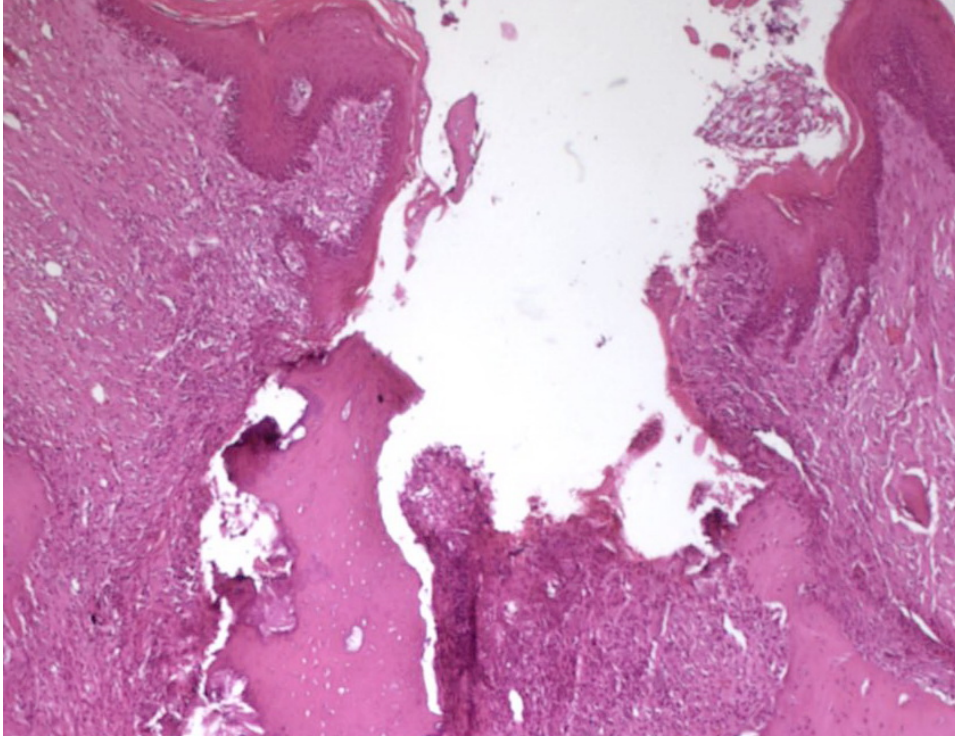
Kontrol grubu ve 1.grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) hiçbir doku örneğinde osteonekroz'a rastlanmazken 2.grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) 8 örnekten 3 ünde osteonekroz görülmüştür (Resim 4.5, 4.6). 2.grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) görülen %37.5 oranındaki osteonekroz istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).



Şekil 4.8: Deney hayvanlarının diş çekim bölgelerinde Osteonekroz Görülme sıklığının dağılımı



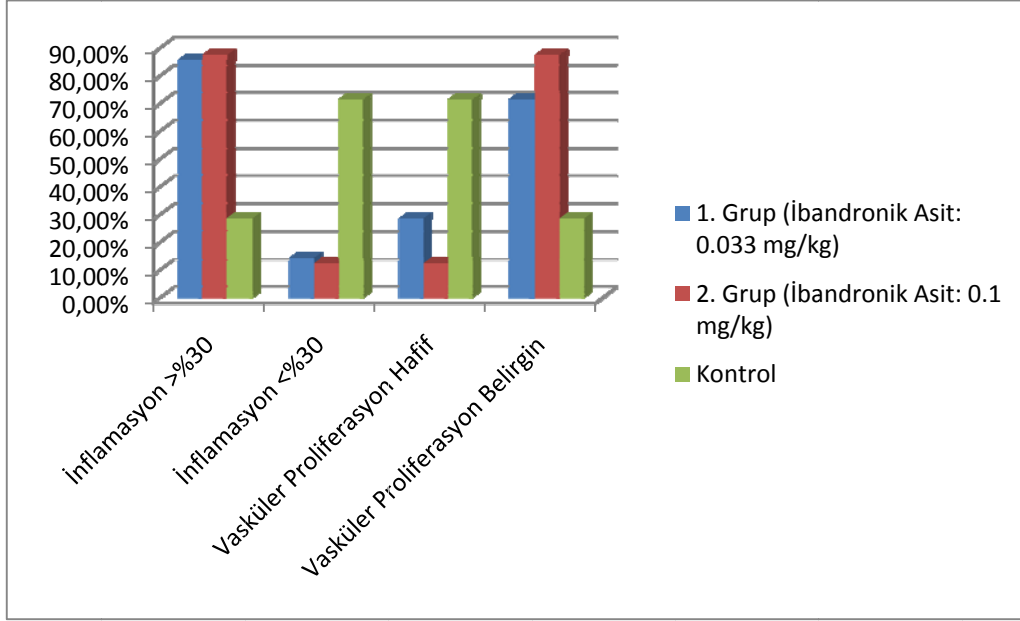
Resim 4.5: 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) ülsere epitel ve kemikte osteonekroz



Resim 4.6: 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) yüzeyde ülserasyon, nekrotik kemik, sekestr parçası, kemik etrafında inflamasyon ve vasküler proliferasyon

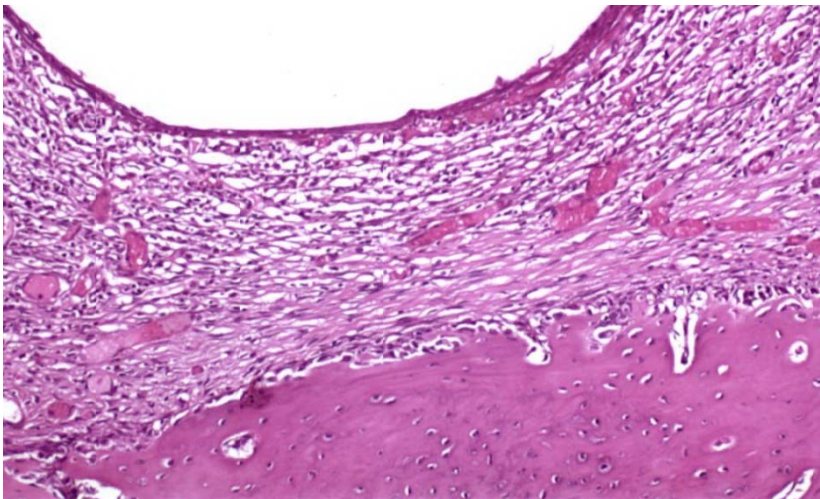
Tablo 4.8: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin inflamasyon ve vasküler proliferasyon dereceleri açısından histolojik olarak değerlendirilme bulguları

	Kontrol n(%)	İbandronik Asit: 0.033 mg/kg n(%)	İbandronik Asit: 0.1 mg/kg n(%)	p
<i>İnflamasyon</i>				
>%30	2 (28.6)	6 (85.7)	7 (87.5)	0,025
<%30	5 (71.4	1 (14.3))	1 (12.5)	
<i>Vasküler Proliferasyon</i>				
Hafif	5 (71.4)	2 (28.6)	1 (12.5)	0,048
Belirgin	2 (28.6)	5 (71.4)	7 (87.5)	



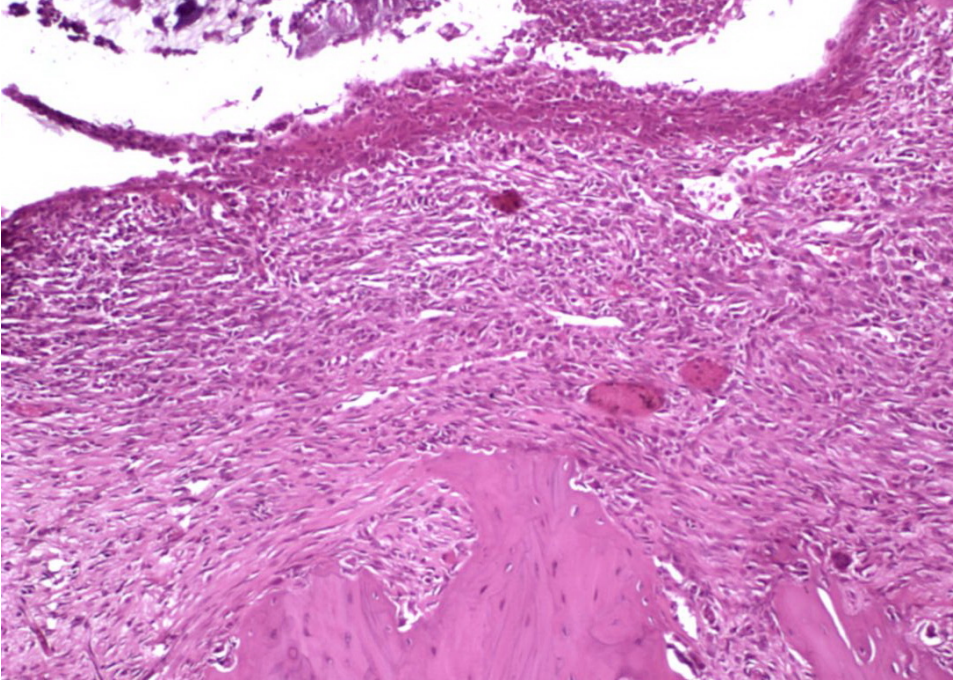
Şekil 4.9: Deney hayvanlarının diş çekim bölgelerinde inflamasyon ve vasküler proliferasyon düzeylerinin dağılımı

Kontrol grubunda biyopsinin % 30'undan azını infiltre eden iltihabi hücre infiltrasyonu (<%30) 5 örnekte görülürken; biyopsinin % 30'undan fazlasını infiltre eden iltihabi hücre infiltrasyonu (>% 30) 2 örnekte görülmüştür. 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) inflamasyon 7 örnekte >% 30 ken 1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) 6 örnekte >% 30 olarak bulunmuştur (Resim 4.7).

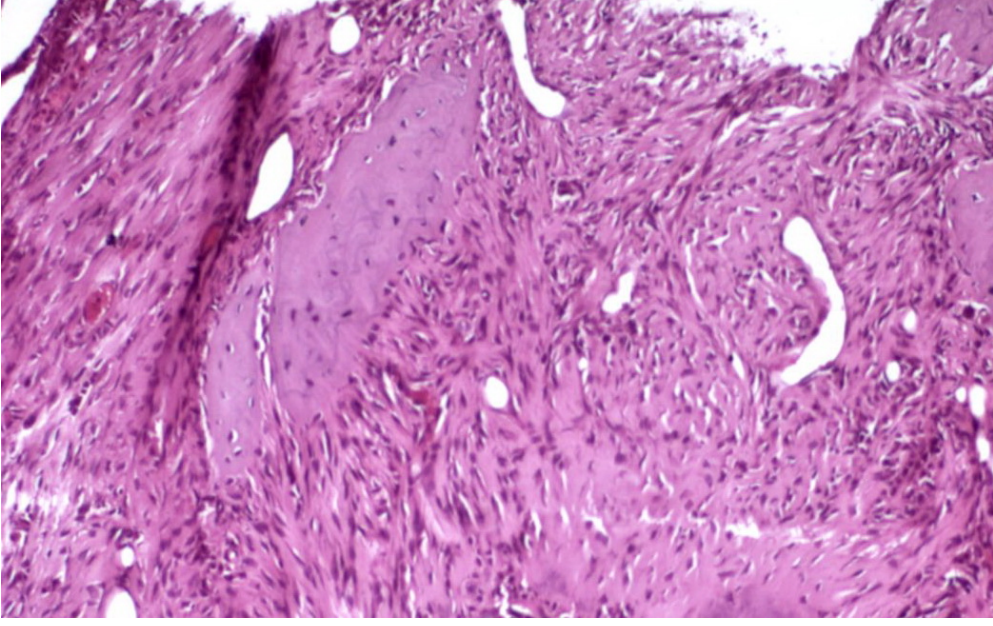


Resim 4.7: 1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) yüzeysel ülserasyon, vasküler proliferasyon, mikst inflamasyon ve kemik gelişimi

1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) ve 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) inflamasyon kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde fazla bulunmuştur (**p<0.05**). Doku örnekleri vasküler proliferasyon açısından karşılaştırıldığında kontrol grubunda belirgin proliferasyon örneklerin 2 tanesinde (% 28.6) görülürken 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) % 87.5'inde 1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) ise % 71.4'ünde görülmüştür (Resim 4.8 ve 4.9). 1. gruptaki (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) ve 2. gruptaki (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) vasküler proliferasyon oranı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde fazla bulunmuştur (**p<0.05**).



Resim 4.8: 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) yüzeyde epitel tamamen kalmış, eksüda mevcut altta yeni kemik oluşumu, stromada yoğun inflamasyon



Resim 4.9: 1.grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) yüzeyde ülserasyon, yeni kemik gelişimi, kemik etrafında vasküler proliferasyon, inflamatuvar hücreler

5. TARTIŞMA

Bisfosfonatlarla ilişkili çene kemiği osteonekrozunun patofizyolojisi tam olarak açıklanamamıştır. Fizyolojik kemik remodelinginin ve anjiyogenezinin potent bisfosfonatlarla inhibisyonu sonucu kemiğin rejeneratif kapasitesinin bozulması ile osteonekroz olduğu düşünülmektedir. Bisfosfonatlarla ilişkili çene kemiği osteonekrozu görülen vakalarda bisfosfonat tedavisine eşlik eden kanser tedavileri, önceden mevcut olan dental hastalıklar, lokal travma ve enfeksiyonlar da BİÇO oluşmasındaki etyolojik faktörler arasında gösterilmektedir. Peridontal ve periapikal hastalıklar, toruslar gibi anatomik varyasyonlar, diş çekimi, dento-alveolar cerrahi işlemler, protez kullanımı ve kullanılan bisfosfonatın tipi ve antirezorpsiyon potansiyeli, ilaca maruz kalma süresi, ilacın verilme yolu ve absorpsiyon ve biyoyararlanımı lokal risk faktörleri olarak değerlendirilmektedir (80, 81, 82). Ayrıca sigara kullanımı gibi lokal faktörler ve periferik vasküler hastalıklar, diyabet gibi sistemik hastalıkların da osteonekroz oluşumunda etkisi olabileceği düşünülmektedir.

En önemli etkenlerden biri ilacın tipi, verilme şekli ve verilme süresidir. Bugüne kadar görülen BİÇO vakalarının birçoğu onkolojik endikasyonlarda kullanılan intravenöz nitrojen içeren bisfosfonatlardan zolendronik asit ve pamidronatın kullanımına bağlı oluşmaktadır (78, 85). Daha az sayıda vaka raporları ise özellikle alendronat gibi yaygın kullanımı olan oral bisfosfonatların post-menopozal osteoporoz tedavisinde kullanımıyla bildirilmiştir (79, 84). Alendronatla ilgili bildirilmiş birçok vaka raporu bulunmasına rağmen daha potent bir bisfosfonat olan ve onkolojik endikasyonlardaki kullanılan ibandronik asitle ilgili literatürde sadece 3 adet vaka raporu bulunmaktadır. Bu durumun ilacın güvenilirliğinin daha fazla olmasından mı yoksa klinik kullanımının yeni yeni yaygınlaşması sonucu ilaçla ilgili sonuçların henüz tam olarak bildirilememiş olmasından mı kaynaklandığının araştırılması gerekmektedir.

İbandronik asit metastatik olan veya olmayan tümörle ilişkili hiperkalsemi tedavisinde, meme kanseri hastalarında ve kemik metastazlarında; patolojik kırıklar, radyoterapi veya cerrahi gerektiren kemik komplikasyonları gibi iskeletsel olayların önlenmesi için Amerika Birleşik Devletleri (ABD) dışındaki 40' in üzerindeki ülkede kullanılan yeni ve potent nitrojen içeren bisfosfonattır (55, 56, 107). Onkolojik endikasyonlar dışında

ilacın oral ve i.v formulasyonları post-menapozal osteoporoz tedavisinde ABD’de dahil olmak üzere dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır (54, 108).

İbandronik asitin güvenilirlik ve etkinliğini rapor eden klinik çalışmaların sayısı son dönem de artmaktadır. İbandronik asitin kemik rezorpsiyonunu önleme kapasitesi zolendronik asite yakın bulunmuştur (109). Meme kanserinde ve metastatik kemik hastalığında i.v ibandronik asit infüzyonunun iskeletsel komplikasyonları azalttığı bildirilmiştir (107). İlacın renal güvenliğinin plaseboyla karşılaştırılabilir olduğu ve uzun süren tedavilerde de renal güvenliğin korunduğu gösterilmiştir (110). İbandronatın 65 yaş üstü bireylerde yapılan bir başka çalışmada renal güvenliği bozmadığı (111), bozulmuş renal fonksiyonu olan veya olmayan multiple myeloma, metastatik kemik hastalıkları ve osteoporoz hastalarında renal fonksiyonları koruduğu gösterilmiştir (111,112). Diğer bütün bisfosfonat tiplerinden farklı olarak ibandronik asitin gastrointestinal toksisite profilinin plaseboya benzer olduğu bildirilmiştir (113). İngiltere’de hormonal tedavi gören meme kanseri hastalarında oral ibandronat, i.v zolendronik asit ve i.v pamidronat’ın fiyat-etkifliliğinin incelendiği bir çalışmada oral ibandronatın meme kanserinde kemik metastazlarının tedavisinde ve iskeletsel olayların ve kemik ağrısının kontrolünde i.v infüzyonlara göre fiyat-etkifliliği fazla bulunmuştur (60). İbandronik asitin önemli bir etkinlik ve güvenilirlik profiline sahip olduğunu bildiren güncel çalışmalar sayesinde ilacın Avrupa ve dünyanın diğer bölgelerinde kullanımı artmaktadır. İlacın oral ve i.v formulasyonlarının post-menapozal osteoporoz tedavisindeki kullanımının yanı sıra onkolojik endikasyonlarda kullanımı da günümüzde giderek yaygınlaşmaktadır.

İbandronik asitin güvenilirlik ve etkinliğini inceleyen çalışmalar ilacın osteoklast inhibisyonundaki etkisi, renal güvenirliliği ve gastrointestinal toksisitesi gibi kriterler üzerinde yoğunlaşmıştır. İbandronik asitin çene kemiğine etkilerini rapor eden çok az sayıda literatür mevcutken bu etkileri inceleyen hayvan çalışması bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmada ibandronik asitin farklı dozlarının diş çekimi sonrası alveolar kemik üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

American Society of Clinical Oncology (ASCO)’nin 2007 yılındaki çalışmasında Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) grubu Food and Drug Administration (FDA)’a 2005 yılına kadar rapor edilmiş oral ibandronat kullanımına bağlı 6 adet BİÇO vakası bildirmiştir (114). Malden ve ark. yayınladığı alendronat,

risedronat ve ibandronatın oral kullanımına bağılı olarak görülen BİÇO'nu bildiren 3 adet vaka raporunda; 66 yaşıında kadın hastanın 13 yıl önce teşhisi konulmuş primer lezyonla ilişkili meme kanseri malignansisinde ibandronik asit kullanımına başlanmasını takiben 1. ayda sağ mandibular molar dişı çekilmiş ve sonrasında BİÇO görülmüştür. Bu vakadaki ibandronik asitin sadece 1 ay kullanımı sonucu BİÇO görülməsi ilacın potentliğine işaret ettiğı bildirilmiştir (115). 2008 yılında Migliorati ve ark. tarafından yayınlanan vaka raporunda 2005 yılında meme kanserine bağılı iskeletsel yayılım sebebiyle başlangıç olarak tek seferde 6 mg ibandronat sodyum (Bondronat) infüzyonu yapılan hastanın tedavisi 2007 yılında BİÇO teşhisi konulana kadar 50 mg'lık oral tabletlerle ve diğerk kemoteropatik ajanlarla devam etmiştir (116). İbandronat kullanımı sonrası bu çalışmalarda görülen bisfosfonatla ilişkili çene kemiğı osteonekrozlarının benzeri sıçanlar üzerinde yaptığımız deneysel çalışmada da görülmüştür.

Bisfosfonatla ilişkili çene kemiğı osteonekrozunun oluşmasında yumuşak doku toksisitesinin etkili olduğı bu toksisitenin oluşmasında da bisfosfonatların yumuşak dokuda direkt toksisite yaratabilecek konsantrasyonlarda alveolar kemikte depolandığı varsayımı yapılmıştır. Bisfosfonatların kemiğıe dağılımının kemik turnover'ının miktarıyla doğrudan ilişkili olduğunu ve alveolar turnover'ın daha fazla olması dolayısıyla bisfosfonatların alveolar kemikte diğerk kemiklere oranla 100 kat fazla depolanıp yumuşak doku toksisitesi oluşturduğu görüşünü ortaya atılmıştır (117). Fakat Bauss ve ark. tarafından sıçanların mandibula, femur ve lumbark vertebraındaki ibandronat dağılımını tekrar eden ilaç uygulamaları sonrası karşılaştırmak için planlanan çalışmada sıçanlara günlük 0.003-0.3 mg/kg/gün 9 gün boyunca s.c. ilaç enjeksiyonu yapılmıştır. Son enjeksiyondan 5 gün sonra hayvanlar sakrifiye edilerek sağ mandibula, sağ femur ve lumbark vertebraları (L-3, L-5) çıkartılmıştır. İbandronat konsantrasyonları doza bağımlı olarak bütün kemiklerde benzer konsantrasyonlar da artış göstermiştir (118). Bu çalışmada kullanılan en yüksek kümülatif ibandronat dozu 2.7 mg/kg'dır. Total vücut ağırlığı 65 kg olan bir kadın göz önüne alındığında postmenapozal osteoporozda eşdeğer total sistemik uygunluğu 175.5 mg eder. Bu miktarda postmenapozal östrojen eksikliğinde önerilen i.v tedavi prosedürü göze alındığında 3 ayda bir 3 mg i.v tedavide 15 yıl boyunca total ibandronata maruz kalmayı gerektirir. Metastatik kemik hastalıklarında benzer bir hesaplama yapıldığında (6 mg/kg her 4 hafta boyunca) 2.5 yıl boyunca

ibandronata maruz kalmaya eşdeğerdir (118). Benzer bir hesaplamayı bu çalışmada yaparsak 1.grup (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) yaklaşık olarak 2.5 yıllık osteoporoz tedavisinde kullanılan kümülatif doza maruz kalırken 2.grup (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) 6 aylık onkolojik tedavilerde kullanılan kümülatif doza maruz kalmış denilebilir.

Bisfosfonatla ilişkili çene kemiği osteonekrozunu araştıran çok az sayıda hayvan çalışması bulunmaktadır. Allen ve Burr 3 yıl boyunca günlük oral alendronatla tedavi edilen Beagle köpeklerinde mandibula nekrozunu değerlendiren bir çalışma rapor etmişlerdir. Saline veya alendronatı günlük oral doz şeklinde 1 veya 3 yıl süre ile Beagle cinsi köpeklerle uygulamışlar ve hiçbir hayvanda oral kemik ekspoz olmamıştır. Histopatolojik incelemede ise düşük doz alendronatla tedavi edilen hayvanların % 25' inin mandibulalarında nekroze matriks bölgeleri gözlenirken yüksek dozlarda bu oran 1 yılda % 17, 3 yılda % 33 olarak gözlemlenmiştir. Allen ve Burr bu durumun BİÇO gelişiminde erken evreyi oluşturabileceğini ve kemiğin fizyolojik streslerinin de eklenmesiyle ileri dönemde ekspoz olabileceği hipotezini oluşturmuşlardır ve iskeletsel mikrohasarın kemik turnoverının baskılanması sonucu 1 yılda oluştuğunu ve daha uzun tedavi süresi ile ilerlemediğini vurgulamışlardır (119). Bu çalışma ile bizim çalışmamız arasındaki en önemli farklardan biri kullanılan deney hayvanının çeşididir. Beagle köpeklerinde normal iyileşme için gereken süre insanlarda gereken süreyle neredeyse eşitken bizim çalışmamızda kullanılan Spraque-Dawley sıçanlarında çok daha kısadır. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya paralel olarak 2. grubun (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) % 35' inde osteonekroz görülürken 1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) ve kontrol grubunda hiçbir deney hayvanında osteonekroz görülmemiştir.

Aynı araştırmacılar 3 yıla kadar süren bisfosfonat tedavisinin kemik osteonekrozu ve osteosit ölümü üzerine mandibuladaki etkisini incelemek için bir köpek modeli oluşturmuşlardır. Bu çalışmada da sağlıklı bir köpekte kısa dönem yüksek doz zolendronik asit tedavisinin osteosit ölümüne ve alveolar kemik nekrozuna yol açabileceği gösterilmiştir (120).

Şenel ve ark.' larının pamidronat ve zolendronatın mandibula üzerindeki etkilerini histopatolojik olarak incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada 60 adet dişi Spraque-Dawley deney sıçanı 6 gruba ayrılarak ilk 3 gruba 6 hafta boyunca sırasıyla saline, pamidronat ve zolendronat enjeksiyonu diğer 3 gruba da 8 hafta boyunca sırasıyla

saline, pamidronat ve zolendronat enjeksiyonu yapılarak ilaç tedavisi bitiminden sonraki 2. günde bütün hayvanlar sakrifiye edilmiş ve histopatolojik olarak incelenmiştir. Histopatolojik değerlendirme sonucu zolendronat ve pamidronat ile 8 hafta boyunca tedavi edilen sıçanlarda posterior mandibulayla sınırlı inflamasyon görülürken; zolendronat ile 8 hafta boyunca tedavi edilen 1 sıçanda yumuşak doku nekrozu görülmüştür (121). Zolendronat ile 8 hafta tedavi edilen grupta 4 deney hayvanında (% 40) boş osteosit lakünleri ile epitele kadar uzayan mikst inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmüş ve bunların 2 tanesi (% 20) osteonekroz kriterlerine uygun bulunmuştur (121). Şenel ve ark. dental faktörlerin özellikle diş çekiminin enfeksiyon ve BİÇO üzerindeki etkilerinin hayvan model çalışmaları ile incelenmesi gerektiğini savunmaktadır (121). Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak potent bisfosfonatlardan ibandronik asit kullanılmış, kullanılan ilaç etken madde olarak temin edilmiş, farklı dozlarda uygulanmış, ilacın alveolar kemik üzerine etkisi diş çekimi sonrası değerlendirilmiş ve uygulama süresi 6 hafta ile sınırlı tutulup daha uzun uygulama süresi ile karşılaştırılmamıştır. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer olarak inflamasyon supratherapötik dozda (0.1mg/kg) ibandronik asit uygulanan grupta deneklerin 7 tanesinde (% 87.5) ve tıropatik dozda (0,033 mg/kg) ibandronik asit uygulanan grupta deneklerin 6 tanesinde (% 85.7) görülürken kontrol grubunda 2 denekte (% 28.6) inflamasyon görülmüştür. 1. ve 2. gruptaki inflamasyon artışı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur, 1. ve 2. gruptaki inflamasyon artışından ibandronik asit sorumlu tutulabilir. Şenel ve ark. çalışmasına benzer olarak 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) inflamasyon artışı görülen 7 sıçanın (% 87.5) 3 tanesinde (% 35) osteonekroz görülmüştür.

Sonis ve ark.'nın diş çekimi öncesi zolendronik asit ve deksametazon ile tedavi edilen sıçanlarda BİÇO benzeri bulgular gözlemledikleri çalışmalarında histopatolojik inceleme sonucu zolendronik asit ve deksametazon'un birlikte kullanıldığı gruptaki çoğu sıçanda gecikmiş epitelyal iyileşme, ekspoze kemik ve ülserasyon gibi bulgular gözlemlenirken, kontrol grubunda zolendronik asitin tek başına kullanıldığı veya deksametazonun tek başına kullanıldığı gruplarda BİÇO benzeri histopatolojik bulgular gözlemlenmemiştir. Bu çalışmada zolendronik asit ve deksametazonun bir arada kullanılması ile multiple myelomadaki tedavi prosedürünün taklit edilmesi amaçlanmıştır (122). Bu çalışmada bildirilen mandibular molar dişlerin çekiminde karşılaşılan zorluklar bizim çalışmamızda da gözlemlenmiştir. Ayrıca çalışmacıların

grupların sayısının azlığının istatistiksel analiz gücünü azalttığını vurgulaması bizim çalışmamızda da benzer bir eksiklik olarak değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda da Sonis ve ark.'nın çalışmasında olduğu gibi onkolojik endikasyonlarda kullanılan dozların benzeri sıçanlar üzerinde kullanılmıştır ve 0,1mg/kg ibandronik asitle 6 hafta boyunca tedavi edilen sıçanların (2.Grup) % 35' inde osteonekroz ve kontrol grubu dışındaki 2 grupta da inflamasyonda artış görülmüştür.

Eberhardt ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ibandronatın onkolojik endikasyonlarda kullanılan dozlarının hayvan femurunda hidroksiapatit kaplı implantlarda osteointegrasyonu hızlandırdığı, fakat diğer dozlarla böyle bir etkinin görülmediği bulunmuştur (123). İbandronik asitin femurda meydana getirdiği etki bizim çalışmamızdaki etkinin tam tersi ise de zaten genel olarak bisfosfonatların çene kemiği dışındaki kemiklerde inflamasyon ve nekroz oluşturduğuna dair yeterli klinik kanıt bulunmamaktadır.

Migliorati ve ark. BİÇO'ndaki artan riskin genetik polimorfizm ile ilişkili olabileceğini ve genetik farklılıkların bireylerin bisfosfonata cevabını değiştirebileceği hipotezini öne sürmüşlerdir (81).

Lehrer ve ark.'da matriks metalloproteinaz-2 aday geninin bu etkilerden sorumlu olabileceği hipotezini öne sürmüşlerdir (124). Fakat genetik varyasyonların BİÇO gelişimini etkileyip etkilemediğinin tanımlanabilmesi için birçok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bisfosfonatla ilişkili çene kemiği osteonekrozunun varlığının saptanmasında inflamasyonun görülmesi başlangıç aşaması olarak kabul edilebilir. Bizim çalışmamızda 1. ve 2. gruptaki toplam 15 deney hayvanının 13'ünde inflamasyon görülmüştür. Kontrol grubunda ise 2 deney hayvanında (% 28.6) inflamasyon gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda inflamasyon görülmesi diş çekimi işleminin tek başına da inflamasyona sebep olabileceğini düşündürmektedir. İbandronik asit ile tedavi edilen sıçanlardaki inflamasyonun kontrol grubundakilere göre istatistiksel olarak daha fazla olması ise ibandronik asitin etkisi olarak yorumlanabilir. 1. grupta 7 deney hayvanının 6' sında (% 85.7) 2. grupta ise 8 deney hayvanının 7' sinde (% 87.5) inflamasyon gözlemlenmiştir. İnflamasyon artışı yüzdelerinin iki grupta da birbirine çok yakın olması ibandronik asitin terapötik dozunun da diş çekimi sonrası inflamasyon gelişmesi için yeterli olabileceğini göstermektedir.

Literatürlerde son yıllarda göze çarpan ibandronik asit kullanımı sonrası çene kemiğinde osteonekrozun görülmesi bizim çalışma sonuçlarımızla örtüşmektedir (115, 116). Bu nedenle potent bir bisfosfonat olan ibandronik asitin endike olması durumunda klinisyenler risk-fayda analizini yapıp değerlendirmelidir. Diğer bisfosfonatların kullanımıyla yaygın olarak görülen BİÇO komplikasyonunun ibandronik asit kullanımı sonrası da gelişebileceği dikkate alınmalıdır. Eğer hastaya bu ilaç reçete edilecekse, işlem öncesinde genel bir dental muayene yapıp risk faktörlerinin ilaçla tedaviye başlamadan önce elimine edilmesi ve ilaçla tedavinin devam ettiği sürede de rutin dental kontrollerin yapılması hastalara tavsiye edilebilir.

Bu çalışma ibandronik asit kullanımı sonrası BİÇO gelişebileceğini göstermektedir. İbandronik asitin diğer potent nitrojen içeren bisfosfonatlardan olan; alendronat, zolendronik asit, pamidronat ile karşılaştırıldığı, bu ilaçlar arasındaki inflamasyon ve osteonekroz geliştirme riskini inceleyebilecek çalışmalar yapılması gerekmektedir.

BİÇO gelişiminde kemik turnover'ının potent bisfosfonatlarla bozulmasının yanı sıra ilaçların yumuşak dokuda yarattığı toksisite ve yumuşak dokuda başlayan mikro açıklıklardan enfeksiyonun yayılması da muhtemel BİÇO sebebi olarak değerlendirilmektedir (85, 90).

Bizim çalışmamızda da tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örnekleri mukozal ülserasyon açısından histolojik olarak değerlendirildiğinde kontrol grubunda hiçbir denekte mukozal ülserasyon görülmezken; 1. grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) 2 denekte (% 28.6) ve 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) ise 7 denekte (% 87.5) mukozal ülserasyon görülmüştür. 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) görülen mukozal ülserasyon kontrol ve 1. gruba (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde fazla bulunmuştur. Yumuşak dokudaki ülserasyonun belirgin şekilde yüksek olduğu 2. grupta mukozal ülserasyon görülen deney hayvanlarının % 35' inde osteonekroz da görülmüştür. Mukozal ülserasyonların ilaç alan gruplarda doza bağımlı olarak artış göstermesi ve kontrol grubunda görülmemesi bu çalışmanın en önemli bulgularından biridir. BİÇO gelişimindeki başlangıç basamağının kemiğin rejenerasyonundaki bozulmadan mı yoksa yumuşak dokudaki toksisiteden mi kaynaklandığı ya da her iki etkenin de bir arada bulunması ile mi oluştuğu araştırılmalıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda farklı dozlardaki ibandronik asitin diş çekimi sonrası alveolar kemik iyileşmesi üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla diş çekimi yapılan sol mandibular molar bölge histopatolojik olarak incelenmiş ve buna göre;

1. İbandronik asitin supratherapötik dozu (0,1 mg/kg) ve terapötik dozu (0,033 mg/kg) ile tedavi edilen 1. ve 2. gruptaki sıçanlarda diş çekimi sonrası görülen inflamasyon distile su (kontrol grubu) ile tedavi edilen sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır ($p=0,025$).
2. İbandronik asit uygulaması 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) çene kemiklerini örten yumuşak dokularda % 87.5 oranında, 1.grupta (İbandronik Asit: 0.033 mg/kg) % 28.6 oranında yüzeysel ülserasyona sebep olurken kontrol grubunda hiçbir denekte yüzeysel ülserasyon görülmemiştir. 2. grupta; kontrol grubu ve 1. gruba göre artmış olan mukozal ülserasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).
3. Yalnızca 2. grupta (İbandronik Asit: 0.1 mg/kg) 3 deney hayvanında (% 37.5) görülen osteonekroz istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,031$).
4. Osteoblastik ve osteoklastik aktivitede her 3 grupta da artış görülmüştür. Gruplar arası artış oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,893$, $p=0,926$).

Bu sonuçlar nitrojen içeren potent bir bisfosfonat olan ibandronik asitin de diğer potent bisfosfonatlar gibi diş çekimi sonrası çene kemiğinde osteonekroz oluşturma potansiyeli olabileceğini, yumuşak dokulardaki etkilerinin de en az kemikteki etkileri kadar belirgin olabileceğini ortaya koymuştur.

İbandronik asit ile tedavi edilmesi planlanan hastaların tedaviye başlamadan önce diş hekimine yönlendirilmeleri; gerekli tedavilerinin ilaç başlamadan önce yapılması ve tedavinin devam ettiği süre boyunca da rutin dental kontrollerin yapılması gereklidir.

7. KAYNAKLAR

- 1- Raisz LG. Physiology and pathophysiology of bone remodeling. Clin Chem 1999;45:1353-8.
- 2- Eriksen EF. Normal and pathological remodeling of human trabecular bone: three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normals and in metabolic bone disease. Endocrinol Rev 1986;7:379–408.
- 3- Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Parfitt AM, Manolagas STC. Osteoblast programmed cell death (apoptosis): modulation by growth factors and cytokines. J Bone Miner Res 1998;13:793– 802.
- 4- Turner CH. Three rules for bone adaptation to mechanical stimuli. Bone 1998;23:339–409.
- 5- Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. (Brunton, Lazo, Parker) Eleventh edition, Mc GrawHill, 2006"
- 6- Ashcroft AJ, Davies FE, Morgan GJ. Aetiology of bone disease and the role of bisphosphonates in multiple myeloma. Lancet Oncol. 2003 May;4(5):284-92.
- 7- Rogers MJ. From molds and macrophages to mevalonate: a decade of progress in understanding the molecular mode of action of bisphosphonates. Calcif Tissue Int 2004;75:451-61.
- 8- Frith JC, Monkkonen J, Blackburn GM, Russell RG, Rogers MJ. Clodronate and liposome-encapsulated clodronate are metabolized to a toxic ATP analog, adenosine 5'- (β, γ-dichloromethylene) triphosphate, by mammalian cells in vitro. J Bone Miner Res 1997;12:1358-67
- 9- Monkkonen H, Rogers MJ, Makkonen N, Niva S, Auriola S, Monkkonen J. The cellular uptake and metabolism of clodronate in RAW 264 macrophages. Pharm Res 2001;18:1550-5.

- 10- Frith JC, Monkkonen J, Auriola S, Monkkonen H, Rogers MJ. The molecular mechanism of action of the anti-resorptive and anti-inflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption and causes osteoclast and macrophage apoptosis. *Arthritis Rheum* 2001; 44:2201-10
- 11- Lehenkari PP, Kellinsalmi M, Napankangas JP, Ylitalo KV, Monkkonen J, Rogers MJ, Azhayev A, Vaananen HK, Hassinen IE. Further insight into mechanism of action of clodronate: inhibition of mitochondrial ADP/ATP translocase by a nonhydrolyzable, adenine-containing metabolite. *Mol Pharmacol* 2002;61:1255- 62.
- 12- Roelofs AJ, Thompson K, Gordon S, Rogers MJ. Molecular mechanisms of action of bisphosphonates: current status. *Clin Cancer Res.* 2006 Oct 15;12(20 Pt 2):6222s-6230s.
- 13- Benford HL, Frith JC, Auriola S, Monkkonen J, Rogers MJ. Farnesol and geranylgeraniol prevent activation of caspases by aminobisphosphonates: biochemical evidence for two distinct pharmacological classes of bisphosphonate drugs. *Mol Pharmacol* 1999; 56:131-40.
- 14- Rogers MJ. New insights into the molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Curr Pharm Des* 2003; 9:2643-58.
- 15- Van Beek E, Pieterman E, Cohen L, Lowik C, Papapoulos S. Farnesyl pyrophosphate synthase is the molecular target of nitrogen-containing bisphosphonates. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 264:108-11
- 16- Dunford JE, Thompson K, Coxon FP, Luckman SP, Hahn FM, Poulter CD, Ebetino FH, Rogers MJ. Structure- activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. *J. Pharmacol Exp Ther* 2001; 296: 235-42.
- 17- Rondeau JM, Bitsch F, Geiser M, Hemmig R, Kroemer M, Lehmann S, Ramage P, Rieffel S, Strauss A, Green JR, Jahnke W. Structural basis for the exceptional in vivo efficacy of bisphosphonate drugs. *JMed Chem.* 2006;1: 267-73.

- 18- Kavanagh K, Guo K, Dunford JE, Wu X, Knapp S, Ebetino FH, Rogers MJ, Russell RG, Oppermann U. The molecular mechanism of nitrogen-containing bisphosphonates as anti-osteoporosis drugs: crystal structure and inhibition of farnesyl pyrophosphate synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:7829-34
- 19- Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 1990; 343:425-30.
- 20- McTaggart SJ. Isoprenylated proteins. *Cell Mol Life Sci* 2006;63:255-67.
- 21- Lane KT, Beese LS. Thematic review series: lipid posttranslational modifications. Structural biology of protein farnesyltransferase and geranylgeranyltransferase type I. *J Lipid Res* 2006;47:681-99.
- 22- Coxon FP, Rogers MJ. The role of prenylated small GTP-binding proteins in the regulation of osteoclast function. *Calcif Tissue Int* 2003;72:80-4.
- 23- Reszka AA, Halasy-Nagy JM, Masarachia PJ, Rodan GA. Bisphosphonates act directly on the osteoclast to induce caspase cleavage of mst1 kinase during apoptosis. A link between inhibition of the mevalonate pathway and regulation of an apoptosis-promoting kinase. *J Biol Chem* 1999;274:34967-73.
- 24- Van Beek E, Lowik C, Van der Pluijm G, Papapoulos S. The role of geranylgeranylation in bone resorption and its suppression by bisphosphonates in fetal bone explants in vitro: a clue to the mechanism of action of nitrogen-containing bisphosphonates. *J Bone Miner Res* 1999;14:722-9.
- 25 Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Russell RGG, Rogers MJ. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent posttranslational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res* 1998;13:581-9.

- 26- Coxon FP, Helfrich MH, Van't Hof R, Sebti S, Ralston SH, Hamilton A, Rogers MJ. Protein geranylgeranylation is required for osteoclast formation, function, and survival: inhibition by bisphosphonates and GGTI-298. *J Bone Miner Res* 2000;15:1467-76.
- 27- Van Beek ER, Cohen LH, Leroy IM, Ebetino FH, Lowik CW, Papapoulos SE. Differentiating the mechanisms of antiresorptive action of nitrogen containing bisphosphonates. *Bone* 2003;33:805-11
- 28- Clezardin P, Ebetino FH, Fournier PG. Bisphosphonates and cancer-induced bone disease: beyond their antiresorptive activity. *Cancer Res* 2005;65:4971-4.
- 29-. Green JR. Bisphosphonates: preclinical review. *Oncologist* 2004;9 Suppl 4:3-13.
- 30- Shipman CM, Croucher PI, Russell RGG, Helfrich MH, Rogers MJ. The bisphosphonate incadronate (YM175) causes apoptosis of human myeloma cells in vitro by inhibiting the mevalonate pathway. *Cancer Res* 1998;58:5294-7.
- 31- Hashimoto K, Morishige K, Sawada K, Tahara M, Kawagishi R, Ikebuchi Y, Sakata M, Tasaka K, Murata Y. Alendronate inhibits lysophosphatidic acid-induced migration of human ovarian cancer cells by attenuating the activation of rho. *Cancer Res* 2002; 62:6015-20.
- 32- Boissier S, Mignetto S, Frappart L, Cuzin B, Ebetino FH, Delmas PD, Clezardin P. Bisphosphonates inhibit prostate and breast carcinoma cell adhesion to unmineralized and mineralized bone extracellular matrices. *Cancer Res* 1997;57:3890-4.
- 33- Boissier S, Ferreras M, Peyruchaud O, Mignetto S, Ebetino FH, Colombel M, Delmas P, Delaissé JM, Clézardin P. Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *Cancer Res* 2000;60:2949-54.

- 34- Bezzi M, Hasmim M, Bieler G, Dormond O, Ruegg C. Zoledronate sensitizes endothelial cells to tumor necrosis factor-induced programmed cell death: evidence for the suppression of sustained activation of focal adhesion kinase and protein kinase B/Akt. *JBiol Chem* 2003;278:43603-14.
- 35- Yamagishi S, Abe R, Inagaki Y, Nakamura K, Sugawara H, Inokuma D, Nakamura H, Shimizu T, Takeuchi M, Yoshimura A, Bucala R, Shimizu H, Imaizumi T. Minodronate, a newly developed nitrogen-containing bisphosphonate, suppresses melanoma growth and improves survival in nude mice by blocking vascular endothelial growth factor signaling. *Am J Pathol* 2004;165: 1865-74.
- 36- Ory B, Heymann MF, Kamijo A, Gouin F, Heymann D, Redini F. Zoledronic acid suppresses lung metastases and prolongs overall survival of osteosarcomabearing mice. *Cancer* 2005;104:2522-9.
- 37- Giraudo E, Inoue M, Hanahan D. An Aminobisphosphonate targets MMP-9-expressing macrophages and angiogenesis to impair cervical carcinogenesis. *JClinInvest* 2004;114:623-33.
- 38- Croucher PJ, De Hendrik R, Perry MJ, Hijzen A, Shipman CM, Lippitt J, Green J, Van Marck E, Van Camp B, Vanderkerken K. Zoledronic acid treatment of 5T2MM-bearing mice inhibits the development of myeloma bone disease: evidence for decreased osteolysis, tumor burden, and angiogenesis, and increased survival. *J Bone Miner Res* 2003;18:482-92.
- 39- Santini D, Vincenzi B, Dicuonzo G, Avvisati G, Massacesi C, Battistoni F, Gavasci M, Rocci L, Tirindelli MC, Altomare V, Tocchini M, Bonsignori M, Tonini G. Zoledronic acid induces significant and long-lasting modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res* 2003;9:2893-7.

- 40- Santini D, Vincenzi B, Hannon RA, Brown JE, Dicuonzo G, Angeletti S, La Cesa A, Coleman RE, Tonini G, Budillon A, Caraglia M, Holen I. Changes in bone resorption and vascular endothelial growth factor after a single zoledronic acid infusion in cancer patients with bone metastases from solid tumours. *Oncol Rep* 2006;15:1351-7.
- 41- Gao L, Deng H, Zhao H, Hirbe A, Harding J, Ratner L, Weilbaecher K. HTLV-1tax transgenic mice develop spontaneous osteolytic bone metastases prevented by osteoclast inhibition. *Blood* 2005; 106:4294-302
- 42- Van der Pluijm G, Que I, Sijmons B, Buijs JT, Löwik CW, Wetterwald A, Thalmann GN, Papapoulos SE, Cecchini MG. Interference with the microenvironmental support impairs the de novo formation of bone metastases in vivo. *Cancer Res* 2005;65:7682-90.
- 43- Naidu A, Dechow PC, Spears R, Wright JM, Kessler HP, Opperman LA. The effects of bisphosphonates on osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Jul;106(1):5-13.
- 44- Mackie PS, Fisher JL, Zhou H, Choong PF. Bisphosphonates regulate cell growth and gene expression in the UMR 106-01 clonal rat osteosarcoma cell line. *Br J Cancer* 2001;84:951-8.
- 45- Gao YH, Shinki T, Yuasa T, Kataoka-Enomoto H, Komori T, Suda T, Yamaguchi A. Potential role of Cbfa1, an essential transcriptional factor for osteoblast differentiation, in osteoclastogenesis: regulation of mRNA expression of osteoclast differentiation factor (ODF). *Biochem Biophys Res Commun* 1998;252:697-702.
- 46- Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E, Tan HL, Elliott G, Kelley MJ, Sarosi I, Wang L, Xia XZ, Elliott R, Chiu L, Black T, Scully S, Capparelli C, Morony S, Shimamoto G, Bass MB, Boyle WJ. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:3540-5.

47-Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 2001;142:5050-5.

48- Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E, Tan HL, Elliott G, Kelley MJ, Sarosi I, Wang L, Xia XZ, Elliott R, Chiu L, Black T, Scully S, Capparelli C, Morony S, Shimamoto G, Bass MB, Boyle WJ. Osteoprotegerin (OPG) ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-76.

49- <http://www.rxlist.com/boniva-injection-drug.htm>

50- Van Beek E, Hoekstra M, van de Ruit M, Löwik C, Papapoulos S. Structural requirements for bisphosphonate actions in vitro. *J Bone Miner Res.* 1994 Dec;9(12):1875-82.

51- Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev*, 1998; 19: 80–100.

52- Mühlbauer RC, Bauss F, Schenk R, Janner M, Bosies E, Strein K, Fleisch H. BM 21.0955, a potent new bisphosphonate to inhibit bone resorption. *J Bone Miner Res*, 1991; 6: 1003–11.

53- Zheng Y, Zhou H, Brennan K, Blair JM, Modzelewski JR, Seibel MJ, Dunstan CR. Inhibition of bone resorption, rather than direct cytotoxicity, mediates the anti-tumour actions of ibandronate and osteoprotegerin in a murine model of breast cancer bone metastasis. *Bone* 2007; 40: 471-8.

54- Bauss F, Schimmer RC. Ibandronate: the first once-monthly oral bisphosphonate for treatment of postmenopausal osteoporosis. *Ther Clin Risk Manag.* 2006 Mar;2(1):3-18.

55- Bauss F, Bergström B. Preclinical and clinical efficacy of the bisphosphonate ibandronate in cancer treatment. *Curr Clin Pharmacol.* 2008 Jan;3(1):1-10. Review.

- 56- Roche. Intravenous Bondronat® EU summary of product characteristics. Available at: <http://www.emea.europa.eu/humardocs/PDFs/EPAR/Bondronat/H-101-PI-en.pdf> (accessed 8 October 2007).
- 57- Sambrook P, Oliver I, Goss A. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw. *Aust Fam Physician* 2006; 35: 801-3.
- 58- Diel IJ, Weide R, Köppler H, Antràs L, Smith M, Green J, Wintfeld N, Neary M, Duh MS. Renal impairment in cancer patients following zoledronic acid or ibandronate treatment. *Ann Oncol* 2006; 17 (Suppl. 9): 78 (abstract 1002P).
- 59- De Cock E, Hutton J, Canney P, Body JJ, Barrett-Lee P, Neary MP, Lewis G. Cost-effectiveness of oral ibandronate compared with intravenous (i.v.) zoledronic acid or i.v. generic pamidronate in breast cancer patients with metastatic bone disease undergoing i.v. chemotherapy. *Support Care Cancer* 2005; 13: 975-86.
- 60- De Cock E, Hutton J, Canney P, Body JJ, Barrett-Lee P, Neary MP, Lewis G. Cost-effectiveness of oral ibandronate versus IV zoledronic acid or IV pamidronate for bone metastases in patients receiving oral hormonal therapy for breast cancer in the United Kingdom. *Clin Ther* 2005; 27: 1295-310.
- 61- Tofe AJ, Francis MD, Harvey WJ. Correlation of neoplasms with incidence and localization of skeletal metastases: an analysis of 1,355 diphosphonate bone scans. *J Nucl Med* 1975; 16: 986-9.
- 62- Saeki T, Ookubo K, Takeuchi H, Fujiuchi N. The incidence and management of bone metastasis from breast cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 2006; 33: 1054-7.
- 63- Berenson JR, Rajdev L, Broder M. Managing bone complications of solid tumors. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 1086-9.
- 64- Cheng EY. Prospective quality of life research in bony metastatic disease. *Clin Orthop Relat Res* 2003; (415 Suppl.): S289-97.

65- Mundy GR. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 584-93.

66- Yi B, Williams PJ, Niewolna M, Wang Y, Yoneda T. Tumorderived platelet-derived growth factor-BB plays a critical role in osteosclerotic bone metastasis in an animal model of human breast cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 917-23.

67- Clohisy DR, Mantyh PW. Bone cancer pain. *Clin Orthop Relat Res* 2003; (415 Suppl.): S279-88.

68- Hillner BE, Ingle JN, Chlebowski RT, Gralow J, Yee GC, Janjan NA, Cauley JA, Blumenstein BA, Albain KS, Lipton A, Brown S. American Society of Clinical Oncology 2003 update on the role of bisphosphonates and bone health issues in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4042-57.

69- Gainford MC, Dranitsaris G, Clemons M. Recent developments in bisphosphonates for patients with metastatic breast cancer. *BMJ* 2005; 330: 769-73.

70- Lacy MQ, Dispenzieri A, Gertz MA, Greipp PR, Gollbach KL, Hayman SR, Kumar S, Lust JA, Rajkumar SV, Russell SJ, Witzig TE, Zeldenrust SR, Dingli D, Bergsagel PL, Fonseca R, Reeder CB, Stewart AK, Roy V, Dalton RJ, Carr AB, Kademani D, Keller EE, Viozzi CF, Kyle RA. Mayo clinic consensus statement for the use of bisphosphonates in multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 1047-53.

71- Hortobagyi GN, Smith TL, Legha SS, Swenerton KD, Gehan EA, Yap HY, Buzdar AU, Blumenschein GR. Multivariate analysis of prognostic factors in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1983; 1: 776-86.

72- Swenerton KD, Legha SS, Smith T, Hortobagyi GN, Gehan EA, Yap HY, Gutterman JU, Blumenschein GR. Prognostic factors in metastatic breast cancer treated with combination chemotherapy. *Cancer Res* 1979; 39: 1552-62.

73- Pavlakis N, Schmidt R, Stockler M. Bisphosphonates for breast cancer. Cochrane Database Syst Rev 2005; (3): CD003474.

74-Ross JR, Saunders Y, Edmonds PM, Patel S, Broadley KE, Johnston SR. Systematic review of role of bisphosphonates on skeletal morbidity in metastatic cancer. BMJ 2003; 327: 469.

75- Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D, Gagel RF, Gilsanz V, Guise T, Koka S, McCauley LK, McGowan J, McKee MD, Mohla S, Pendrys DG, Raisz LG, Ruggiero SL, Shafer DM, Shum L, Silverman SL, Van Poznak CH, Watts N, Woo SB, Shane E; Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. J Bone Miner Res. 2007 Oct;22(10):1479-91.

76- Van den Wyngaert T, Huizing MT, Vermorken JB. Osteonecrosis of the jaw related to the use of bisphosphonates. Curr Opin Oncol. 2007 Jul;19(4):315-22.

77- Epstein J, van der Meij E, McKenzie M, Wong F, Lepawsky M, Stevenson-Moore P. Postradiation osteonecrosis of the mandible: a long-term follow-up study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1997; 83:657–662

78- Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. J Oral Maxillofac Surg 2003; 61:1115-1117.

79- Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. J Oral Maxillofac Surg 2004; 62:527–534.

80- Migliorati CA, Casiglia J, Epstein J, Jacobsen PL, Siegel MA, Woo SB. Managing the care of patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis: an American Academy of Oral Medicine position paper. J Am Dent Assoc 2005; 136:1658–1668.

81- Migliorati CA, Schubert MM, Peterson DE, Seneda LM. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bone: an emerging oral complication of supportive cancer therapy. Cancer 2005; 104:83–93.

- 82- Lacy MQ, Dispenzieri A, Gertz MA, Greipp PR, Gollbach KL, Hayman SR, Kumar S, Lust JA, Rajkumar SV, Russell SJ, Witzig TE, Zeldenrust SR, Dingli D, Bergsagel PL, Fonseca R, Reeder CB, Stewart AK, Roy V, Dalton RJ, Carr AB, Kademani D, Keller EE, Viozzi CF, Kyle RA. Mayo Clinic consensus statement for the use of bisphosphonates in multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2006; 81:1047–1053.
- 83- Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63:1567–1575.
- 84- Van den Wyngaert T, Huizing MT, Vermorken JB. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw: cause and effect or a post hoc fallacy? *Ann Oncol* 2006; 17:1197–1204
- 85- Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med*. 2006 May 16;144(10):753-61.
- 86- Starck WJ, Epker BN. Failure of osseointegrated dental implants after diphosphonate therapy for osteoporosis: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1995 Jan-Feb;10(1):74-8.
- 87- Marx RE. Osteoradionecrosis: a new concept of its pathophysiology. *J Oral Maxillofac Surg*. 1983;41:283-8.
- 88- Reuther T, Schuster T, Mende U, Kubler A. Osteoradionecrosis of the jaws as a side effect of radiotherapy of head and neck tumour patients—a report of a thirty year retrospective review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2003;32:289-95.
- 89- Reid IR, Brown JP, Burckhardt P, Horowitz Z, Richardson P, Trechsel U, Widmer A, Devogelaer JP, Kaufman JM, Jaeger P, Body JJ, Brandi ML, Broell J, Di Micco R, Genazzani AR, Felsenberg D, Happ J, Hooper MJ, Ittner J, Leb G, Mallmin H, Murray T, Ortolani S, Rubinacci A, Saaf M, Samsioe G, Verbruggen L, Meunier PJ. Intravenous zoledronic acid in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med*. 2002;346:653-61.

- 90- Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Moulopoulos LA, Melakopoulos I, Bozas G, Koutsoukou V, Gika D, Anagnostopoulos A, Papadimitriou C, Terpos E, Dimopoulos MA. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *J Clin Oncol*. 2005;23:8580-7. [PMID: 16314620]
- 91- Melo MD, Obeid G. Osteonecrosis of the jaws in patients with a history of receiving bisphosphonate therapy: strategies for prevention and early recognition. *J Am Dent Assoc*. 2005;136:1675-81. [PMID: 16383049]
- 92- Durie BG, Katz M, Crowley J. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates [Letter]. *N Engl J Med*. 2005;353:99-102. [PMID: 16000365]
- 93- Purcell PM, Boyd IW. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw. *Med J Aust*. 2005;182:417-8. [PMID: 15850440]
- 94- Senel FC, Saracoglu Tekin U, Durmus A, Bagis B. Severe osteomyelitis of the mandible associated with the use of non-nitrogen-containing bisphosphonate (disodium clodronate): report of a case. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007 Mar;65(3):562-5.
- 95- Drexler HC, Risau W, Konerding MA. Inhibition of proteasome function induces programmed cell death in proliferating endothelial cells. *FASEB J*. 2000; 14:65-77.
- 96- Rajkumar SV, Hayman SR, Lacy MQ, Dispenzieri A, Geyer SM, Kabat B, Zeldenrust SR, Kumar S, Greipp PR, Fonseca R, Lust JA, Russell SJ, Kyle RA, Witzig TE, Gertz MA. Combination therapy with thalidomide plus dexamethasone for newly diagnosed myeloma. *J Clin Oncol*. 2002;20:4319-23.
- 97- Zervas K, Verrou E, Teleioudis Z, Vahtsevanos K, Banti A, Mihou D, Krikelis D, Terpos E. Incidence, risk factors and management of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma: a single-centre experience in 303 patients. *Br J Haematol* 2006; 134:620–623.
- 98- Mehrotra B, Ruggiero S. Bisphosphonate complications including osteonecrosis of the jaw. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006; 1:356–360.

- 99- Hill SL, Holtzman GI, Buse R. The effects of peripheral vascular disease with osteomyelitis in the diabetic foot. *Am J Surg* 1999; 177:282–286.
- 100- Carnevale V, Romagnoli E, D’Erasmus E. Skeletal involvement in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20:196–204.
- 101- Khamaisi M, Regev E, Yarom N, Avni B, Leitersdorf E, Raz I, Elad S. Possible association between diabetes and bisphosphonate-related jaw osteonecrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 92:1172–1175.
- 102- Van Poznak CH, Estilo C, Williams T, Sauter N, Hudis C, Tunick S, Hurn JM, Halpern J. Osteonecrosis of the maxilla and mandible in patients with metastatic breast cancer. *J Bone Miner Res* 2004; 19:S1;S227.
- 103- Ruggiero SL, Fantasia J, Carlson E. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw: Background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Radiol Endod* 2006; 102:433–441.
- 104- Dental management of patients receiving oral bisphosphonate therapy. 2006 Expert panel recommendations of American Dental Association Council on Scientific Affairs.
- 105- Dental management of patients receiving oral bisphosphonate therapy. 2008 Expert panel recommendations of American Dental Association Council on Scientific Affairs.
- 106- Song KE, Min YK, Lee JK, Lee KB, Joo HJ, Kwack KS, Chung YS. A Probable Case of Oral Bisphosphonate-Associated Osteonecrosis of the Jaw and recovery with Parathyroid Hormone Treatment. *Current Therapeutic Research*. 2008; 69:356-62.

- 107- Body JJ, Diel IJ, Lichinitser MR, Kreuser ED, Dornoff W, Gorbunova VA, Budde M, Bergström B; MF 4265 Study Group. Intravenous ibandronate reduces the incidence of skeletal complications in patients with breast cancer and bone metastases. *Ann Oncol* 2003;14:1399-405.
- 108- Boniva oral/intravenous formulations, prescribing information. Available at: <http://www.rocheusa.com/products/Boniva/PI.pdf>. Accessed September 24, 2007.
- 109- Licata AA. Discovery, clinical development, and therapeutic uses of bisphosphonates. *Ann Pharmacother* 2005;39:668-77.
- 110- Body JJ, Coleman R, Clezardin P, Ripamonti C, Rizzoli Y, Aapro M. International society of geriatric oncology (SIOG) clinical practice recommendations for the use of bisphosphonates in the elderly. *Eur J Cancer* 2007;43:852-8.
- 111- Strampel W, Emkey R, Civitelli R. Safety considerations with bisphosphonates for the treatment of osteoporosis. *Drug Saf* 2007;30:755-63.
- 112- Bergner R, Henrich DM, Hoffmann M, Honecker A, Mikus G, Nauth B, Nagel D, Uppenkamp M. Renal safety and pharmacokinetics of ibandronate in multiple myeloma patients with or without impaired renal function. *J Clin Pharmacol* 2007;47:942-50.
- 113- Bobba RS, Beattie K, Parkinson B, Kumbhare D, Adachi JD. Tolerability of different dosing of bisphosphonates for the treatment of osteoporosis and malignant bone disease. *Drug Saf* 2006;29:1133-52.
- 114- Edwards BJ, Gounder M, McKoy J, Raisch D, Farrugia M, Cesar M, Marx R, Ruggiero S, Dimopoulos M, Bennett C. Bisphosphonate use and osteonecrosis of the jaw: pharmacovigilance and reporting of this serious adverse event from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) project. *J Clin Oncol* 2007;25(18s):June Supplement, Abstract 6519.

115- Malden NJ, Pai AY. Oral bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaws: three case reports. *Br Dent J* 2007;203:93-7.

116- Migliorati CA, Armonis BN, Nicolatou-Galitis O. Oral osteonecrosis associated with the use of ibandronate: report of a case and clinical implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Jul;106(1):e18-21.PMID: 18585606 [PubMed - indexed for MEDLINE]

117- Reid IR, Bolland MJ, Grey AB Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity? *Bone* (2007) 41:318–320

118- Bauss F, Pfister T, Papapoulos S. Ibandronate uptake in the jaw is similar to long bones and vertebrae in the rat. *J Bone Miner Metab.* 2008;26(4):406-8. Epub 2008 Jul 4.

119- Allen MR, Burr DB. Mandible matrix necrosis in beagle dogs after 3 years of daily oral bisphosphonate treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2008;66:987-94.

120- Burr DB, Allen MR. Mandibular necrosis in beagle dogs treated with bisphosphonates. *Orthod Craniofac Res* 2009;12:221-8.

121- Senel FC, Duman MK, Muci E, Cankaya M, Pampu AA, Ersoz S, Gunhan O. Jaw bone changes in rats after treatment with zoledronate and pamidronate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 Mar;109(3):385-91. Epub 2010 Jan 8.

122-Sonis ST, Watkins BA, Lyng GD, Lerman MA, Anderson KC. Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients. *Oral Oncol* 2009;45:164-72.

123- Eberhardt C, Habermann B, Müller S, Schwarz M, Bauss F, Kurth AH. The bisphosphonate ibandronate accelerates osseointegration of hydroxyapatite-coated cementless implants in an animal model. *J Orthop Sci.* 2007 Jan;12(1):61-6. Epub 2007 Jan 31.

124- Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG, Kogan R. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67:159-6.