

T.C  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
AĞIZ, DİŞ, ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI



**BİFOSFONAT VERİLEN RATLARDA DİŞ ÇEKİMİ  
SONRASINDA İLOPROSTUN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ  
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**BURAK ÖNER**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Timuçin BAYKUL**

**Bu tez Tubitak 1002 Hızlı Destek Programı tarafından 214-S-658 Proje  
numarası ile desteklenmiştir**

**Tez. No: 140**

**2016-İSPARTA**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 03/06/2016

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Timuçin BAYKUL

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye

: Prof. Dr. Barış Çağrı DELİLBAŞI  
Medipol Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

Üye

: Prof. Dr. Özlem ÖZMEN  
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Patoloji Anabilim Dalı

Üye

: Doç. Dr. Gülperi KOÇER  
Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

Üye

: Yrd. Doç. Dr. Yavuz FINDIK  
Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç.Dr.Mustafa KAYAN

Enstitü Müdürü

## BEYAN

“Bifosfonat Verilen Ratlarda Diş Çekimi Sonrasında İloprostun Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi” adlı Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Dt. Burak ÖNER

İmza

Danışman

Prof. Dr. Timuçin BAYKUL

İmza

## ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca yakın ilgi ve desteğini hissettiğim, doktora tezimin her aşamasında bilgisini ve emeğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Timuçin BAYKUL'a ve Anabilim Dalı Başkanım Doç. Dr. Gülperi KOÇER'e;

Doktora tezimi destekleyen Tubitak 1002 Hızlı Destek Programı'na;

Tezimin deneysel kısmının gerçekleştirildiği SDÜ Deneysel Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı ve personeline;

Araştırma verilerimizin histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmesini planlayan ve gerçekleştiren Prof. Dr. Özlem Özmen'e;

Araştırmamızın istatistiksel değerlendirmesini yapan Yrd. Doç. Dr. Özgür Koşkan'a;

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarıma, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Klinik ve Ameliyathane personeline teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	ii
BEYAN .....	iii
ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ .....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Yara İyileşmesi.....	3
2.1.1. Yara iyileşmesi aşamaları.....	3
2.1.2. Diş çekiminde yara iyileşmesi.....	4
2.2. Bifosfonatlar .....	6
2.2.1. Bifosfonatların tarihçesi .....	6
2.2.2. Bifosfonatların kimyasal yapısı.....	8
2.2.3. Bifosfonatların etki mekanizması.....	11
2.2.3.1. Osteoklastlara direk etkileri.....	14
2.2.3.2. Osteoklastlara etkileri.....	15
2.2.3.3. Osteositler üzerindeki etkileri.....	15
2.2.3.4. Epitel üzerindeki etkileri .....	15
2.2.3.5. İmmün sisteme etkileri .....	16
2.2.3.6. Anti anjiyojenik etkileri.....	16
2.2.3.7. Tümör hücrelerine etkisi.....	16
2.2.3.8. Protozoa üzerine etkileri.....	17
2.2.3.9. Arteryel kalsifikasyona etkileri.....	17
2.2.3.10. Fraktür iyileşmesinde etkileri .....	17
2.2.3.11. Kıkırdak rezorbsiyonuna etkileri .....	18
2.2.4. Bifosfonatların yan etkileri.....	18
2.3. İlaçlara bağlı çene kemiklerinde osteonekroz(İÇKON) .....	19
2.3.1 Risk faktörleri.....	19
2.3.1.1. Sistemik risk faktörleri .....	20
2.3.1.2. Lokal risk faktörleri.....	20
2.3.1.3. Diçkon için risk faktörleri.....	22

2.3.1.4. Çene kemiklerinde osteonekroza yol açan diğer ilaçlar .....	22
2.3.1.5. Teşhisi.....	24
2.3.1.6. Klinik belirtileri .....	24
2.3.1.7. İçkon evreleri.....	25
2.3.1.8. İçkon tedavileri.....	26
2.3.1.9. Ek tedaviler.....	27
2.3.1.9.1. Hiperbarik oksijen tedavisi .....	27
2.3.1.9.2. Ozon tedavisi .....	28
2.3.1.9.3. Lazer tedavisi.....	29
2.3.1.9.3.1. Düşük doz lazer tedavisi (LLLT) .....	29
2.3.1.9.3.2. Mini-invaziv lazer tedavisi .....	29
2.3.1.9.3.3. Trombositten zengin plazma (TZP).....	30
2.3.1.9.3.4. Paratiroid hormon .....	30
2.4. İloprost.....	31
2.4.1. İloprostun çeşitli tedavilerde kullanımı .....	32
2.4.2. İloprostun kemikte kullanımı.....	32
2.4.3. İloprostun yan etkileri.....	33
2.4.4. İloprost ve metastaz .....	33
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. Deney hayvanları.....	34
3.2.İlaçların hazırlanması ve uygulanması .....	35
3.3.Cerrahi girişim.....	37
3.4. Biyopsi alınması .....	37
3.5. Operasyon sonrası bakım.....	38
3.6. Histopatolojik inceleme .....	39
3.7. İmmunhistokimyasal inceleme .....	40
3.8. İstatistik yöntem .....	41
4.BULGULAR .....	43
4.1. Çalışmaya dâhil edilen hayvan sayıları .....	43
4.2. Makroskobik inceleme .....	44
4.3. Histopatolojik inceleme .....	44
4.4. İmmunohistokimyasal bulgular .....	47
4.5. Histopatolojik ve immunohistokimyasal analizler için istatistiksel bulgular .....	61
4.6. Canlı ağırlık bulguları.....	68
5. TARTIŞMA.....	71

5.1. Deney hayvanı seçimi.....	71
5.2. Diş çekimi.....	72
5.3. ZOL uygulaması.....	73
5.3.1. Uygulama şekli.....	73
5.3.2. Dozu ve uygulama zaman aralığı.....	73
5.4. İloprost uygulaması ve dozajı.....	74
5.5. Hayvanların canlı ağırlıklarının zamana bağlı değişimi.....	75
5.6. İÇKON için kullanılan bazı belirteçlerin incelemesi.....	76
5.7. Histopatoloji incelemesi.....	77
5.8. İmmünohistokimyasal inceleme.....	78
5.8.1. Alkalen fosfataz.....	78
5.8.1.1. Kemik alkalen fosfataz.....	78
5.8.2. Anjiogenin.....	80
5.8.3. Kollojen IV.....	81
5.8.3.1. Yara iyileşmesi açısından kollojen IV.....	81
5.8.4. Fibronektin.....	82
5.8.5. Osteopontin.....	84
5.8.5.1. Kemik remodelinginde rolü.....	84
5.8.5.2. Yara iyileşmesi açısından osteopontin.....	84
5.8.6. Osteokalsin.....	86
5.8.7. VEGF(Vasküler endotelyal büyüme faktörü).....	87
5.8.7.1. Yara iyileşmesi açısından VEGF.....	88
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	90
ÖZET.....	91
Kaynaklar.....	93
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	119
EKLER.....	120
Ek-1.....	121
Ek-2.....	123
ÖZGEÇMİŞ.....	132

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AAOMS</b>	: Amerikan Oral ve Maksiyofasiyal Cerrahi Derneği
<b>aFGF</b>	: Asidik Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>AİÇKON</b>	: Antirezorptif İlaçlara Bağlı Çene Kemiklerinde Osteonekroz
<b>ALP</b>	: Alkalen Fosfataz
<b>AMP</b>	: Adenozin Monofosfat
<b>ANG</b>	: Anjiogenin
<b>ANG-1</b>	: Anjiopietin-1
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>AVN</b>	: Avasküler Nekroz
<b>B-ALP</b>	: Kemik Alkalen Fosfataz
<b>bFGF</b>	: Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>BİÇKON</b>	: Bevasizumab İlişkili Çene Kemiklerinde Osteonekroz
<b>BİÇO</b>	: Bifosfonatla İlişkili Çene Osteonekrozu
<b>BMP</b>	: Kemik Morfojenik Protein
<b>BMZ</b>	: Bazal Membran Zonu
<b>BP</b>	: Bifosfonat
<b>CTx</b>	: Karboksi Terminal Telopeptid
<b>(d)</b>	: Komşu diş
<b>DAP</b>	: Diaminobenzidin
<b>DİÇKON</b>	: Denosumab İlişkili Çene Kemiklerinde Osteonekroz
<b>DPD</b>	: Deoksipiridinolin
<b>EDRF</b>	: Endotel Derived Release Factor
<b>Er-YAG</b>	: Erbiyum - Takviyeli İtiryum Alüminyum Gamet
<b>FBN</b>	: Fibronektin
<b>FGF</b>	: Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>HBO</b>	: Hiperbarik Oksijen
<b>HE</b>	: Hematoksilen Eozin
<b>IL-6</b>	: interlökin-6
<b>IM</b>	: İntramuskuler
<b>IP</b>	: İntraperitoneal
<b>IV</b>	: İntravenöz
<b>ILO</b>	: İloprost



<b>İÇKON</b>	: İlaça Bağlı Çene Kemiklerinde Osteonekroz
<b>KON</b>	: Kontrol
<b>LLLT</b>	: Düşük Doz Lazer Tedavisi
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>mg</b>	: Miligram
<b>M-CSF</b>	: Makrofaj Koloni Stimule Edici Faktör
<b>mTOR</b>	: Rapamisin Memeli Hedefi
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>NSAID</b>	: Nonsteroidal Anti Enflamatuar İlaç
<b>NTx</b>	: Amino Terminal Telopeptit
<b>OC</b>	: Osteokalsin
<b>OI</b>	: Osteogenesis İmperfekta
<b>OPG</b>	: Osteoprotegerin
<b>OPN</b>	: Osteopontin
<b>ORI</b>	: Osteoklast Rezorpsiyon İnhibitörü
<b>PAH</b>	: Pulmoner Arteryal Hipertansiyon
<b>PBS</b>	: Fosfat Tampon Solüsyon
<b>PDGFR</b>	: Trombosit Türevli Büyüme Faktörü Reseptörü
<b>PGI2</b>	: Prostoglandin I2
<b>PS</b>	: Prostosiklin
<b>RANKL</b>	: Nükleer Faktör Kappa-Beta Ligandının Reseptör Aktivatörü
<b>PTH</b>	: Paratiroid Hormon
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>RNS</b>	: Reaktif Nitrojen Türleri
<b>TAO</b>	: Tromboanjitis Obliterans
<b>Tc99m MDP</b>	: Teknesyum 99m Metilen Difosfoat
<b>TGF-Alfa</b>	: Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa
<b>TGF-Beta</b>	: Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta
<b>TKI</b>	: Tirozin Kinaz İnhibitörü
<b>TZP</b>	: Trombositten Zengin Plazma
<b>TxA2</b>	: Tromboksan A2
<b>VEGF</b>	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
<b>(yk)</b>	: Yeni Kemik

**ZOL** : Zoledronik Asit  
**5-HT** :5-hidrokitriptamin  
> : Büyüktür  
< : Küçüktür



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b>	Yara iyileşmesinin aşamaları .....	3
<b>Şekil 2.</b>	Yara iyileşme evreleri .....	4
<b>Şekil 3.</b>	Tc99 kullanılarak yapılan kemik taraması(22) .....	7
<b>Şekil 4.</b>	Bifosfonatların tarihi(22) .....	8
<b>Şekil 5.</b>	Pirofosfat ve geminal bifosfonat .....	9
<b>Şekil 6.</b>	Basit(1.jenerasyon) BPlar, R2 zincirinin primer, sekonder veya tersiyer tersiyer fonksiyonuna göre nitrojen içeren N-BPlar(2.jenerasyon) ve R2 zincirindeki heterosiklik halkaya sahip N-BPlar(3. jenerasyon) .....	10
<b>Şekil 7.</b>	Bifosfonatların mevalonat yolundaki etkileri. ....	11
<b>Şekil 8.</b>	Zol uygulama zamanları.....	36
<b>Şekil 9:</b>	İloprost uygulaması zamanları.....	36
<b>Şekil 10.</b>	CTX ve osteonekroz riski (249).....	76

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b>	A zol uygulaması B iloprost uygulaması.....	36
<b>Resim 2.</b>	Biyopsi alınması .....	37
<b>Resim 3.</b>	Postoperatif Analjezik ve Antibiyotik .....	38
<b>Resim 4.</b>	A dokuların dekalsifikasyonu B kesitlerin kasete alınması C kesitlerin kasetlerde depolanması.....	40
<b>Resim 5.</b>	Diş çekimi sonrası 15. günde gruplardan alınan örneklerdeki histopatolojik bulgular.....	45
<b>Resim 6.</b>	Grupların diş çekiminden 45 gün sonraki diş çekim alanlarındaki bulgular .....	46
<b>Resim 7.</b>	Gruplara göre 15.günde ALP reaksiyonları.....	47
<b>Resim 8.</b>	Diş çekiminden 15 gün sonraki ANG immunoreaksiyonu.....	48
<b>Resim 9.</b>	15 günlük grupta kollagen IV immuopozitif reaksiyon.....	49
<b>Resim 10.</b>	Diş çekiminden 15 gün sonra fibronektin immunoreaksiyonu.....	50
<b>Resim 11.</b>	OPN immunoreaksiyonu.....	51
<b>Resim 12.</b>	Çalışmanın 15 günlük grubundaki gruplarda OC immunoreaksiyonu....	52
<b>Resim 13.</b>	VEGF immunoreaksiyonunun diş çekiminin 15.günündeki görünümü... 53	
<b>Resim 14.</b>	Çalışmanın 45. gününde bağ dokuda (oklar) ve yeni şekillenen kemiklerde artmış pozitif ALP immunoreaksiyonu. ....	54
<b>Resim 15.</b>	Çalışmanın 45. gününde gruplarda ANG immunoreaksiyonu.....	55
<b>Resim 16.</b>	Çalışmanın 45. günlük periyodunda kollagen IV immunoreaksiyonunun gruplara göre görünümü. ....	56
<b>Resim 17.</b>	Çalışmanın 45. gününde artmış fibronektin immunoreaksiyonu.....	57
<b>Resim 18.</b>	Azalmış OPN immunoreaksiyonu. ....	58
<b>Resim 19.</b>	Çalışmanın 45. Gününde tüm gruplarda negatif OC immunoreaksiyonu.. ..	59
<b>Resim 20.</b>	Diş çekimi sonrası 45. günde Azalmış VEGF immunoreaksiyonu.. ..	60

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b>	R2 zincir yapısındaki farklılığa göre bifosfonatların sınıflandırılması. ....	10
<b>Tablo 2.</b>	Yan zincirlerine ve rölatif etkisine göre kullanılan bifosfonatlar.....	11
<b>Tablo 3.</b>	AAOMS tanımlamasına göre BİÇO ve İÇKON farkları. ....	24
<b>Tablo 4.</b>	İÇKON'un klinik görünümü (140).....	24
<b>Tablo 5.</b>	İÇKON evreleri .....	26
<b>Tablo 6.</b>	İÇKON Tedavi yaklaşımları.....	27
<b>Tablo 7.</b>	Hayvan Çalışma grupları.....	34
<b>Tablo 8.</b>	Çalışmaya dâhil edilen hayvan sayıları .....	43
<b>Tablo 9.</b>	İmmünohistokimyasal boyamalarda elde edilen 0-3 arasındaki patoloji skorlarının ortalamaları.....	64
<b>Tablo 10.</b>	İmmünohistokimyasal boyamaların her bir zamanda ayrı sıra sayı ortalamasının gruplara göre karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis sonuçları .....	65
<b>Tablo 11.</b>	İmmünohistokimyasal boyamaların 15. ve 45. günlerdeki gruplara göre sıra sayı ortalamaları üzerinde zamanların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U sonuçları .....	66
<b>Tablo 12.</b>	Grup-uygulama zamanı- dönem interaksiyonuna ilişkin alt grup ortalamaları.....	68
<b>Tablo 13.</b>	Grup - uygulama zamanı interaksiyonuna ilişkin alt grup ortalamaları ....	69
<b>Tablo 14.</b>	Grup-dönem interaksiyonuna ilişkin alt grup ortalamaları .....	69
<b>Tablo 15.</b>	Uygulama zamanı-dönem interaksiyonuna ilişkin alt grup ortalamaları ..	70

## 1.GİRİŞ

Son on yılı aşkın bir süredir bifosfonatlar, osteoklastik aktivite üzerinde inhibitör etkileri ve antianjiyotik özellikleri nedeniyle kemik metastazlarıyla seyreden meme, prostat, akciğer kanserleri, multiple myeloma gibi malignitelerin, osteoporoz, osteopeni, Paget hastalığı, osteogenezis imperfekta gibi sistemik sağlık sorunlarının standart tedavisinde kullanılmaktadır (1).

Bifosfonatların kemik metabolizması üzerine etkileri doğrudan kemik yıkımından sorumlu osteoklastik aktivitenin engellenmesiyle sağlanır. Bifosfonatlar sadece osteoklast hücrelerine etkili olmayıp osteoblastik aktiviteyi de engellerler. Ayrıca ekstrasellüler matriksteki tümör hücre tutulumunu, tümörün invazyonunu engelleme ve/veya tümör hücresinin apoptozu gibi antitümör etkileri de bulunmaktadır (2). Bifosfonatlar fizyolojik dozlarda uygulandıklarında, kemiğe olan spesifik afinitelerinden dolayı yeni oluşan kemikte ve osteoklastların yakınında çökeler. Bifosfonatlar aynı zamanda vasküler obliterasyona neden olan anjiyogenezisi engelleyecek aktiviteye sahiptir (3).

Bifosfonat kullanımına bağlı çene kemiklerinde osteonekroz ilk kez Marx ve ark. tarafından rapor edilmiştir (4). 2014 yılında Amerikan Oral ve Maksiyofasiyal Cerrahi Derneği (AAOMS) yayınladığı pozisyon makalesinde terimi 'İlaca Bağlı Çene Kemiklerinde Osteonekroz (İÇKON) olarak tanımlamıştır (5). Bu değişiklik antirezortif ajanlar (denosumab) ve antianjiyotik ajanlar (bevasizumab, sunitinib)'in kullanımından sonra artan çene kemiklerinde osteonekroz yayınlardan kaynaklanmaktadır.

Çene kemiklerinde bifosfonatlara bağlı osteonekroz gelişmesinin nedeni patogenezi hakkında birçok hipotez olsa da halen tam olarak anlaşılamamıştır (6,7).

### İloprost

İloprost prostasiklinin 2. kuşak bir yapısal analogudur. İloprostun ilk klinik etkinliği Burger hastalığında, sonrasında ateroskleroz, trofik hastalıklar, aseptik osteonekroz, buz yanığı, ortopedide kemik iliği ödeminde gösterilmiştir. Aynı zamanda PGI<sub>2</sub>, kemik metabolizmasında önemli bir mediatör kapsamına alınmıştır

(8). Etkileri, osteoblast ve osteoklast prekürsörlerinin diferansiyonuna ve replikasyonuna yol açarak olmaktadır (9).

Bazı klinik çalışmalarda avasküler nekrozun erken evrelerinde iloprost ile ağrı kesilmesi ve eklem fonksiyonlarında artma sağlandığı ve evre 1 ve 2 aseptik osteonekroz hastalarında iloprost ile başarılı bir tedavi sağlandığı gösterilmiştir (10, 11). Ancak literatürde iloprostun İÇKON tedavisi için bir çalışması bulunmamaktadır.

Bu gibi çalışmalara literatürde yakın zamanda yer alan bir hastalık olması ve henüz bilinen bir medikasyonu bulunmaması nedeniyle gereksinim duyulmaktadır. Halen İÇKON tedavisinde standart bir tedavi rejimi bulunmamaktadır. Bununla beraber, cerrahi ile birlikte uygulanan ek terapilerden başka direkt olarak yapılan bir tedavi yöntemi de literatürde yer almamaktadır. İşte bu nedenlerden ötürü, yapacağımız bu çalışma literatüre İÇKON'nun tedavisinde katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Tüm bu veriler ışığında bu tezin amacı, bifosfonatların çene kemikleri ve yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerini araştırmak ve iloprostun anjiyojenik özelliklerinden yararlanarak ilaca bağlı çene kemiklerinde osteonekroz oluşumunun engellenmesi için iloprostun etkinliğinin değerlendirilmesidir.

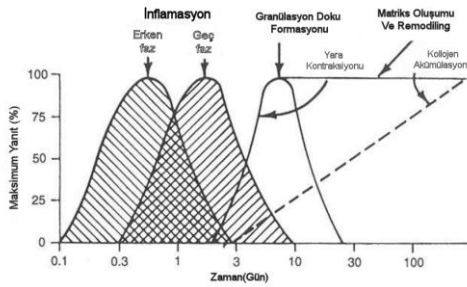
## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Yara İyileşmesi

Yara canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanmaktadır (12). Yara iyileşmesi travma ile başlatılan sistematik, hücrel ve biyokimyasal olayların yeni doku oluşumu ile sonuçlanmasıdır. Yara iyileşmesinin temel prensibi doku hasarını en aza indirmek, yeterli doku perfüzyon ve oksijenleşmesini, bunun yanı sıra dokunun düzgün beslenmesini ve nemlenmesini sağlamaktır. Yara kısmi ve tam kalınlıkta yaralar olarak sınıflandırıldığı gibi akut ve kronik yara, açık ve kapalı yara olarak da ayrılmaktadır. Yara açık ise deri altı dokular da açıkta kalır ve atmosferle temas halindedir. Bu durumdan doku ve hücreler olumsuz etkilenirler. Kısa sürede deri ile kapatılmazsa enfeksiyon, doku kuruluğu, eritrosit, lökosit, protein, immun madde v.s. kaybı gibi bazı olumsuz faktörler yara iyileşmesini etkiler (13).

#### 2.1.1. Yara iyileşmesi aşamaları

Yara iyileşmesi sürekli olarak hücre-hücre ve hücre-matriks ilişkilerinin olduğu inflamasyon (0-3 günler), hücrel proliferasyon (3-12. günler) ve remodelizasyon (3-6 ay) aşamalarını kapsamaktadır. Yara iyileşmesi aşamaları şekil 1' de gösterilmiştir.



Şekil 1. Yara iyileşmesinin aşamaları

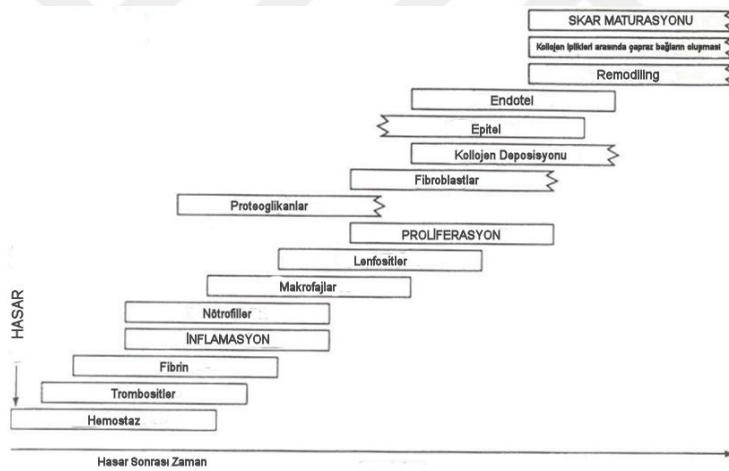
Yara tamir mekanizması 4 ana süreç şeklinde gözlenir. Bunlar inflamasyon, yara kontraksiyonu, epitelizasyon ve granülasyon dokusunun oluşumudur. İnflamasyon, doku bütünlüğünün bozulmasının hemen ardından başlar, trombositler pıhtılaşma faktörleriyle çekici hale gelirler ve kanamayı durdurmak için hemostatik plak oluştururlar.



Prostaglandinler (PGE ve PGE2) inflamasyon alanında salınır. Bu faktörler akut inflamasyonun son medyatörleri olup beyaz kan hücreleri ve fibroblastlar için hemostatik rol oynarlar. Aktif hareketli beyaz kan hücreleri yaraya göç eder ve hücrel debris oluşturmaya başlarlar.

Son aşamada yara kontraksiyonu yavaş yavaş başlar ancak 3-4 gün sonra hız kazanır yaranın kenar sınırlarında mevcut bulunan miyofibroblastlar yara kontraksiyonu için bir makine vazifesi görürler. Yaranın epitel ile örtülmesi yara sınırları yakınında bazal hücrelerin proliferasyonu ve göçü ile meydana gelmektedir. Yara içindeki hematoma yeni kapiller ve fibroblastlar içeren granülasyon dokusu ile yer değiştirir.

Fibroblastlar bağ doku mukopolisakkaritlerinin üretiminden sorumlu hücrelerdir. Fibroblastlar yara bölgesine göç eder ve ilave fibronektin üretirler(14). Son olarak yeni sinir lifleri ve yara izi oluşur (15)(şekil 2).



Şekil 2. Yara iyileşme evreleri.

### 2.1.2. Diş çekiminde yara iyileşmesi

En yaygın oral yaralardan birisi de, diş çekimi ardından çekim soketidir (16). Çekim yaralarındaki iyileşme diğer yara iyileşmelerinden farklı değildir, fakat daha çok komplikasyon oluşturanıdır (17). Çekim soketindeki yara iyileşmesi, yumuşak doku yara iyileşmesine benzer prensipler gösterir ve kemik dokusunu da içeren, pıhtı oluşumu, re-epitelizasyon, granülasyon dokusu formasyonu ve kemik formasyonu evrelerini içerir. Bu da çekim soketi yara iyileşmesinin, hem yumuşak doku iyileşmesini hem de kemik doku iyileşmesini kapsadığını göstermektedir (16).

Çekimden hemen sonra meydana gelen reaksiyon, alveole kan dolması ve eritrositlerin küme yaparak çökmesidir. Fibrin ağları oluşurken, periodontal membrandaki damarlar kontrakte olur. Çekimden sonraki ilk saatler çok önemlidir. Alveole kan dolması engellenirse yara iyileşmesi gecikir ve kısmen iyileşme olmayabilir.

İlk 24 saatin sonunda damarlarda genişleme olur. Bunu lökosit diapedesisi izler. Alveolü dolduran fibrin iyileşmenin temelidir. 3.günde periodontal membrandan çıkan fibroblastlar yara çevresinden merkeze yayılmaya başlarlar. Yüzey epiteli proliferasyona başlar. Dişi saran alveol kemiğinde osteolitik bir aktivasyon belirmeye başlar. Bu zamanda nadiren de olsa endotel hücresi görülebilmektedir. 5.gün sonunda yara tabanında fibroblastlardan ve damar endotelinden yapılmış bir doku mevcuttur. Periodontal membran artıkları halen görülebilmektedir fakat yeni yapılacak kemik ile ilgili hiçbir belirti görülmez. Yara yüzeyinde kalın bir lökosit tabakası ve kenarlarda yüzey epiteli proliferasyonu vardır. Yedinci günde fibrin ağı içindeki fibroblastlar çoğalmıştır. Yeni kapillerin sayısı artmıştır. Periodontal membran artıklarında dejenerasyon vardır. Alveolar kemikteki osteolitik aktivite ve belirli bir aşınma görünmektedir. Yüzey epiteli ilerlemiştir ve küçük yaralarda epitelizasyon tamamlanmış olabilmektedir. Bu aşamada yapı iskeleti yapımı tamamlanmıştır. ondördüncü günde yapı iskeletinin yerini olgun granülasyon dokusu almaya başlar. Yaranın periferinde henüz kalsifiye olmamış genç trabeküller farkedilmektedir. Genç kemik trabekülleri, periodontal membran artıklarındaki pluripotent hücrelerin osteoblastlara dönüşmeleri ile meydana gelir. Alveolar soket kortikal kemiğinin yeniden yapımı başlamış olsa da artık eskisi kadar yüksek değildir. Yüzey epitelizasyonu tamamlanmıştır. Yirmibirinci günden sonrası ise iyileşmenin son evresi ve kemikleşmenin tamamlanma süresinin başlangıcıdır (17). Diferansiye olan ve kemik depolayan osteojenik hücreler, soketin tabanından ve duvarlarından, devam etmekte olan granülasyon dokusuna doğru göç ederler. Kemik iliğinden köken alan mezenkimal hücreler, sitokinler, trombositler, inflamatuvar hücreler ve kemik hücrelerinden salgılanan büyüme faktörleri tarafından osteojenik diferansiyasyon uyarılır. Ek olarak, yaralanma osteojenik aktiviteyi ve soket duvarlarının remodelingini stimüle ederek, kemik matriksinde depolanan büyüme faktörleri, Transforming Growth Faktör- $\beta$  (TGF-  $\beta$ ) ve kemik morfojenik protetinleri (BMPs) gibi sitokinlerin salınmasını sağlar. Bu yüzden kemik defekti, yumuşak

dokudan kemiğe döner (16). Kısmen kalsifiye olmuş trabeküller kemik grafilinde görülmeye başlanmıştır. Granülasyon dokusundaki damarların azalmasına paralel olarak osteoblastlar osteoid madde yapımına başlarlar. Ortamın alkallenmesi sonucu osteoblastların alkalen fosfataz yapımı uyarılır ve osteoidler üzerindeki kallus kalsifiye olmaya başlar (17,18).

Çoğu çekim soketi, çekimi takiben 8 hafta sonra kemikle dolar. Kemik remodelingi 6 ay süreyle kişiye özgü varyasyonları da içerecek şekilde kusursuzca devam eder. Soket iyileşmesinin remodelizasyonu sırasında soket duvarı boyutları değişir. Önemli miktarda kemik yüksekliği ve genişliği soket duvarlarının rezorpsiyonuna bağlı olarak kaybedilir. Kaybedilen kemik, her bireyin kendine özgü ve komşu dişlerin varlığı, tedavi protokolü ve sigara kullanımı gibi parametrelere bağlıdır. Soketi, kemikle greftlemek ve grefti membranla korumak, ekstraksiyon sonrası kemik kaybının önlenmesinde umut verici sonuçlar göstermektedir (16).

## **2.2. Bifosfonatlar**

### **2.2.1. Bifosfonatların tarihçesi**

Bifosfonatlar, günümüz tıbbında osteoporozun, Paget hastalığının, maligniteye bağlı hiperkalseminin, solid tümörlerin osteolitik kemik metastazlarının ve multipl miyelomanın osteolitik lezyonlarının tedavisi amacıyla kullanılan yeni sınıf ajanlardır. Bu bileşikler, kemik mineralizasyonunun fizyolojik bir inhibitörü olan pirofosfatların stabil karbon analoglarıdır (19).

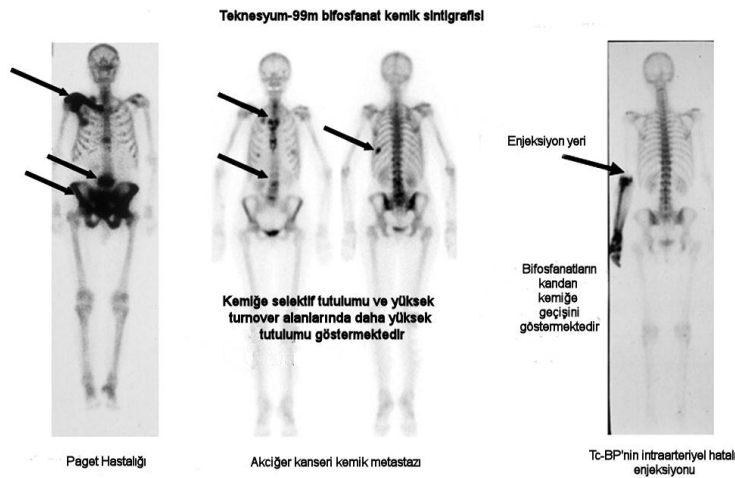
Kimyagerler tarafından 19.yüzyılın ortalarından beri bilinen bifosfonatlar, ilk olarak 1865te Almanya'da sentezlenmiştir. İnsanlarda tedavi maksadıyla ilk olarak kullanılan etidronat, 100 yıl önce sentezlenmiştir (20). İlk olarak korozyon ve kireçlenme önleyici ajan gibi çeşitli endüstriyel işlemlerde kullanılmıştır (21). 'Su yumuşatıcı' özelliği 1930larda polifosfatlarda bulunduğu gibi kalsiyuma bağlanarak kalsiyum karbonatı inhibe etmesine bağlıdır. Bu özellik daha sonrasında evsel ve endüstriyel sularda kireçlenme önleyici olarak kullanılmasına yol açmıştır (22).

Bifosfonatlar, pirofosfatların hidroksiapatit kristallerine bağlandığı ve kristal gelişimini inhibe ettiğinin bulunmasından sonra kalsifikasyon inhibitörü olarak

keşfedilmiştir. Bifosfonatların kemik minerallerine yüksek afinitesi ve hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda kalsifikasyonu önlediği bulunmuştur (23).

Science dergisinde 1969'da bifosfonatlardan nitrojen içermeyen formları etidronat ve klondronat için yayınlanmış ilk bilimsel yayında kristal formasyonu ve çözünmesi üzerinde vasküler kalsifikasyon ve kemik rezorpsiyonu etkileri tanımlanmıştır (24). Bu dönemde ismi difosfonat olarak geçmesine karşın daha sonralarda bifosfonat olarak tanımlanacaktır. Bifosfonatların bu erken bulgularına dayanarak Marion Dave Francis etidronatın fizikokimyasal etkilerini araştırarak diş macunları için dental plak uzaklaştırıcı ajan olarak kullanılma potansiyeli açısından araştırmalar yapacaktır (22). Francis aynı zamanda, kalay iyonları ve kısa ömürlü gamma yayan izotop kompleksi olan Tc99m kullanarak bifosfonatları kemik sintigrafisinde değerlendirmiştir (25)(Şekil 3). Ayrıca Tc99m ile yapılan kemik taramalarında da yapım ve yıkım olaylarının fazla olduğu mandibula ve maksillada yoğun infiltrasyon gösterdikleri bilinmektedir (19).

Osteoporozun önlenmesi üzerine ilk yayın ise 1971 de Herbert Fleisch'in osteoporoz rat modeli üzerinde siyatik sinir kısmında osteoporozun immobilizasyonunun simule edilmesi olmuştur (26). 1969 yılında Lancet dergisinde yayımlanan bir çalışmada ilk kez etidronat isimli bifosfonat çocuklarda myositis ossificans progressiva [şu anki adı fibrodysplasia ossicans progressiva(FOP)] üzerinde kullanılmıştır (22). Progresif myositis ossifikans hastalığına sahip 16 aylık bir bebek, oral etidronat kullanılarak başarı ile tedavi edilmiştir (27).

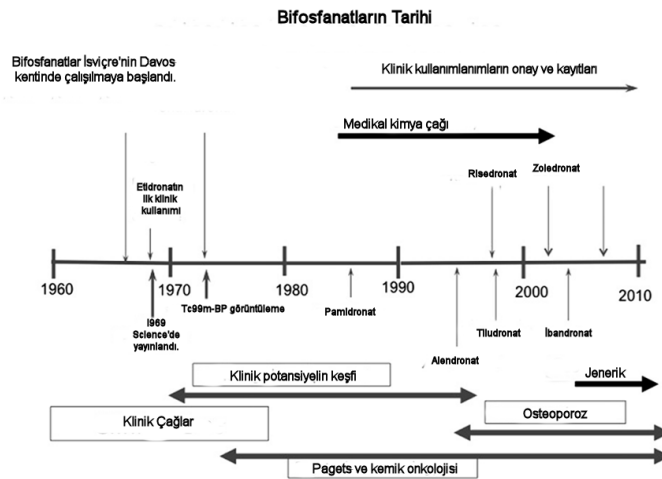


Şekil 3. Tc99 kullanılarak yapılan kemik taraması(22)

Daha sonraları H. Fleisch ve ark., bir takım hayvan deneylerinde bifosfonatların osteoklastik aktiviteyi inhibe ederek pozitif bir kalsiyum dengesinin elde edildiğini göstermiştir (21,23). Kemik hastalıklarındaki başarısı ve gerçek bir hikâyeye sahip olmaları nedeniyle, osteopati diagnoz ve tedavilerindeki hızlı ilerleme bifosfonata bağlanabileceği gösterilmiştir (27).

Geçen 30 yıl içinde, yeni ve daha potent bifosfonatlar bulunmuştur. Günümüzde, osteoklastik aktivite bozuklukları (kesin veya rölatif) ile karakterize tüm osteopatiler bifosfonatlar ile tedavi edilmektedir ve bu tüm kemik hastalıklarının %90ını oluşturmaktadır (27). Bifosfonatlar artık postmenapozal osteoporoz tedavisi için majör ilaçtır ve hastaların çoğunda tedavinin ilk basamağını oluşturmaktadır (28).

En son bifosfonat uygulamaları, osseoz metastazların önlenmesi, kemik ağrısının elevasyonu ve antiproliferatif aktiviteleri nedeniyle multiple myeloma ve metastatik kemik hastalıklarını içermektedir. Ayrıca deneysel olarak sarkomalarda da kullanılmaktadır. Son çalışmalar parazit enfeksiyonlarında neden olan organizmaların proliferasyonunun inhibisyonu üzerinde yoğunlaşmıştır (27)(Şekil 4).

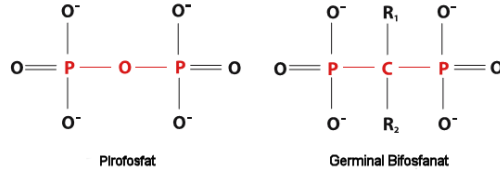


Şekil 4. Bifosfonatların tarihi(22)

### 2.2.2. Bifosfonatların kimyasal yapısı

Bifosfonatlar, pirofosfonatların hidrolize edilemeyen analogu olarak, labil P-O-P bağları yerine ortadaki oksijen atomunun karbon ile yer değiştirmesiyle stabil P-C-P bağları içermektedir (Şekil.2). Bu karbon bağlarından dolayı pirofosfatların

antiminerilizasyon özelliklerine sahip olurken hidrolize dirençlidirler (29). Bifosfonatlar bu hidrolitik parçalanmaya tamamen dirençlidir ve bu da kemik matriksinde birikmelerini ve 11 yıldan daha uzun bir arılanma ömrüne sahip olmalarını açıklamaktadır (19) (Şekil.5).



**Şekil 5.** Pirofosfat ve geminal bifosfonat

Pirofosfatlar gibi bifosfonatlar da kemik minerallerine yüksek affinite gösterirler ve in vivo ve in vitro olarak kalsifikasyonu önledikleri bulunmuştur (23,24).

Ayrıca bifosfonatlar molekül yapılarında pirofosfonatlardan farklı olarak R1 ve R2 grupları içermektedir. R1 yapısı bifosfonatların kemik minerallerine affinitesi ve bağlanmalarından sorumlu iken R2 yapısı bifosfonatların kemik rezorpsiyonunu durduraktan sorumlu olarak bildirilmiştir (30) (Şekil 5). R1 yapısındaki farklı (OH) ve primer amino (NH<sub>2</sub>) grupları kalsiyum iyonların affiniteyi değiştirmektedir. R1 tarafındaki hidroksil gruplarından birini hidrojen atomu ile yer değiştirdiğimizde hidroksiapatite afiniteleri yaklaşık 2 kat artmaktadır (27). R2 yapısındaki zincirdeki karbon sayısının artışı veya azalması da kemik rezorpsiyonuna etkilemesindeki büyüklüğü etkilemektedir (31). R2 deki primer veya tersiyer nitrojen veya heterosiklik halkaları gibi nitrojen içeriklerinin bulunması nitrojen içermeyen bifosfonatlar(etidronat, klondronat)a oranlar 3 kat büyüklükte antirezorptif etkinliğe sahip olmalarını sağlar. Ancak, nitrojen içeriğinin bulunmasının yanı sıra bu atomun molekül içindeki pozisyonu aynı bifosfonatın izomerlerinde 700kattan fazla etkinlik gösterebilmesini sağlayabilmektedir (27).

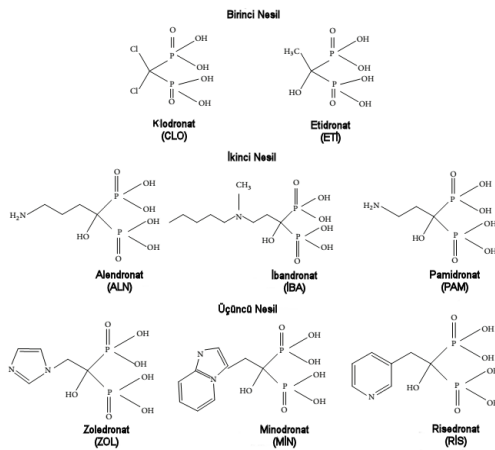
Bifosfonatlar, 1990'lı yılların başında yapılan sınıflamaya göre başlıca 3 gruba ayrılmaktadır. Birinci grupta, etidronat ve klondronat gibi azot içermeyen bifosfonatlar bulunur. R2 zincir yapısında bulunan primer, sekonder veya tersiyer azot fonksiyonu bulunması bileşiğin karmaşıklığını ve etkinliğini belirlemektedir (32). 2.kuşak bifosfonatlarda aminoalkil R2 yapısı mevcutken 3.kuşak

bifosfonatlarda heterosiklik nitrojen yapı bileşiğın hem daha etkin oluşunu hem de yarılanma ömrünü çok uzatmaktadır (33) (Tablo 1 ve şekil 6).

**Tablo 1.** R2 zincir yapısındaki farklılığa göre bifosfonatların sınıflandırılması.

1.Kuşak Bifosfonatlar	2. Kuşak Bifosfonatlar	3. Kuşak Bifosfonatlar
<b>Etidronat</b>	Pamidronat	<b>Zoledronat</b>
<b>Klodronat</b>	Alendronat	<b>Minodronat</b>
<b>Tiludronat</b>	<b>İbandronat</b>	<b>Risedronat</b>

Birinci kuşak bifosfonatlarla karşılaştırıldığında alendronat, pamidronat gibi ikinci kuşak bifosfonatlar 10-100 kat, zoledronat ve rizodranat gibi üçüncü kuşak bifosfonatlar ise 5000-20000 kat daha etkilidir (27,34).





**Şekil 6.** Basit(1.jenerasyon) BPlar, R2 zincirinin primer, sekonder veya tersiyer tersiyer fonksiyonuna göre nitrojen içeren N-BPlar(2.jenerasyon) ve R2 zincirindeki heterosiklik halkaya sahip N-BPlar(3. jenerasyon)

Pratik kullanımında ise yan zincir tipine göre 4 kimyasal alt gruba ayrılır:

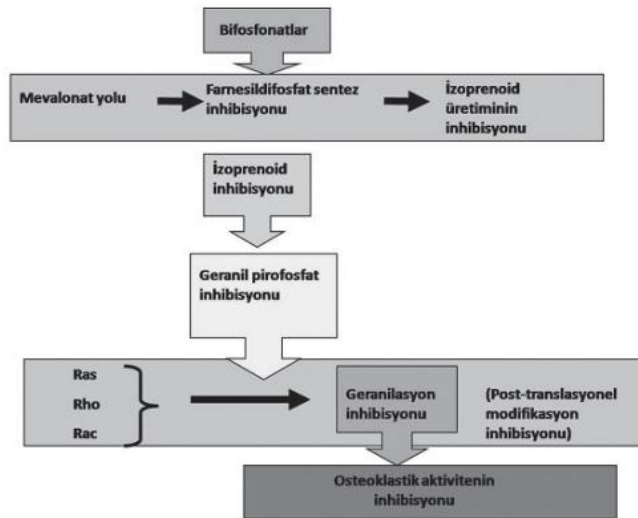
- Nitrojen içermeyen bifosfonatlar: etidronat, klondronat, tiludronat
- Aminobifosfonatlar: pamidronat, alendronat, neridronat
- Azot atomu ile yer değışmiş aminobifosfonatlar: Olpadronat, İbandronat
- Basit heterosiklik azot içeren bifosfonatlar: Risedronat- piridin halkalı, zoledronat –imidazol halkalı (27)(tablo 2)

**Tablo 2.** Yan zincirlerine ve rölatif etkisine göre kullanılan bifosfonatlar.

Etken Madde	Ticari İsim	R1	R2	Potansiyel
Etidronat	Didronel*	-OH	-CH <sub>3</sub>	1 ×
Klodronat	Ostac*	-CL	-CL	10 ×
Pamidronat	Aredia*	-OH	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	100 ×
Alendronat	Fosamax*	-OH	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	1000 ×
Risedronat	Actonel*	-OH	-CH <sub>2</sub> - 	5000 ×
Ibandronat	Bondronat* Bon(v)iva*	-OH	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	10 000 ×
Zoledronat	Zometa* Aclasta*	-OH	-CH <sub>2</sub> -N 	20 000 ×

### 2.2.3. Bifosfonatların etki mekanizması

Bifosfonatlar, oral olarak kullanıldıklarında çok az emilim göstermektedir. Bu azalmış emilim, kemikteki artmış yüksek etkinlikleri ile kompanse edilmektedir (27). Bifosfonatların kandaki ortalama ömürleri kısa olmasına rağmen (30 dakika-2 saat) kemikle bir kez birleştikleri takdirde ortalama 10 yıl bozulmadan kalabilirler. Yine bunun sebebi pirofosfatlardan farklı olarak hidrolize dayanıklı olduklarıdır (35).



**Şekil 7.** Bifosfonatların mevalonat yolundaki etkileri.

Bifosfonatlar özellikle aktif remodelasyon olan alanlarda hidroksiapatit kristallerine çok kolay bağlanırlar. Kemik yüzeyine bağlı bu alanlardan salınırlar ve osteoklastlar tarafından absorbe edilirler (35). Bifosfonatların kemik rezorpsiyonunu önleyici etkileri, kalsitoninin kemik rezorpsiyonunu önleyici etkisiyle kanıtlanmıştır.



Hidroksiapatitlerin dağılmasını engellemelerine rağmen kemik rezorpsiyonunu önleyici etkileri, sıkı fizikokimyasal etkilerinden çok osteoklast üzerindeki direkt inhibisyon etkilerine bağlıdır. Kemik rezorpsiyonunu önleyici aktivite görünüşte iki ana mekanizma içerir, bunlar osteoklast apoptozisi ve kolesterol biyosentetik bileşenlerinin inhibisyonudur (36). Osteoklastın hücre içinde kolesterol üreten mevalonat yolunun anahtar enzimlerinden biri olan farnesildifosfatın sentezini inhibe ederler. Bunun sonucunda da osteoklastın kemik rezorpsiyonu oluşturabilmesi için gereken yüzey özellikleri oluşamaz ve osteoklastik aktivite baskılanmış olur (35) (Şekil 7).

Doku düzeyinde, tüm aktif bifosfonatların, kemik yapım-yıkımında azalmaya yol açtığı gözlenmiştir. Hücresel düzeyde de, bifosfonatların hedef hücresinin osteoklast olduğu bilinmektedir. Bifosfonatlar, osteoklastik kemik rezorpsiyonunu;

- Osteoklastların kemik yüzeyinde toplanmasını engelleyerek,
- Kemik yüzeyinde osteoklast aktivitesini inhibe ederek,
- Osteoklastların olgunlaşmasını baskılayarak, yaşam sürelerini kısaltarak,
- Osteoklastların farklılaştığı kök hücrelerin dağılım ve osteoklast gelişimi yönünde farklılaşmalarını baskılayarak inhibe ederler.

Kemik mineralinin çözünüm hızını azaltarak engeller, kemikte kalsiyum-fosfor kristallerine bağlanır ve minerallerin fazla çözünmesini engelleyerek kemik rezorpsiyonunu inhibe eder (27, 37, 38).

Klinik olarak bifosfonatların sadece kemik üzerindeki etkileri gösterilmiştir. Bifosfonatların etki mekanizması aşağıdakileri içerir:

➤ *Kristalizasyon ve mineralizasyon inhibisyonu:* Bifosfonatların kemik üzerindeki majör fizikokimyasal etkisi, hidroksiapatit kristalleri ve kemik matriksi ile birleşmelerinden ötürü kemik dokunun çözünürlüğünü ve mineralizasyonunu düşürmeleridir. Solid yapıdaki kalsiyum fosfata affiniteleri ve bağlanmalarından dolayı, bu kristallerin formasyonu, agregasyonu ve çözünmelerini azaltırlar. Fakat aminobifosfonatlar hidroksiapatitlerin yüzey doygunluk kapasitesinin sadece 1/1000-1/10000 kadarını kullanabilir. Bu modern bifosfonatların klinik etkilerinde bu yüzden bir rol oynamamaktadır. Klinik olarak fraktürlere eşlik eden ve iyileşmeyi geciktiren belirgin bir mineralizasyon inhibisyonu yalnız başına görülmez. Ek olarak,

modern bifosfonatların fizikokimyasal etkilerinin klinik olarak anlamsız olduğu dikkat çekmektedir (27).

➤ *Mineralizasyon inhibisyonu:* Ektopik kalsifikasyonun tedavisi ve önlenmesinde birinci jenerasyon etidronat klinik olarak kullanılmaktadır. Etidronatın ilerideki uygulamalarında protetik kalp kapaklarında oluşan kalsifikasyonun inhibisyonu olabilir. Etidronat deneysel olarak böbrek taşlarının formasyonunu azaltmaktadır. Ayrıca dişlerdeki plak formasyonunu inhibe ettiği için bazı diş macunlarında yer almaktadır. Ancak, etidronatın etkin dozajları normal mineralizasyonu inhibe ettiği için kullanım alanları kısıtlıdır (27).

➤ *Kemik rezorbsiyonunun inhibisyonu:* Klinik olarak bifosfonatların alınma yolu ve sıklığına bağlı olarak alındıklarından 1-2 gün sonraki en önemli terapötik etkileri kemik rezorbsiyonunun inhibisyonudur. Kemik rezorbsiyonunun azaltılması pozitif kalsiyum dengesine eşlik eder. Kemik erimesinin azaltılmasında bifosfonatların etki mekanizması hücresel ve moleküler seviyededir (27). Hedef hücreler osteoklastlar ve öncüleridir. Biyokimyasal seviyede bifosfonatlar, prenil proteinlerinin lipit zincirinin oluşumunu inhibe edip, buna bağlı olarak steroid metabolizmasını da inhibe ederek mevalonat yolunu engellemektedir.

Hücreler inaktif hale gelir, zar-spesifik özelliklerini kaybederler ve programlanmış hücre ölümü, yani apoptozis, tetiklenir. Başlangıçta, bu blokaj osseoz yüzeyden bifosfonatların alımına bağlı olarak osteoklastlarda görülür. Böylece bifosfonatlar, osteoklastlarda tırtıklı yüzeylerinin kaybı, hücre iskeletinde bozulma, migrasyon yeteneğinin kaybolması ve kemiğe tutunma özelliklerinin kaybolması gibi nedenlerden ötürü kemik rezorbsiyonu bozan değişikliklere sebep olurlar (39). Nitrojen içeren bifosfonatların inhibitör etkilerinden dolayı, AMP ile birleşme reaksiyonu sonucu isopentenil ATP formasyonu oluşmasına neden olan IPP konsantrasyonlarında artış görülür. Bu birleşim, kaspazların atılımını ve böylece programlanmış hücre ölümü yani apoptozisi tetikler. Aynı işleyişin bifosfonatların biriktiği tüm hücrelerde gerçekleştiği ve bifosfonatların (istenmeyen) yan etkileri gibi (beklenen) etkilerinden sorumlu olduğuna dikkat edilmelidir. Örneğin, bifosfonatların renal tübüllerde aşırı birikmesi, renal fonksiyonel bozulmaya yol açan renal tübüllerde toksik hasar ve tübüllerde apoptozis ile sonuçlanır.

Bifosfonatlar olgunlaşmış osteoklastlara olduğu gibi olgunlaşmamış ve öncü osteoklast hücrelerine de etki gösterebilirler. Bu sayede kemikte rezorptif aktivite ve buna bağlı olarak yenilenme miktarında azalmaya neden olurlar (40). Moleküler seviyede, protein-tirosin fosfatazların inhibisyonu gibi etkileri hem hücre büyümesi hem de farklılaşmasında önemli rol oynar. Bir kere hücre içinde yer aldıklarında, bifosfonatlar asitlerin, Proton-ATPazın, lizozim enziminin ve prostoglandinlerin üretimini inhibe ederler. Bifosfonatların yeterli dozlarının verildiğinde, tümör hücrelerinde mevalonik asit metabolizmasının inaktivasyonu ve apoptozisi indüklemesine dikkat edilmelidir (27).

### 2.2.3.1. Osteoklastlara direk etkileri

✓ *Osteoklastik aktivitenin azalması:* Osteoklastların içine girdiklerinde bifosfonatların hücresel aktiviteleri, RAS, Rho, Rac ve Rab gibi prenil proteinlerinin sentezinin durdurulması, asit ve enzimlerin üretiminin durdurulması gibi etkiler içerir. Mikrotübüller depolimerize olur ve tırtıklı zar geri çekilir (41). Serumda kemik rezorbsiyon ürünlerinin seviyeleri azalır ve serum kalsiyum konsantrasyonları düşer. Osteoklastların toksik hasarı morfolojik olarak 3 fazda gözlemlenir:

✓ *Osteoklast adezyonunun inhibisyonu:* Kemik yüzeyindeki bifosfonat tabakası osteoklastların kemiğe tutunmasını önler ve böylece rezorbsiyon için önemli olan uygun asidik ortamın gelişmesini engellemiş olurlar. Bifosfonatlar osteoklastların hemen altındaki kemik yüzeylerinde birikirler. Ek olarak, bifosfonatlar osteoklast sitoplazmasına girer girmez tırtıklı membranı düzeltirler. Bu membran da osteoklastlara kemik dokusu ile bağlanmada yardımcı olmaktadır.

✓ *Osteoklast sayısını azaltma:* Bifosfonatlar füzyon yaparak osteoklastlara dönüşmek için alınan makrofajların proliferasyonunu önlerler. Bu işlem muhtemelen TGF $\beta$  vasıtasıyla olmaktadır. Ayrıca osteoklastların osteoblastik etkisinin inhibisyonuyla da olabilir (27).

✓ *Osteoklast apoptozisine neden olma:* Bifosfonatlar genetik olarak kodlanmış fizyolojik hücre ölümünü hızlandırıp apoptozisi tetiklemiş olur. Bu prematüre hücrelerin ölmesi demektir. Bu tabloya osteoklast sayısındaki azalma eşlik eder. Bifosfonatlar bu özelliklerinden ötürü önemli ölçüde değişkenlik gösterir (27).

### **2.2.3.2. Osteoklastlara etkileri**

Bifosfonatların osteoblastlara olan etkisi osteoklastlara olan etkisi kadar iyi açıklanamamıştır. Aminobifosfonatlar terapötik dozlarda osteoblast diferansiasyonunu ve kemik depozisyonunu stimule ederler. Yüksek dozlarda ise osteoblastlara sitotoksik etki göstererek apoptozislerine neden olurlar (40).

Yakın zamandaki çalışmalar bifosfonatların osteoblastlara osteoklast güçlenmesi ve aktivasyonunu inhibe eden bir faktör (osteoklast rezorsbsiyon inhibitörü, ORI) ürettiği gösterilmiştir (27, 42, 43). bifosfonatlar kemik iliği stromal hücrelerin osteojenik differansiasyonunu ve proliferasyonunu uyarır ve bu osteoblastik kemik formasyonuna sebep olur; böylece osteoblastların fonksiyonu doğrudan ve dolaylı olarak bifosfonatlardan etkilenmiş olur.

### **2.2.3.3. Osteositler üzerindeki etkileri**

Bifosfonatların osteositler üzerindeki etkileri az sayıda çalışmada ele alınmıştır (27,42). Glukokortikoidlerin osteoblast ve osteositlerin üzerindeki negatif etkileri bilinmektedir ve bu etkilerin osteoblast ve osteosit havuzundaki artış, osteosit fonksiyonunda pozitif etki sağlamak ve kemik kalitesinde düzelme gibi yönlerden bifosfonatlar ile azaltılabileceği düşünülmektedir. Bifosfonat kullanan hastalarda yapılan kemik biyopsilerinin kesitlerinde osteositler ve kanaliküllerinde immunohistokimyasal olarak bifosfonatların varlığı gösterilmiştir. Yakın zamandaki kaynaklarda osteosit apoptozisinin bifosfonatlarca önlenmesinin ekstraselüler sinyal-regüle kinazların aktivasyonu aracılığı ile olduğu düşünülmektedir (42). Kemik mikro mimarisinde bifosfonatların etkileri için trabeküler ağ ve osteosit fonksiyonun serolojik değerlendirmesi gibi yönlerden incelenmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

### **2.2.3.4. Epitel üzerindeki etkileri**

Bifosfonatların endotel hücre proliferasyonunu, adezyonunu ve migrasyonunu bozduğu in vitro olarak gösterilmiştir (40). Bifosfonatlar kemikte yeterli konsantrasyona ulaştıkları zaman kemiğe komşu, kemik yüzeyini örten yumuşak dokuda toksik etki oluştururlar. Bifosfonatların mevalonat yolundaki farnesil difosfat sentetaz enzimini inhibe etmeleri nedeniyle epitelde oral keratinositlerin apoptozisine

neden olmadan hücre proliferasyonu inhibe edilmiş olur. Buna bağlı olarak oral kavitede mukoza bütünlüğü bozulur ve iyileşme gecikir (44).

#### **2.2.2.5. İmmün sisteme etkileri**

Pamidronat gibi bazı bifosfonatlar, makrofajlar ve diğer immünokompetan hücreler yardımıyla sitokin üretimini uyarırlar. Özellikle doğal öldürücü hücreler ve hem CD4 hem CD8 pozitif olan T lenfositler gibi dolaşımda bulunan lenfositlerin sayısında belirgin düşme görülür. Bu düşüş C-reaktif proteinler olan IL-6 ve TNF $\alpha$  gibi akut faz reaktanlarının artışından kaynaklanması muhtemeldir. Klondronatın belirgin bir etkisi olmamasına karşın ibandronat 10 yıl içinde lenfositlerde orta derecede artış sağlamaktadır. Kemikteki efferent sinir fibrilleri, nöropeptit ve nöromodülatörlerin salınımının bloke edilmesinden etkilenebilmektedir. Bu durum bifosfonatların kemik ağrısı üzerindeki hızlı ağrı kesici etkilerini açıklamaktadır (27).

#### **2.2.3.6. Anti anjiojenik etkileri**

Bifosfonat tedavisi gören multipl myeloma hastalarından alınan kemik biyopsilerinde gösterildiği gibi hem in vivo hem in vitro çalışmalarda bifosfonatları anti anjiojenik etkileri kalitatif ve kantitatif olarak kanıtlanmıştır. Endotel hücrelerin inhibisyonunun mekanizması muhtemelen laminin reseptörleri ve integrinlerin azaltılmasını içermektedir. Ayrıca vasküler endotelyal büyüme faktörleri(VEGF) üzerindeki olumsuz etkileri de eklenebilir. Bu duruma bifosfonat alımından hemen sonra hastaların serumlarındaki bu faktörlerin seviyelerindeki hızlı düşüş sebep olmaktadır. Taksanlar gibi kemoterapötik ajanların kombinasyonu bifosfonatların antianjiojenik etkilerini artırır (27).

#### **2.2.3.7. Tümör hücrelerine etkisi**

Bifosfonatların, apoptozisi yani antiproliferatif etkiyi tetikleyen intraselüler sinyal iletimini inhibe ederek tümör büyüme oranını yavaşlattığı görülmektedir. Pamidronatların bu apoptotik etkisi insan myelom hücrelerinden kanıtlanmıştır. Osteoklastların inhibisyonu IL-6 üretiminin azalmasıyla sonuçlanır ve böylece kemik matriksinden salınan büyüme faktörleri de azalmaktadır. Bifosfonatların kemik metastazları ve visseral metastaz oluşmasında kullanılması açısından endikasyonlar mevcuttur. Yakın zamandaki in vitro çalışmalar modern bifosfonatların tümör

hücrelerini apoptozise uğratacak direk etkilerine dikkat çekmektedir. Günümüzde nitrojen içeren bifosfonatların mitokondri odaklı apoptozisi tetikleyen yeni bir ATP analogu olan Apppl formasyonunu indüklediği gösterilmiştir (38). Bu eylemden nitrojen içeren bifosfonatların direk antitümör etkileri sorumlu olabilir. Bifosfonatlar ayrıca protein prenilasyon inhibitör etkileri sayesinde kemiğe kanserli hücrelerin adezyonunu engellerler (45, 46). Ayrıca, bu çalışmalarda da gösterildiği gibi, sadece kemoterapötik ajanların kullanımına nazaran bifosfonatlarla birlikte kullanıldığında tümör hücrelerinin apoptozisine daha etkindir ve daha yüksek bir toksisite göstermişlerdir.

#### **2.2.3.8. Protozoa üzerine etkileri**

Bifosfonatlar, Trypanosoma cruzi, Leishmania donovani, Toksoplazma gondii ve Plasmodium falciparum proliferasyonunu inhibe ederler. Bu parazitlerin etkili olduğu ekonomik olarak zayıf ve majör toplumsal zorlukların bulunduğu ülkelerde parazitik protozoon enfeksiyonlarını tedavi etmek için bifosfonatların potansiyel endikasyonları in vitro ve hayvan çalışmalarında kanıtlanmıştır. Bu organizmalar üzerinde bifosfonatların etkilerinden biri pre-skualen düzeyinde sterol sentezini inhibe ederek proliferasyonlarını inhibe etmeleridir (27).

#### **2.2.3.9. Arteriyel kalsifikasyona etkileri**

Kemik rezorpsiyonu için kullanılan dozlarda alendronat ve ibandronat gibi bifosfonatların aynı zamanda arter ve kalp kapaklarında kalsifikasyonu inhibe ettikleri deney hayvanları üzerinde yapılan deneylerde gösterilmiştir (47-53). Bu sonuçlar arteriyel kalsifikasyonların kemik rezorpsiyonu ile ilişkili olduğu hipotezini desteklemektedir. Bu bağlantının mekanizması halen belirsiz kalmaktadır ve klinik çalışmaların sonuçları halen mevcut değildir. Yeni verilere göre, RANK / RANKL / OPG sistemi osteoporoz ve arterioskleroz arasındaki bağlantıda önemli bir rol üstlenmektedir (27).

#### **2.2.3.10. Fraktür iyileşmesinde etkileri**

Hayvan deneylerinde yüksek doz etidronatın fraktürlerdeki iyileşme ve mineralizasyonu etkilediği gösterilmiştir. Bu durum modern aminobifosfonatlar için

geçerli değildir ve kırığı bulunan hastalar risk olmadan alabilmektedir. Ek olarak, bu bifosfonatlarla tedavi edilen hayvan deneylerinde:

- ✓ Yara dokusu oluşumunun yanı sıra kalsiyumun arttığı
- ✓ İyileşme sürecininin bozulmasının gerçekleşmediği ve
- ✓ İyileşen kemiğin final ağırlık taşıma kapasitesinin azalmadığı gösterilmiştir.

Özet olarak, bifosfonatlar kırığı olan osteoporozlu hastalarda güvenle kullanılabilir. Multipl kırığı olan veya olmayan ciddi osteoporozlu hastalarda bifosfonatların takiben ilk tedavi seçeneği olarak anabolik ajanlar kullanılabilir (27).

### **2.2.3.11. Kıkırdak rezorbsiyonuna etkileri**

Bazı modern bifosfonatlar kıkırdakların lokal rezorbsiyonunu baskılayabilirler. Ayrıca, yapay olarak indüklenmiş artrit inflamatuvar reaksiyonları da bifosfonatlarca baskılanabilir. Böylece, eklem mimarisi korunmuş olur. Bu umut verici sonuçlar sayesinde klinik bifosfonat çalışmaları osteokondrozisi veya osteoartriti olan hastalarda başlatılmış ve sonuçları halen beklenmektedir (27).

### **2.2.4. Bifosfonatların yan etkileri**

En sıklıkla karşılaşılan yan etkiler aşağıdaki gibidir:

1. Hipokalsemi (54, 56, 58)
2. Gastrointestinal sistemde mukozal iritasyon ayrıca bulantı, kusma, epigastrik ağrı, yanma, reflü ve dispepsi (54, 57, 59)
3. Akut faz reaksiyonları(yüksek ateş, titreme, miyalji, artralji ve influenza benzeri bulgular) (54, 60, 61)
4. Renal yan etkileri (renal toksisite, akut tubuler nekroz, diffuz tubuler atrofi, böbrek yetersizliği) (54, 57, 62-66)
5. Okuler yan etki(konjunktivit, irit, sklerit ve üveit) (55, 59, 60)
6. SSS yan etkileri(Kafa içinde duyulan sesler ve renkli görme rahatsızlıkları, görsel, olfaktoryel ve işitsel halusilasyonlar) (41)
7. Atrial fibrilasyon (54,59)
8. Femur başı atravmatik avasküler nekrozu (41)
9. Çene kemiklerinde osteonekroz (6, 19, 67-69)

## **2.3. İlaçlara bağlı çene kemiklerinde osteonekroz(İÇKON)**

### **2.3.1 Risk faktörleri**

Bifosfonatlar ve denasumab osteoporozun ve metastatik kemik hastalıklarının tedavisinde en yaygın kullanılan antirezoptif ilaçlardır (43). Rekombinant immunoglobulin antikoru Bevasizumab ve tirazin kinaz inhibitör(TKİ)leri olan Sunitinib ve Sorafenib gibi antianjiojenik ilaçlar çene kemiklerinde bifosfonatlar ve denasumablar gibi fakat farklı yollarla osteonekroza yol açmaktadır (70).

2003 yılında Çene kemiklerinde osteonekroz gelişmesine bifosfonatların sebep olmasının tanımlanmasından sonra konuya ilişkin birçok yeni terim tanımlanmıştır. BON (71),BİFÇON (54),BİÇO (37),BİÇKON (36) gibi bifosfonatlara bağlı çene kemiklerinde osteonekroz terimleri örnek olarak verilebilir. Femur başlarındaki avasküler nekroza benzer nitelikteki bu durum ilk olarak ‘çene kemiklerinin avasküler nekrozu’ olarak tanımlanmıştır (4, 69, 72).

Çeşitli klinik ve deneysel çalışmalar kemikteki kan akımını (73) ve anjiogenezi (74-77)bifosfonatların azalttığını göstermektedir. Ancak ilginç bir şekilde çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar da femur başı avasküler nekrozunun tedavisinde bifosfonatların potansiyel etkinliğini göstermektedir (78-80). Günümüzde ‘çene kemiklerinde avasküler nekroz’ terimi kullanılmamaktadır.

Bifosfonatların çene kemiklerinde osteonekroz oluşturmalarının tanımlanmasından daha sonra denosumab isimli antirezoptif ajana bağlı olduğu düşünülen çene kemiklerindeki osteonekroz ile alakalı yayınlar yayınlanmaya başladıktan sonra 2010 yılında yeni terimin ismi olarak ‘Antirezoptif ilaçların indüklediği çene kemiklerinde osteonekroz(AİÇKON)’ düşünülmüştür (43, 81-83).

2014 yılında Amerikan Oral ve Maksiyofasiyal Cerrahi Derneği (AAOMS)’nin yayınladığı raporda Bevasizumab ve Sunitinib gibi antianjiojenik ajanların da çene kemiklerinde osteonekroza neden olduğunun belirtilmesiyle literatüre son olarak ‘İlaçlara Bağlı Çene Kemiklerinde Osteonekroz(İÇKON)’ olarak geçmiştir (5).



### **2.3.1.1. Sistemik risk faktörleri**

Jadu ve arkadaşlarına göre, multipl myelom hastalarında antineoplastik ilaçlar (siklofosfamid) ve kortikosteroidler İÇKON riskini artırmaktadır (84). Retrospektif vaka kontrollü bu çalışmada kortikosteroidlerin İÇKON için belirgin bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.

Diğer sistemik risk faktörleri eritropoetin tedavisi (84), diyaliz (84), diabetes mellitus (85) tur. hipoparatiroidizmin de İÇKON oluşmasıyla lakalı olduğu rapor edilmiştir (86).

Yakınlardaki retrospektif multimerkezli bir çalışma hipertansiyon(%40.2) ve diyabetin ( %9.2) BİÇO için majör komorbiditeler olduğunu göstermektedir (87).

Bazı yayınlarda da oral İÇKON hastalarında en yaygın sistemik hastalıkların, hipertansiyon ve kardiyak rahatsızlıklar olduğu belirtilmektedir (88,89). Ancak bunlar sistemik komorbiditelerdir ve daha fazla veriyle desteklenmedikleri sürece oral İÇKON için kesin risk faktörleri denilmemelidir(70).

### **2.3.1.2. Lokal risk faktörleri**

İÇKON oluşumu için dental risk faktörleri olarak dental protez irritasyonu, periodontitis ve diş çekimi gibi invaziv dental girişimlerin olduğu bilinmektedir (90).

Hoff ve arkadaşlarına göre diş çekilmesi tehlike oranını multipl myelom hastalarında 9,9 kez fazlalaştırırken göğüs kanseri hastalarında bu oran 52,2 kat olmaktadır. Kanser hastalarında longitudinal bir kohort çalışmasında ise İÇKON risk oranının diş çekimine bağlı olarak 18 kat, protez irritasyonuna bağlı olarak ise 2 kat arttığı rapor edilmiştir (91). Dental cerrahi işlemleri ise İÇKON insidansını 5,3 (84) -7 (92) kat artırmaktadır.

Diş çekim bölgesindeki yara iyileşmesi sistemik yara iyileşmesi kapasitesine bağlıdır. Diş çekimi sonrası pıhtı formasyonu yerini granülasyon dokusuna ve osseöz yapı oluşturmak için final mineralizasyona bırakır. Maksilla ve mandibula gibi yüksek kemik döngüsü bulunan iskelet bölgelerinde bifosfonatların daha fazla birikmesine bağlı olarak, bifosfonat bağlı kemik dokular daha yavaş rezorbe

olur(93). Bakteriler tarafından kontamine olmuş bu kemik tamamen rezorbe olmaz ve bu iyileşmesi gecikmiş açık yara bakteriyal invazyon riskini artırmaktadır. Bu durum da kronik osteomyelit oluşması için ortam sağlamış olur (94,95).

Periodontal hastalıklar da İÇKON için potansiyel risklerden biridir. Enflamasyon genel olarak pH seviyesini düşürür ve bu asidik çevre nitrojen içeren bifosfonatların protonlaşmış aktivasyonuna yol açar (96). Periodontitise bağlı mikrobiyal bir araştırma, kanser hastalarında periodontitisin İÇKON için belirgin bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (97).

Mandibular İÇKON insidansı maksillaya nazaran belirgin oranda yüksektir (98) ve oral mukozanın ince olduğu özellikle ekzostoz, keskin mylohyoid kenar ve mandibular torus gibi alanlarda daha yaygındır (99).

Literatüre göre %20 (87), %28 (100), %33 (101) ve %57 (102) çene kemiklerinde görülen osteonekroz 'spontan İÇKON'dur (70). Bu durum herhangi bir komorbidite veya sistemik veya lokal bir risk faktörü olmaksızın İÇKON oluşması demektir. Bölgede daha önce osteomyelit varlığının spontan İÇKON teorisini desteklese de osteonekroz primer olarak aseptik süreci enfeksiyonun takip etmesiyle gerçekleşmektedir (103,104).

Yaşamda geçirilen her bir sene İÇKON riskini 1.1 kat artırmaktadır (84). Cinsiyet bu durumu etkilememektedir (105). Sigara kullanımı ise risk faktörü olarak kabul edilmektedir (86). Obezite de bir risk faktörü olarak düşünülmektedir (106).

Bir takım araştırmacı genetik faktörün olası ilişkisinden bahsetmektedir. Multipl myelom hastalarında 2Cpolipeptid8 (CYP2C8, rs1934951)'in alt familyasından sitokrom P450'nin tek nükleotit polimorfizminin İÇKON ile ilişkisini olduğu gösterilmiştir(107). RBMS3(rs17024608) genindeki genetik polimorfizmin de İÇKON oluşmasında yüksek bir risk oluşturduğu düşünülmektedir (108).

### **2.3.1.3. Diçkon için risk faktörleri**

Denosumab, nükleer faktör kappa-B ligandının reseptör aktivatörü (RANKL)'nün monoklonal antikorudur. Denosumab RANKL'ı inhibe eder ve osteoklastik diferansiasyon için önemli bir mediatördür (109). Osteoklastogenezisi azaltan antirezoptif bir ajan olarak sıklıkla metastatik kemik hastalıkları ve osteoporoz tedavisinde kullanılır (110-113). Denosumab ilişkili çene kemiklerinde osteonekroz (DİÇKON) halen tam olarak anlaşılammıştır. Kanser hastalarında renal komplikasyonu az oranda gerçekleşip iskelet ilişkili olayları önlemede oldukça etkin olsa da çene kemiklerinde osteonekroz görülme olasılığı zoledronata benzer (zoledronat %1,3, denosumab %1,8) (114) veya istatistiksel olarak anlamlı olmasa da göreceli olarak yüksek (zoledronat %1, denosumab %2)(110) bulunmuştur. Literatüre göre DİÇKON insidansı %0-%4,7 olarak belirtilmektedir (115-118). 52 vakalık DİÇKON serisinde diş çekimine bağlı oluşu %59,6 iken, oral enfeksiyona %50 oranda ilişkili olduğu belirtilmiştir (118). DİÇKON'a dair yeterli çalışma bulunmadığı için ilaç alımından sonra çene kemiklerinde osteonekroz görülmesini en aza indirmek için risk faktörler ilerideki çalışmalarda belirlenmelidir (70).

### **2.3.1.4. Çene kemiklerinde osteonekroza yol açan diğer ilaçlar**

Malin tümör oluşması sürecinde anjiogenesis tümör büyümesi, infiltrasyonu, uzak /rejyonel metastaz için kritik öneme sahiptir (119). Günümüzde ileri karsinoma ve metastatik kemik hastalıklarının tedavisi, kemoterapötik ajan olarak kullanılan anjiogenik inhibitörler tirozin kinaz inhibitörleri(TKİ) ile monoklonal antikor veya rapamisinin memeli hedefi (mTOR) yolu ile vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) hedef alınarak yapılmaktadır (120). Rekombinant monoklonal immunoglobulin antikor olan Bevasizumab, tüm VEGF-A izoformlarını bloke ederek kanser ilerleyişini ve kemik metastazını önlemektedir (121).

Sunitinib veya sorafenib gibi tirozin kinaz inhibitörleri VEGF reseptörlerini, trombosit türevli büyüme faktörü reseptörlerini(PDGFR), makrofaj koloni-stimule edici faktörlerini(M-CSF) ve diğer sinyal yollarını hedef alarak neoanjiogenezisi inhibe eder (122). mTOR inhibitörleri olan sirolimus veya everolimus da

anjioenezisi inhibe eder ve sıklıkla ileri derecede veya metastatik karsinomalarda kullanılmaktadır (123).

Bu antianjiojenik ajanlar metastaz olan veya olmayan renal karsinomalar, gastrointestinal stromal tümörler veya metastatik kolorektal karsinomalar gibi çeşitli kanserlerde endikedir (124). Kemoterapötik amaçla kullanılan bu ajanlar için hastalarda çene kemiklerinde osteonekroz görülmesine dair birçok çalışma ve vaka raporu mevcuttur. Bevasizumab ilişkili çene kemiklerinde osteonekroz (BİÇKON)'un ilk olarak 2008 yılında yayınlanmasından sonra (125), bifosfonatlardan bağımsız olarak bevasizumab alınımına bağlı çene kemiklerinde osteonekroz görülmesine dair çeşitli vaka raporları mevcuttur (126-129). Guarneri ve ark., göğüs kanseri hastalarında çene kemiklerinde osteonekroz insidansını bevasizumab tedavisinde %0,2 iken bevasizumab-bifosfonat kombinasyonunda %0,9 olarak belirtmişlerdir (126). Başka bir vaka raporunda ise, bevasizumab veya sunitinib ile kombine BP tedavisi alan 22 hastadan 4'ünde çene kemiğinde osteonekroz görülmüştür ve bu da insidansın %16 olması anlamına gelmektedir (130). Tirozin kinaz inhibitörleri- Bifosfonat kombinasyonu kullanıldığında insidans %0(131)- %10 (132) arasında değişmektedir. bifosfonat kullanılmadan sadece sunitinib kullanılmasına bağlı olarak da çene kemiklerinde osteonekrozun görüldüğü vakalar mevcuttur (133,134). mTOR inhibitörü everolimus ile alakalı çene kemiklerinde osteonekroz vakaları yayınlanmıştır (135). Tüm bu yayınlardan sonra AAOMS pozisyon yazısında belirtildiği gibi bifosfonat kombinasyonu olmadan sadece TKİ ve VEGF inhibitörlerinin İÇKON için potansiyel risk taşıdığı belirtilmektedir (5). Bu antianjiojenik ajanların oral epiteli bozduğu veya anjiojenik sinyale dayalı osteoklast fonksiyonunu baskıladığı düşünülmektedir (136).

Antianjiojenik ajan ile alakalı medikal geçmişi bulunan hastaların çoğunda diş çekimi hikâyesi mevcut olsa da (121, 130,137) birçok hastada da dental predispozan faktörler mevcut değildir (125,127,128). Bu yüzden antianjiojenik ajanların direkt olarak çene kemiklerinde osteonekroz oluşturması kesin değildir (126).Yine de kemoterapi öncesi dental muayene ve değerlendirme büyük öneme sahiptir (132).

### 2.3.1.5. Teşhisi

Amerikan Oral ve Maksiyofasiyal Cerrahi Derneği (AAOMS) 'nin 2014 te tanımladığı İÇKON kesin tanı kriterleri (105, 138, 139) (tablo:3):

- (a) 8 haftadan uzun süredir maksillofasiyel bölgede ekspoze kemik varlığı (veya kemiğe ekstraoral veya intraoral bir fistül yardımıyla ulaşılabilmesi)
- (b) Halen veya önceden antirezorptif (bifosfonat veya denosumab) veya antianjiojenik ajanlarla tedavi görüyor veya görmüş olması
- (c) Çene kemiklerinden radyasyon tedavisi görmemiş olması veya çene kemiklerinde metastazik hastalık olmayışı

**Tablo 3.** AAOMS tanımlamasına göre BİÇO ve İÇKON farkları.

BİÇO (AAOMS 2009) tanımlaması	İÇKON (AAOMS2014) tanımlaması
1. Halen veya önceden bifosfonat tedavisi alınması	1. Halen veya önceden antirezorptif (bifosfonat veya denosumab) veya antianjiojenik ajan tedavi alınması
2. 8 haftadan uzun süre maksillofasiyal bölgede ekspoze kemik varlığı	2. 8 haftadan uzun süre maksillofasiyal bölgede ekspoze kemik varlığı veya ekstraoral veya intraoral fistül yoluyla bu kemiğe ulaşılabilmesi
3. Çene kemiklerinden radyoterapi hikayesi bulunmaması	3. Çene kemiklerinden radyoterapi hikayesi bulunmaması veya çene kemiklerinde belirgin bir metastazik hastalık bulunmayışı

### 2.3.1.6. Klinik belirtileri

Ekspoze kemik varlığı İÇKON'un klinik belirleyicisidir. Vakaların %93 e kadar büyük çoğunluğunda çekim soketlerindeki küçük kemik kenarlarından tüm çene kemiğine kadar ekspoze kemik varlığı mevcuttur (139). Yumuşak dokuda şişlik, süpurasyon, intraoral veya ekstraoral drenajı olan sinüs açıklıkları gibi enfeksiyon bulguları görülebilmektedir. Nekrotik kemik dokuların süperenfeksiyonu olduğunda şiddetli ağrı olsa da ilginç bir şekilde hastaların anlamlı bir kısmında ağrı bulunmamaktadır (tablo 4).

**Tablo 4.** İÇKON'un klinik görünümü (140)

Klinik görünüm	Prevelans(n)	Oran(%)
Ekspoze kemik	62	93.9
Ağrı	52	78.8
Yara iyileşmesinde bozukluk	45	68.2
Şişlik	34	51.5
Enflamasyon	42	63.6
Fistül formasyonu	27	40.9
Patolojik mandibular fraktür	3	4.5
Alveolaris inferior sinir hasarı	6	9.1
Maksiller sinüs ilişkisi	11	16.7
Sinüzit	(11)	(16.7)
Oroantral fistül formasyonu	(5)	(7.6)

Bazı olgularda lokal enfeksiyonlar baş boyun bölgesindeki derin boşlukların absesine dönüşerek yaşamı tehdit eden potansiyele ulaşabilmektedir. Alveolaris inferior sinir etkilendiğinde dudakta uyuşukluk olabilir ve bu durum ilginç bir şekilde erken evrelerde de görülebilmektedir. Yine mandibulada etkilenen lokal alanın enflamatuvar durumuna, sekestrasyon veya patolojik fraktür oluşması durumuna bağlı olarak alt dudak, çene ucu, dişeti ve dişlerde his kaybı olabilmektedir (141). Nekrotik alanların aşırı rezeksiyonuna veya kemiğin yapısal olarak zayıflamasına bağlı olarak patolojik fraktür gelişmesi ciddi fonksiyonel ve terapötik problemlere yol açmaktadır (140). Üst çenede bifosfonatlara bağlı olarak osteonekroz gelişme insidansı vakaların 1/3'ünü oluşturmaktadır (143). Vakalarda oroantral bağlantıya kadar varan ve maksiller sinüzit oluşturabilen durumlar oluşabilmektedir. İÇKON vakalarının %40 sinüzit şikayetleri olmaktadır (144).

İÇKON ile ilişkili olarak vakalarda nekrotik alanlarda diş kaybı ve bakteriyel enfeksiyona bağlı halitozis sıklıkla karşılaşılan durumlardır (145). İÇKON vakalarının %71-84'ünde periodontitis bulunmaktadır (84,146-148). Bu vakalardaki spesifik bakteriler ise Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, Tannerella forsythia ve Aggregatibacter actinomycetemcomitans'tır (97).

### **2.3.1.7. İÇkon evreleri**

2009 ve 2014 yıllarındaki AAOMS'nin İÇKON evreleme tablosu aşağıda gösterilmiştir (5)(tablo 5):

**Tablo 5. İÇKON evreleri**

	2009 AAOMS Evrelemesi	2014 AAOMS Evrelemesi
Riskli	Oral veya IV Bifosfonatlar ile tedavi almış hastalarda belirgin bir nekrotik kemik bulunmayışı	Değişiklik yok
Evre 0	Klinik olarak nekrotik kemik bulgusu olmamasına karşın spesifik olmayan klinik bulgular ve semptomların varlığı	Değişiklik yok
Evre 1	Enfeksiyon bulguları bulunmayan asemptomatik hastalarda ekspoze ve nekrotik kemik varlığı	Enfeksiyon bulguları bulunmayan asemptomatik hastalarda ekspoze ve nekrotik kemik varlığı veya bir prob yardımı ile kemiğe ulaşılan fistül bulunması
Evre 2	Pürulan drenaj görülen veya görülmeyen ekspoze kemik bölgesinde eritem veya ağrı bulguları gibi enfeksiyon belirtileri ile birlikte ekspoze ve nekrotik kemik varlığı	Pürulan drenaj görülen veya görülmeyen ekspoze kemik bölgesinde eritem veya ağrı bulguları gibi enfeksiyon belirtileri ile birlikte ekspoze ve nekrotik kemik varlığı veya bir prob yardımı ile kemiğe ulaşılan fistül bulunması
Evre 3	Ağrı, enfeksiyon ve aşağıdaki bulgulardan bir veya daha fazlasına sahip hastalarda ekspoze ve nekrotik kemik varlığı: Alveolar kemik bölgesini aşan ekspoze ve nekrotik kemik varlığı, (mandibula alt sınırı ve ramusu, üst çenede ise maksiller sinüsü ve zigomayı içeren) patolojik fraktürler, ekstraoral fistüller, oroantral/oro nazal bağlantılar, mandibula alt sınırını veya sinüs tavanını aşan osteolizis görülmesi	Ağrı, enfeksiyon ve aşağıdaki bulgulardan bir veya daha fazlasına sahip hastalarda ekspoze ve nekrotik kemik varlığı veya bir prob yardımı ile kemiğe ulaşılan fistül bulunması: Alveolar kemik bölgesini aşan ekspoze ve nekrotik kemik varlığı, (mandibula alt sınırı ve ramusu, üst çenede ise maksiller sinüsü ve zigomayı içeren) patolojik fraktürler, ekstraoral fistüller, oroantral/oro nazal bağlantılar, mandibula alt sınırını veya sinüs tavanını aşan osteolizis görülmesi

### 2.3.1.8. İçkon tedavileri

2009 yılından günümüze güncelliğini koruyan evreye özgü İÇKON için tedavi gereksinimi AAOMS tarafından belirlenmiştir. Evre 0 ve 1 için konservatif tedavi, evre 2 için yüzeysel debridmanı ve evre 3 için debridmanı içeren konsept aşağıda gösterilmiştir (105, 149)(Tablo 6).

Genel olarak İÇKON tedavisi için iki tip tedavi yaklaşımı mevcuttur. Bunlardan ilki konservatif yaklaşım iken diğeri ise ciddi olgularda nekrotik ve ekspoze kemiğin çıkarılmasından sonra mikrobiyal kontaminasyonu engellemek için sıkıca dokunun kapatılmasını olan daha agresif bir yaklaşımı içerir. Bazı büyük nekrotik kemik olgularında lokal flepler yeterli olurken bazılarında ise mikrovasküler serbest flepler gerekebilmektedir. Lokal flepler için mukozal, bukkal mukozal, bukkal yağ pedi, mylohyoid ve nazolabial flep kullanılırken,

mikrovasküler serbest flepler için ise radial önkol ve osteokütanöz fibular flep kullanılmaktadır. Vakaların mandibular rezeksiyonu içeren radikal tedavilerinde ilgili bölgenin rekonstrüksiyonunda miniplak ve vida sistemleri ile birlikte en yaygın kullanılan greft ise iliak krestten alınan blok greft tercih edilmektedir (150).

**Tablo 6. İÇKON Tedavi yaklaşımları**

Evre	Tanım	Tedavi stratejisi
0	Klinik olarak nekrotik kemik bulgusu olmamasına karşın spesifik olmayan klinik bulgular ve semptomların varlığı	Ağrı medikasyonu ve antibiyotiği içeren sistemik tedavi
1	Enfeksiyon bulguları bulunmayan asemptomatik hastalarda ekspoze ve nekrotik kemik varlığı	Antibakteriyel ağız yıkama, klinik takip, hasta eğitimi ve devam eden bifosfonat tedavisi için doktoru ile konsültasyon
2	Pürulan drenaj görülen veya görülmeyen ekspoze kemik bölgesinde eritem veya ağrı bulguları gibi enfeksiyon belirtileri ile birlikte ekspoze ve nekrotik kemik varlığı	Oral antibiyotikler ile semptomatik tedavi, oral antibakteriyel ağız gargarası, ağrı kontrolü, yumuşak doku irritasyonunu azaltmak için yüzeyel debridman
3	Ağrı, enfeksiyon ve aşağıdaki bulgulardan bir veya daha fazlasına sahip hastalarda ekspoze ve nekrotik kemik varlığı: Alveolar kemik bölgesini aşan ekspoze ve nekrotik kemik varlığı, (mandibula alt sınırı ve ramusu, üst çenede ise maksiller sinüsü ve zigomayı içeren) patolojik fraktürler, ekstraoral fistüller, oroantral/oro nazal bağlantılar, mandibula alt sınırını veya sinüs tavanını aşan osteolizis görülmesi	Antibakteriyel ağız gargarası, antibiyotik tedavisi ve ağrı kontrolü, uzun dönem ağrı ve enfeksiyonu hafifletmek adına cerrahi debridman/ rezeksiyon

### 2.3.1.9. Ek tedaviler

#### 2.3.1.9.1. Hiperbarik oksijen tedavisi

Hiperbarik oksijen (HBO)'in çenelerdeki osteoradionekroz ve osteomyelit gibi durumlarda normal yara iyileşmesi ile kıyaslandığında başarı sonuçlar verdiğine dair literatürde oldukça yayın mevcuttur. İÇKON'un etyopatogenetik faktörlerinde baskılanmış vaskülarizasyon bulunmaktadır. HBO belirgin bir şekilde anjiyogenik potansiyel sağlamaktadır ve bu yüzden çene kemiklerinde osteomyelit bölgelerinde hipervaskülarizasyon oluşturabilmektedir (151).



HBO yara iyileşmesinin farklı tipleri ile alakalı reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) üretimini artmasına aracı olmaktadır (152). ROS ise RANKL/osteoprotegerin oranını değiştirip osteoklast diferansiyasyonu destekleyen RANKL fazını stimule etmektedir. Yine bifosfonatların tetiklediği apoptoz, oksijen duyarlı osteoklastojenik sitokinler olan tümör nekroz faktör- $\alpha$ , RANKL ve interlökin-6 $\alpha$  sayesinde baskılanabilmektedir. Bu sebeple HBO, bakteriosidal aktivitesi sayesinde nekrotizan enfeksiyonları artıran anaerob türlerin ölmesini, hipoksik yaralar, ödem ve enflamasyonu azaltarak anjiogenesisi, kök hücre mobilizasyonunu ve hücre proliferasyonunu sağlayarak İÇKON tedavisinde kullanışlı olabilmektedir (153). Ancak HBO tedavisinde bir takım kısıtlamalar mevcuttur. Malignensi ve metastatik kemik hastalığı varlığı, klostrifobisi olanlar ve/veya kulan veya akciğer rahatsızlığı bulunması bu tedavi seçeneğini kısıtlamaktadır. Ayrıca HBO tedavisi tek başına değil konvansiyonel tedaviye destek tedavi olarak önerilmektedir (154).

#### **2.3.1.9.2. Ozon tedavisi**

Ozonun yumuşak ve sert dokulardaki pozitif etkileri, endojen antioksidan sistemleri stimule ederek, kan akımını artıran ROS üretimi için ksantin/ksantin oksidaz yolunu bloke ederek gerçekleşmektedir. Ayrıca ozon, kırmızı kan hücreleri konsantrasyonu ve hemoglobin oranını artırmaktadır ve diyapedezi ve retikülohistiyosit sistemlerin fagositozunu stimule etmektedir (155). Birçok yazar İÇKON tedavisinde cerrahiyle kombine olarak kullanımını veya bifosfonat kullanan hastaların diş çekimi sonrası alveolar soket iyileşmesini hızlandırması için kullanımını önermektedir (156).

Yapılan çalışmalarda %90'a ulaşan başarı oranı ve bölgede herhangi bir yan etki ve kontrendikasyon oluşturmaması sebepleriyle ileri dönemlerde İÇKON tedavisinde HBO'in etkin ve tolere edilen bir seçenek olmasında umut vaad etmektedir (156, 157). Ancak Osteoradyonekrozun ve İÇKON'un patofizyolojik mekanizmaları birbirinden tamamen farklı olması nedeniyle, HBO tedavisi çene kemiklerinde görülen osteoradyonekrozun tedavisi ve önlenmesinde kesin bir tedavi olmasına karşılık İÇKON olgularında yararlılığı kanıtlanmamıştır. Osteoradyonekrozda radyasyon gören alan hipoksiktir (19, 67, 158). İÇKON ise doğrudan osteoklastlar üzerinde gerçekleşen kimyasal toksisite nedeniyle kemiğin

yeniden şekillenememesi ve yenilenememesi sonucu oluştuğundan HBO tedavisi yararlı olamamaktadır. Ayrıca osteoradyonekrozda kapillerler, radyasyon gören alanda hiposellüler etki sonucu ölürken bifosfonatlara bağlı çene osteonekrozunda kapillerler kemik ölümü sonucu sekonder olarak ölürlür. İÇKON görülen alanda oksijenlenme eksikliği görülmemesi nedeniyle de HBO basit tedavi mekanizmasının işlemediği görülmektedir (19, 67).

### **2.3.1.9.3. Lazer tedavisi**

#### **2.3.1.9.3.1. Düşük doz lazer tedavisi (LLLT)**

Düşük doz lazer tedavisinin, derinin ve mukozanın beslenmesi ve kan kapillerinin stimülasyonu üzerindeki olumlu etkilerini gösteren birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar, lazerin biyostimulan etkilerinin İÇKON tedavisinde kullanışlı olabileceği görüşünü ortaya çıkarmıştır (159). LLLT kemikteki inorganik matriksi ve mitotik osteoblastik indeksi artırır ve lenfatik ve kan kapiller büyümesini stimule eder. Yara iyileşmesinde ise fibroblast hücrelerinin büyümesini ve kollojen üretimini artırmaktadır (160). LLLT, kemik üzerinde fotobiyolojik mekanizma ile osteoblastik aktiviteyi düşürüp osteoklastik aktiviteyi artırarak kemik rezorpsiyonu ve remodellinge katkıda bulunmaktadır (161). Vescovi ve arkadaşlarına göre 3 gün öncesinden başlanan ve diş çekiminden sonra 2 hafta süren antibiyoterapi ile birlikte operasyon sırasında ve cerrahiye takiben 4 hafta boyunca Nd:YAG lazer kullanılarak LLLT uygulama İÇKON oluşmasını önlemek adına iyi bir tedavi protokolü olarak önerilmektedir (162).

#### **2.3.1.9.3.2. Mini-invaziv lazer tedavisi**

İÇKON hastalarında, konservatif cerrahide lazer de kullanılmaktadır (164). Er:YAG lazer çok ince (0.1 mm) bir alana penetre olmaktadır. Diğer lazerlere oranla da kemikte çok daha az ısı oluşturması güvenle kullanılmasını sağlamaktadır (165). Er:YAG lazer Actinomyces ve anaerob türleri içeren periodontal bakteriler üzerinde bakteriyosidal etki gösterip biyostimulan özellikleri sayesinde İÇKON tedavisinde kullanılmaktadır (162). Er:YAG lazer ile lokal anestezi altında İÇKON olgularında üst ve alt çenelerde kemik rezeksiyonu yapılabilmektedir. Ayrıca sağlıklı kemiğe komşu olan nekrotize kemiğin buharlaştırılarak sağlanan cerrahi debridman da uygulanabilmektedir (166).

İÇKON tedavisinde sadece medikal tedaviye nazaran cerrahi yaklaşım daha iyi sonuçlar vermektedir ve hastalığın erken evrelerinde minimal invaziv tedaviye olanak tanıyan lazer cerrahisi geçerli bir terapötik seçenektir (167, 168).

#### **2.3.1.9.3.3. Trombositten zengin plazma (TZP)**

Trombositten zengin plazma (TZP) organizmanın doğal yara iyileşmesi mekanizmasını hızlandıran ve arttıran bir yöntemdir. Trombositler yara iyileşmesinin ilk basamağında pıhtı oluşumunda rol alırlar ve ardından iyileşmeyi başlatan ve ilerleten büyüme faktörlerini salgırlar. TZP tekniğinde preoperatif olarak hastadan bir miktar kan alınarak, otojen trombositler konsantre edilip, oluşan jel cerrahi alana uygulanmaktadır. Bu teknikte doğal pıhtıyla karşılaştırıldığında yüksek trombosit oranına sahip pıhtı oluşmaktadır. TZP uygulanan cerrahi alanlarda, normal cerrahi alanlarına göre 2-3 kat daha fazla iyileşme görülür (169).

#### **2.3.1.9.3.4. Paratiroid hormon**

Osteonekrozun tedavisinde kemikteki yenilenmenin artırılması amacıyla paratiroid hormon (PTH) kullanılması tavsiye edilmektedir. Bifosfonat tedavisine ara vererek 6 ay boyunca PTH kullanılması, kemikteki yenilenme oranını gösteren osteokalsin değerinin %74 artmasını sağladığı gösterilmiştir (35, 170).

Teriparatide, insan paratiroid hormonunun(rhPTH) ilk 34 aminoasidinin biyolojik olarak aktive edilmiş rekombinant formulasyonudur (171). Teriparatidenin kemik kalitesini artırması ve bifosfonatlara bağlı olarak atipik femoral fraktürlerde iyileşme üzerinde katkıları gözlemlenmiştir (172). Teriparatidenin anabolik etkilerinden dolayı off-label olarak İÇKON vakalarında tedavi için umut vaad eden çalışmalar mevcuttur (173-177). Fakat Narváez ve arkadaşlarının 2-10 ay boyunca İÇKON hastalarında teriparatide uygulamasını içeren çalışmalarında osteonekroz üzerinde anlamlı bir değişiklik olmadığını ve kayda değer semptomatik sonuçların alınmadığını belirtmişlerdir (178). Ayrıca teriparatide gibi bir ilacın iki yıldan uzun kullanılmaması gerekmektedir çünkü prelinik çalışmaları uzun dönem takiplerde osteosarkom riskini artırdığını göstermektedir. Bu yüzden metastatik kanser hastalarında önerilmemidir (179). Tüm bu sebeplerden dolayı, teriparatide veya paratiroid hormonunun İÇKON

vakalarında etkinliğinin değerlendirilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (180).

#### **2.4. İloprost**

Araşidonik asit (AA) metaboliti karakterinde yeni bir molekül 1976'da Moncada ve Vane tarafından keşfedilmiştir. Yapısal izolasyon ve kimyasal sentezlerden sonra bu metabolit, prostasiklin (PS) veya prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) olarak adlandırılmıştır. İloprost prostasiklinin 2. kuşak bir yapısal analogudur. Normalde damar duvarı ve trombositlerden sentezlenen tromboksan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) normal hemostaz kontrolünde PGI<sub>2</sub> ile dengelenir. Kan dolaşımında PGI<sub>2</sub> seviyeleri oldukça düşüktür ve aterosklerozda vasküler dokularda PGI<sub>2</sub> sentezi azalır (181, 182). Prostrasiklin trombosit agregasyonuna neden olan trombin, kollojen ve adenosindifosfat (ADP)'yi inhibe eder. Sağlam hayvanlarda vazodilatör, hipotansif, antidiüretik ve kanama zamanı uzatıcı etkileri vardır. Ayrıca endotelden makrofaj ve trombositten büyüme faktörü salarak damar düz kas proliferasyonunu stimüle eder (183). İloprost aktive trombositlerden 5-hidroksitriptamin (5HT) ve tromboksan gibi vasokonstriktör ve zararlı sitokinlerin salınımını ve bu sayede trombosit aktivasyonunu inhibe ederek trombozu, gerçekleştirir. Trombosit agregasyonunu da inhibe eder. Lökosit aktivasyonunu ve adhezyonunu inhibe eder ve bundan dolayı lökotrienler, serbest oksijen radikalleri ve proteolitik enzimlerin salınımını azaltır. Böylece endotel koruyucu etkisini bu şekilde de göstermiş olur (183).

İloprost vasküler tonusda kesin vasodilatör etkiye sahiptir. Lökotrienlerin, tromboksanA<sub>2</sub> ve endotel derived release factor (EDRF)'ün arteryel düz kas hücrelerinde vazospastik etkilerini önler. Böylece iloprost tarafından vasküler düz kas hücrelerinin selektif potasyum kanalları açılması ile membran hiperpolarizasyonu ile periferik vasodilatasyon olur. Hipoksik damar yüzeyinde permeabilityyi azaltır ve endotel bütünlüğünü korur, trombolitik potansiyeli artırır ve trombojeniteyi azaltarak endotel fonksiyonunu korur.

İloprost vasodilatasyon, trombosit agregasyon inhibisyonu, hücre koruyuculuğu ve fibrinoliziste bozulmuş mikrodolaşımı düzeltmede rol oynar. Dilüe iloprost solusyonun intravasküler(İV) verilmesiyle, agresif ve koruyucu doku faktörleri arasındaki uyumsuzluğun düzeltilmesi objektif bir tedavi oluşturulur (181).

### 2.4.1. İloprostun çeşitli tedavilerde kullanımı

Mikrodolaşımı bozan primer hastalık ne olursa olsun [Pulmoner Arteriyal Hipertansiyon(PAH), Tromboanjitis Obliterans(TAO), Vaskülit] iloprost başlanması tabloyu düzeltebilir. Çarpma travması veya antineoplastik kemoterapiyi takiben oluşan digital iskemide de kullanılabilir (181). İloprostun akut tromboembolik olaylarda kullanımı da tanımlanır. Örneğin unilateral renal arter embolisinin IV heparin ve ürokinaz ile başarısız bir tedavi atağından sonra iloprost böbrek kollaterallerinin refleks vazospazmını azaltarak birkaç saat içinde oligürük renal yetmezliğe çevirebilir (181). Diğer bir vakada mezenterik arter oklüzyonu sonrasında iloprost verilmesi ile intestinal rezeksiyon gereksinimi kalmamıştır (182). Kollojen doku hastalığının bir komponenti olan sekonder Reynaud fenomeni şiddetli vazospazm ile ortaya çıkan bir tablodur. Birçok çalışmada 5-8 saatlik ve 3-5 günlük iloprost infüzyon tedavisinin semptomları belirgin olarak geriletmediği gösterilmiştir(183, 184). İloprostun ayrıca yoğun bakımda sepsis şokta önemli prognostik faktör olan visseral sinir sistemi kan dolaşımını düzeltme amacıyla kullanımı rapor edilmiştir (185, 186). Trombotik mikroanjiyopatiyle seyreden kemik iliği ödemi ve antifosfolipid sendromunda iloprost yeni bir fırsattır (187).

Pulmoner hipertansiyon eğer tedavisiz kalırsa tanıdan sonra birkaç yıl içerisinde ölümlerle sonuçlanır. Tedavi ve prognozda pulmoner hipertansiyona etken olan primer hastalık önemlidir. Yapılan çalışmalarda iloprostun evre III ve IV hastalarda prognoz ve hayat kalitesini açıkça düzelttiği, semptomlarda düzelme olduğu gözlenmiştir (188). Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda iloprost uzun süreli intravenöz infüzyonların yanı sıra yan etkileri azaltmak için 1-2 yıl gibi sürelerde inhale olarak da kullanılabilir (189).

### 2.4.2. İloprostun kemikte kullanımı

İloprostun ilk klinik etkinliği Burger hastalığında, sonrasında ateroskleroz, trofik hastalıklar, aseptik osteonekroz, buz yanığı, ortopedide kemik iliği ödeminde gösterilmiştir. Aynı zamanda PGI<sub>2</sub>, kemik metabolizmasında önemli bir mediyatör kapsamına alınmıştır (8-9). İn vivo olarak, eksojen prostoglandinler, özellikle prostoglandin E<sub>2</sub>, kemik rezorpsiyon ve formasyonunu stimüle etmektedir. Etkileri, osteoblast ve osteoklast prekürsörlerinin diferansiyasyonuna ve replikasyonuna yol

açarak olmaktadır. Prostaglandinler ayrıca menapoz sonrası kemik kaybında önemli rol oynarlar çünkü kemik döngüsünü artıran östrojen bozukluğu kemikteki prostoglandin üretimini artırmaktadır (9). Kemoterapiye bağlı avasküler nekroz (AVN) ve ya aseptik osteonekroz hastalarında iloprost ile başarılı bir tedavi sağlandığı gösterilmesine rağmen (10, 11) literatürde iloprostun İÇKON tedavisi için bir çalışması bulunmamaktadır.

### **2.4.3. İloprostun yan etkileri**

Sıklıkla duyulan ve doz bağımlı olan yan etkiler; kızarıklık ve baş ağrısıdır. Kırıklık, bulantı, kusma, krampa benzer ağrı, diyare, terleme, sıcağa hassasiyet daha ziyade uzun süreli infüzyon sonrasında meydana gelen yan etkilerdir. Parestezi, ateş, üşüme, konfüzyon, apati, sedasyon, ajitasyon, kan basıncı değişiklikleri, taşikardi, aritmi ve ekstrasistoller bildirilmiştir. Tüm yan etkiler doz azaltma ile düzelir. Artralji ve alerjik reaksiyonlar meydana gelebilir. Çok yaşlı aterosklerozlu hastalarda kalp yetmezliği ve akut akciğer ödemi, astımlılarda dispne bildirilmiştir. Özellikle koroner kalp hastalarında anginayı provoke edebilir (191, 192).

### **2.4.4. İloprost ve metastaz**

İÇKON için öngörülen ek tedaviler, hiperbarik oksijeni, paratiroid hormonu, trombositten zengin plazmayı ve lazerleri kapsar. Hiperbarik oksijen tedavisi yaralardaki doku tamirinde, vaskulogenezde, mikrobiyal öldürmeyi artırmada, enflamasyon ve ödemi azaltmakta etkin olduğu bilindiğinden beri, cerrahi ve cerrahi olmayan tedavilere eklendiğinde yara iyileşmesi ve ağrı skorlarını artırabilmektedir. İÇKONda paratiroid hormonun etkinliği bifosfonatlarla ilişkili baskılanmış kemik remodellinginin elevasyonundaki kabiliyete dayanmaktadır. Ancak, metastatik kanserli hastalarda iskeletsel metastazı artırmaması adına dikkatlice değerlendirilmelidir. Bu ek tedavilerin etkinliği daha fazla çalışma ile araştırılmalıdır (193). Bu değerlendirmeye göre kanser hastalarına verilecek terapötik ajanın kemik metastazını tetiklemesi hususunda dikkatli davranılmalıdır. Anjiojenik özelliği sebebiyle iloprost kullanımı açısından kanser hastaları için daha dikkatli değerlendirmeye ihtiyaç bulunmakta olsa da paratiroid hormon günümüzde İÇKON vakalarında tedavi için denenmektedir (176-178).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney hayvanları

Bu çalışma; Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları ve Tıp Araştırmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Proje kapsamındaki hayvan deneyleri için Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 06.11.2014 Tarihinde 11 sayılı karar ile gerekli izin alındı. Sunulan araştırma prospektif, rastgele ve tek kör olarak planlandı. Araştırmada KOBAY A.Ş Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi/ANKARA'dan temin edilen 88 adet Sprague Dawley, 12 haftalık yetişkin erkek sıçan kullanıldı. Temin edilen sıçanlar 1 hafta boyunca karantinede takip edilip ortamlarına alışması beklendikten sonra deney sürecine geçildi. Sıçanlar, her bir kafeste 5-6'şar adet olmak üzere toplam 16 adet tabanı talaş ile kaplı Eurotype 4 polikarbon kafeslere(Radon®, Türkiye) yerleştirildi. Araştırma, 21±1 C sıcaklıkta; %55 bağıl nem oranı; 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyodu standardını sağlayacak ortamda gerçekleştirildi. Araştırma süresince deney hayvanlarının standart pelet formundaki sıçan yemi (Korkutelim Yem® S-2, Korkuteli/Antalya, Türkiye) ve musluk suyuna ad libitum olarak ulaşmasına izin verildi. Her gün yemleri kontrol edildi ve her hafta olmak kaydıyla deney süreci boyunca ağırlıkları kaydedildi.

**Tablo 7.** Hayvan Çalışma grupları

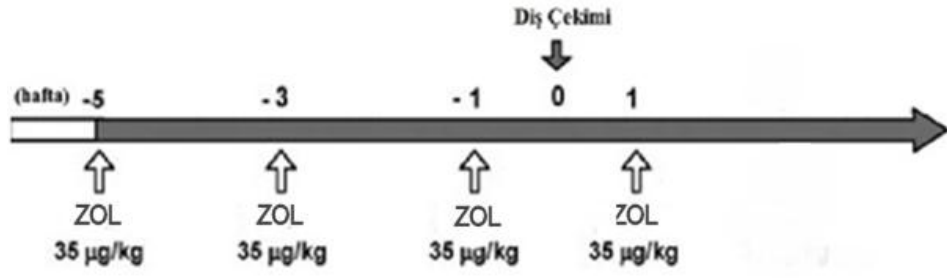
	Operasyon sonrası 15.günde sakrifiye edilen	Operasyon sonrası 45.günde sakrifiye edilen
Zoledronat ve iloprost verilmeyen(kontrol)	11(1.grup)	11(2.grup)
Yalnızca zoledronat uygulanan(ZOL)	11(3.grup)	11(4.grup)
Yalnızca iloprost uygulanan(İLO)	11(5.grup)	11(6.grup)
Zoledronat ve iloprost uygulanan(ZOL+İLO)	11(7.grup)	11(8.grup)

Deney hayvanları her grupta 11 sıçan olacak şekilde rastgele 8 gruba dağıtılarak çalışma ve kontrol grupları oluşturuldu (Tablo 7). zoledronat (ZOL)( Zomebon®, Koçak Farma, Türkiye) uygulanacak hayvanlara ZOL dozu 35 µg/kg olmak kaydıyla sabit olarak uygulandı. Yine iloprost(İLO)(İlomedin®, Schering Alman İlaç ve Ecza, Türkiye) uygulanacak hayvanlara İLO dozu 2 µg/kg olmak kaydıyla sabit olarak uygulandı. İLO ve ZOL dozlarının bütün kombinasyonlarını operasyon sonrası 15.gün ve 45.gün sakrifikasyon işlemiyle kıyaslamak adına hayvanlar önce 15.gün ve 45.gün olarak 2 ana gruba ayrıldıktan sonra bu her iki grup da kendi içinde ZOL ve İLO uygulanan, yalnızca ZOL uygulanan, yalnızca İLO uygulanan ve hiçbir ilaç uygulanmayan kontrol grupları olarak 4 alt gruba ayrıldı. Böylece her grupta 11 sıçan olacak şekilde 8 grup oluşturuldu. Her grubun ortalama ağırlığının birbirine yakın değerlerde olmasına dikkat edildi.

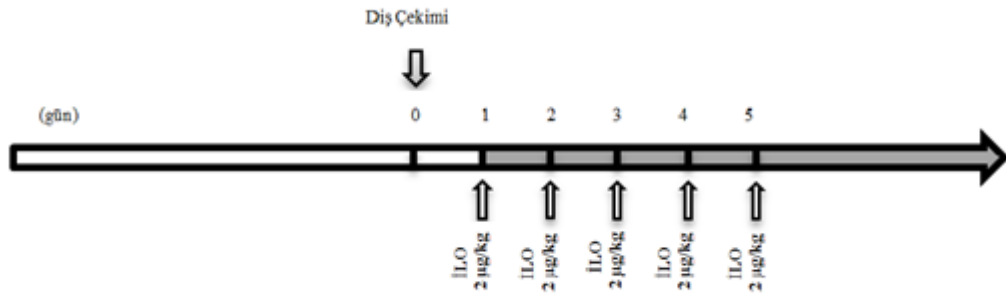
### **3.2.İlaçların hazırlanması ve uygulanması**

Deney öncesinde sıçanlar tartılarak kiloları kaydedildi ve uygulanacak ilaçların miktarları hesaplandı. ZOL(Zomebon®, Koçak Farma, Türkiye) serum fizyolojik ile dilue edilerek 35 µg/kg dozda iki haftada bir olmak kaydıyla toplam 4 kez subkütan olarak uygulandı (resim 1)(Şekil 8). Yine aynı şekilde İLO(İlomedin®, Schering Alman İlaç ve Ecza, Türkiye) dozları da serum fizyolojik kullanılarak dilue edilip 2µg/kg olarak hazırlanmak üzere tedarik edildi. ZOL verilecek gruplara diş çekiminden 5 hafta önce ZOL enjeksiyonuna başlanarak 2 haftada bir olmak üzere çekimden önce 3 doz ZOL uygulaması yapıldı. Daha sonra sağ alt büyük azı dişlerinin çekiminden itibaren 1 hafta sonra son ZOL dozu verildi. İLO verilecek sıçanlarda ise diş çekiminin ertesi gününde başlayarak 5 gün boyunca her gün 2 µg/kg olmak kaydıyla toplam 5 kez İLO uygulaması intraperitoneal (IP) olarak yapıldı (Resim 1)(Şekil 9).

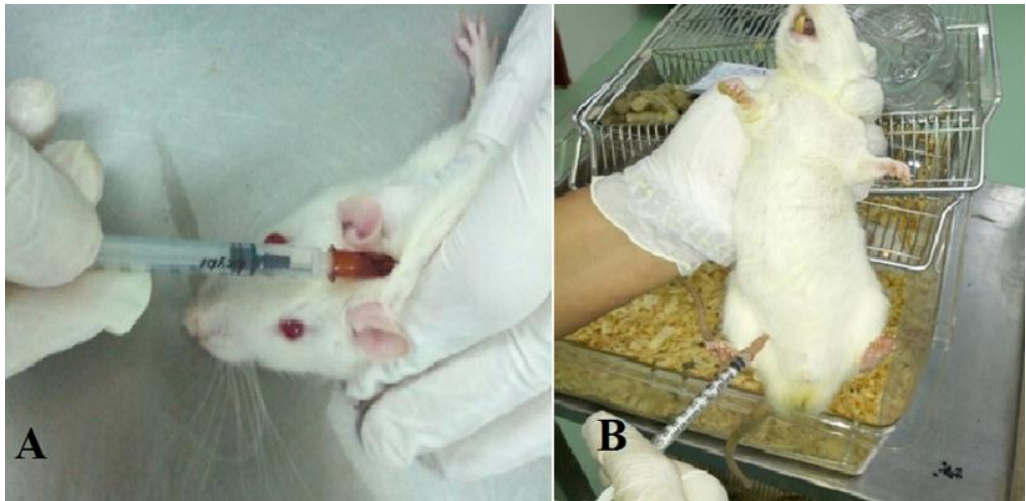




Şekil 8. Zol uygulama zamanları



Şekil 9: İloprost uygulaması zamanları



Resim 1. A zol uygulaması B iloprost uygulaması

### 3.3.Cerrahi girişim

Her diş çekimi öncesi preanestezik ajan olarak 10 mg/kg dozda Xylazine HCl (Alfazyne, Ege-Vet, Türkiye) ve genel anestezi ajanı olarak ise 90 mg/kg dozda Ketamin HCl (Alfamine®, Ege-Vet, Türkiye) IP tekniğiyle uygulandı.

Bütün gruplardan sağ alt çene bütün azı dişleri genel anestezi altında çekildi. Bütün çekimler aynı cerrah tarafından aynı teknik ile gerçekleştirildi. Her sıçan supin pozisyonda konumlandırılarak bistüri yardımıyla bukkal ve lingual taraflarda dişeti dekole edildikten sonra dişler hemostat ile lükse edilip çekildi.

### 3.4. Biyopsi alınması

Diş çekiminden sonraki 15. gün ve 45. gün alt çene angulus mandibula hizasından genel anestezi altında yumuşak ve sert doku ile birlikte bilateral olarak alındı (resim 2). Bu sırada diş çekim bölgelerindeki yeterli yumuşak doku iyileşmesi olup olmadığı değerlendirildi.



**Resim 2.** Biyopsi alınması

### 3.5. Operasyon sonrası bakım

Diş çekiminden sonra sıçanların çekim bölgelerine reanimasyon sürecinin sonuna kadar soğuk uygulandı. Analjezik olarak 3 mg/kg/gün olarak Ketoprofen (Profenid® ampul, Sanofi Aventis, Türkiye); antibiyotik olarak 5 mg/kg/gün Amikasin Sülfat (Amikozit®, Zentiva, Türkiye) diş çekimi öncesi bir gün önce başlanarak toplamda 5 gün 24 saatte bir intramuskuler (IM) olarak uygulandı(resim 4).Diş çekiminden sonra 5 gün süre boyunca verilen İLO ile analjezik ve antibiyotik ajanların etkileşime girmesinden kaçınmak adına analjezik ve antibiyotik sabah saatlerinde uygulanırken İLO'nun bu işlemde en az 4 saat olmak kaydıyla öğleden sonra IP olarak uygulanmasına dikkat edildi.

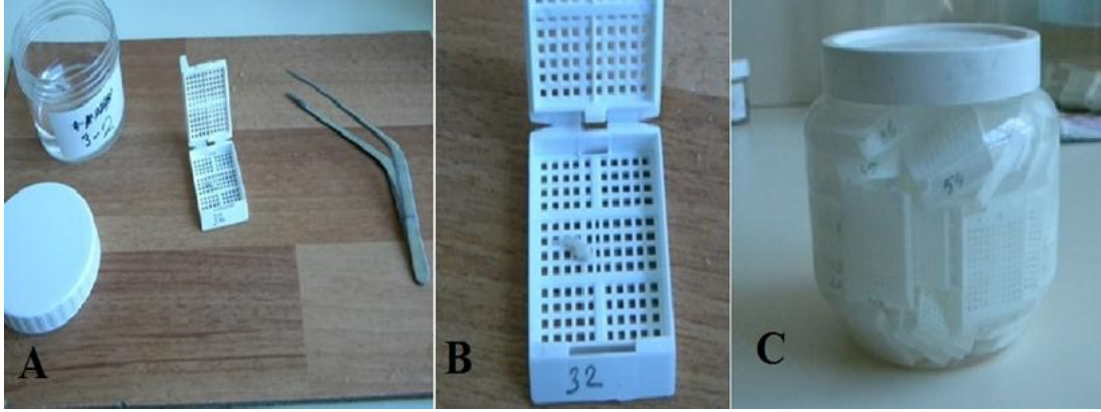


**Resim 3.** Postoperatif Analjezik ve Antibiyotik

Ayrıca ağız gargarası olarak Klorheksidin Glukonat ve Benzidamin HCl (Kloroben Gargara®, Drogsan, Türkiye) diş çekiminden 1 gün sonra başlanarak 24 saatte bir kez toplamda 10 kez kulak pamuğu ile uygulandı. Hayvan ağırlıkları, deney sürecinin ilk gününden itibaren haftada bir düzenli olarak ölçüldü ve kaydedildi.

### **3.6. Histopatolojik inceleme**

Formaldehid içerisinde Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına getirilen alt çene örnekleri 2 hafta boyunca dekalsifiye edildi. Yumuşayan mandibulalar diş çekim bölgelerini içine alacak şekilde azı dişlerinin bulunduğu alanlardan trimlenerek her bir hayvana ait diş örnekleri ayrı doku takip kasetlerine alındılar (resim 4). Bir hafta dekalsifiye solüsyonunda bekletilen mandibula örnekleri bir gün boyunca akarsu altında yıkandıktan sonra doku takip prosedürüne alındılar. Çene örnekleri doku takip cihazına takıldı ve gerekli ayarlamalar yapılarak dokuların gece boyunca düşük dereceli alkollerden yüksek dereceli alkollere (%70'den %100'e) geçirilerek yumuşak dokuda bulunan sularının alınması, iki adet ksilolden geçirilerek bu bölgede bulunabilecek yağın alınması ve sıcak parafine geçirilerek doku boşluklarına parafin dolması sağlandı. Ertesi gün sabah dokular parafine gömülerek blokajları sağlandı. Bloklardan 4-5 saat soğutulmanın ardından rotary mikrotomda, değişik düzeylerde 5 mikron kalınlığında toplam 8 adet seri kesit alındı. Kesitlerin biri hematoksilin eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda diş çekim bölgesindeki reaksiyon değerlendirilmesi için incelendi.



**Resim 4.** A dokuların dekalsifikasyonu B kesitlerin kasete alınması C kesitlerin kasetlerde depolanması

İncelemelerde defektin orta kısımlarındaki alanların seçilmesine dikkat edildi. Lezyonlar bağ doku oluşumu, yangısal infiltrasyon, kemik trabekül oluşumu ve epitelial rejenerasyona göre 0 ile 3 arasında skorlandı. Bunu için hematoksil-eozin boyalı preparatlardan her hayvan için iki ayrı kesit bölgesi incelendi.

### 3.7. İmmunhistokimyasal inceleme

Polilizinli lamlara çekilerek hazırlanan 7 ayrı seri kesit immunoperoksidaz yöntem için streptoavidin-biotin kompleks peroksidaz yöntemine göre boyandı. Primer antikolar Abcam (İngiltere) firmasından temin edildi. İmmunhistokimyasal inceleme ile Kollagen IV [Anti-Collagen IV antibody (ab6586), Abcam, 1/100 dilüsyon]; Osteopontin [Anti Osteopontin antibody (ab8448), Abcam, 1/100 dilüsyon]; Alkalin fosfataz [Anti-Alkaline Phosphatase antibody (ab95462), Abcam, 1/100 dilüsyon]; Fibronektin [Anti-Fibronectin antibody (ab2413), Abcam, 1/100 dilüsyon], Osteocalcin [Anti Osteocalcin antibody [OC4-30](ab13418), Abcam, 1/100 dilüsyon]; Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü [Anti-VEGF antibody [VG-1](ab1316), Abcam, 1/100 dilüsyon]; ve Angiogenin [Anti-Angiogenin antibody [14017.7](ab10600) Abcam, 1/100 dilüsyon) reaksiyonunun saptanması için streptoavidin biotin peroksidaz metoduna göre boyandı. Bu amaçla kesitler ksilol ve dereceli alkollerden geçirilerek dehidre ve deparafinize edildi. Dokular 10 dakika süreyle suda yıkandı. Daha sonra dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini gidermek amacıyla %3'lük metanoldeki hidrojen peroksit ile 20 dakika muamale

edildi. Dokular 2 defa 10'ar dakika süreyle Phosphate Buffered Saline(PBS)'de yıkandı. Gereken antikorlar için mikrodalga fırında sitrat buffer solusyonu (pH 6) ile 700'lük ayarda 5 dakika süreyle iki defa kaynatıldı. Dokular 10'ar dakika süreyle 2 defa PBS'te yıkandı. Daha sonra nonspesifik boyamaları önlemek amacıyla normal serumda 45 dakika süreyle tutuldu. Bu aşamadan sonra yıkama yapılmadan primer serumlar uygulandı ve oda sıcaklığında 2 saat bekletildi. Ardından dokular aynı şekil ve süreyle PBS'te yıkandı, takiben biotinli serum ile 30 dakika süreyle muamele edildi ve PBS'te 2 defa 10'ar dakika yıkandı. Bu işlemden sonra dokular streptoavidin ile 30 dakika süreyle inkübe edildi. Dokular aynı şekil ve süreyle yıkandı, hazırlanmış olan DAB (3,3 diaminobenzidine) kromojen ile boyandı. Karşıt boyama için Mayers hematoksilen kullanıldı ve preparatlar ışık mikroskobunda incelendi.

Immunohistokimyasal inceleme sonuçlarının değerlendirilmesinde semikantitatif yöntem kullanıldı ve skorlamada; negatif (0), hafif pozitiflik (1), orta şiddette pozitiflik (2) ve şiddetli pozitiflik (3) olarak değerlendirildi. Sonuçların fotoğraflanmasında Olympus CX41 model mikroskop ile morfometrik inceleme ve mikrofotografi için Database Manual Cell Sens Life Science Imaging Software System (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) kullanıldı. Gruplar arasında immunohistokimyasal skorların istatistik inceleme sonuçları tablo halinde sunuldu.

### **3.8. İstatistik yöntem**

Verilere göre elde edilen puanlara istatistik inceleme yapılarak gruplar arası farklar belirlendi. Tüm veriler SPSS 21.0 istatistik paket programında değerlendirildi. İmmünohistokimyasal markırlar bakımından elde edilen veriler herbir zamanda gruplar karşılaştırılken Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılmıştır. Grupların sıra sayı ortalaması arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Bonferroni-Dunn testi kullanıldı.

Her bir grupta zamanların karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Farklılıklar sırasayı ortalamaları üzerinde latin harfleriyle gösterildi.  $P < 0,05$  olan değerler istatistik açıdan önemli olarak kabul edildi. Sonuçlar tablo halinde sunuldu.

Canlı ağırlık özelliği bakımından elde edilen veriler faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlü varyans analizi tekniği ile analiz edildi. Çalışmada grup faktörünün KON, ZOL, İLO ve ZOL+İLO olmak üzere 4 seviyesi, işlem zamanı uygulamasının takip alt grupları olan 15.gün ve 45.gün olmak üzere 2 seviyesi ve dönem faktörünün de deney başı, diş çekimi yapıldığı gün olan 6.hafta ve deney sonu olmak üzere 3 seviyesi mevcuttur. Tekrarlanan ölçümler dönem faktörlerinin seviyelerinde gerçekleşti. Ortalamalar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey testi uygulandı. Farklılıklar ortalamalar üzerinde latin harfleriyle gösterildi. Çalışmada önem seviyesi  $P<0,05$  olan değerler istatistik açıdan önemli olarak kabul edildi. Sonuçlar tablo halinde sunuldu.



## 4.BULGULAR

### 4.1. Çalışmaya dâhil edilen hayvan sayıları

Çalışmaya katılan 88 hayvan, herbir grupta 11 adet olmak koşuluyla 8 alt gruba bölünerek çalışma başlatıldı. İLO15(15.gün sakrifiye edilen yalnızca iloprost verilen grup) ve İLO 45(45.gün sakrifiye edilen yalnızca iloprost verilen grup) gruplarında kayıp olmadan deney tamamlandı. Ancak ZOL+İLO15(15.gün sakrifiye edilen zoledronik asit ve iloprost verilen grup), ZOL+İLO 45(45.gün sakrifiye edilen zoledronik asit ve iloprost verilen grup) ve ZOL15(15.gün sakrifiye edilen zoledronik asit verilen grup) gruplarından 1'er, ZOL45(45.gün sakrifiye edilen zoledronik asit verilen grup) KON15(15.gün sakrifiye edilen kontrol grubu) ve KON45(45.gün sakrifiye edilen kontrol grubu) gruplarından da 2'şer adet olmak koşuluyla toplam 9 hayvan deneyi tamamlayamadan kaybedilmiştir. Hayvanlar operasyon sonrası takip dönemlerinde ölmüştür. iloprost verilen gruplarda ise herhangi bir kayıp olmamasına rağmen kontrol gruplarından 2'şer kayıp olmuştur. Toplam 9 kayıp için yapılan otopsilerde veteriner hekimler ani kilo kaybı gibi herhangi bir neden belirtmemiştir. Çene bölgesinde yaygın bir enfeksiyon bulgusuna rastlanmamıştır. 3 vakada kannibalizm rapor edilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen hayvan sayıları aşağıda gösterilmiştir(tablo 8):

**Tablo 8.** Çalışmaya dâhil edilen hayvan sayıları

	Operasyon sonrası 15.günde sakrifiye edilen	Operasyon sonrası 45.günde sakrifiye edilen
KONTROL	9(1.grup)	9(2.grup)
ZOL	10(3.grup)	9(4.grup)
İLO	11(5.grup)	11(6.grup)
ZOL+İLO	10(7.grup)	10(8.grup)



## 4.2. Makroskobik inceleme

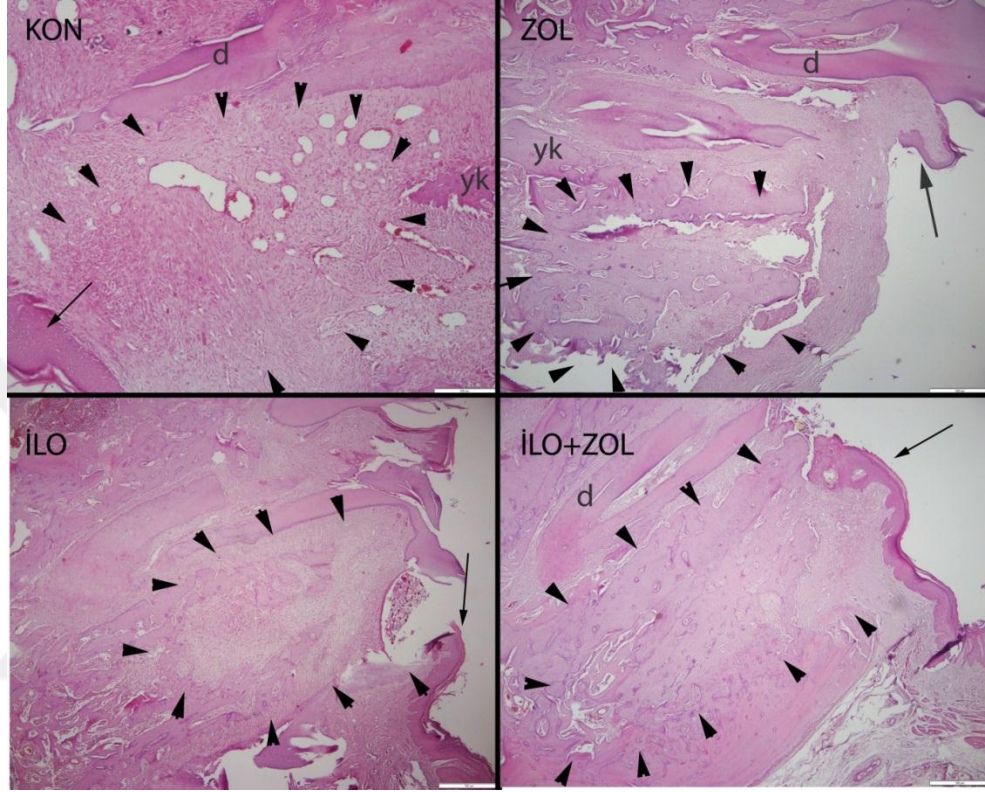
Deneyin 15 günlük aşamasında alt çenede azı dişin çekim alanında değişen oranlarda iyileşmenin şekillendiği ve granülasyon dokusu oluştuğu gözlemlendi. Bazı diş çekim alanlarında enfeksiyonun şekillendiği ve iyileşmenin azaldığı görüldü.

Deneyin 45 günlük aşamasında hemen hemen tüm gruplarda diş çekim alanında epitelizasyonu şekillendiği ve birçok olguda iyileşmenin tamamlandığı dikkati çekti.

## 4.3. Histopatolojik inceleme

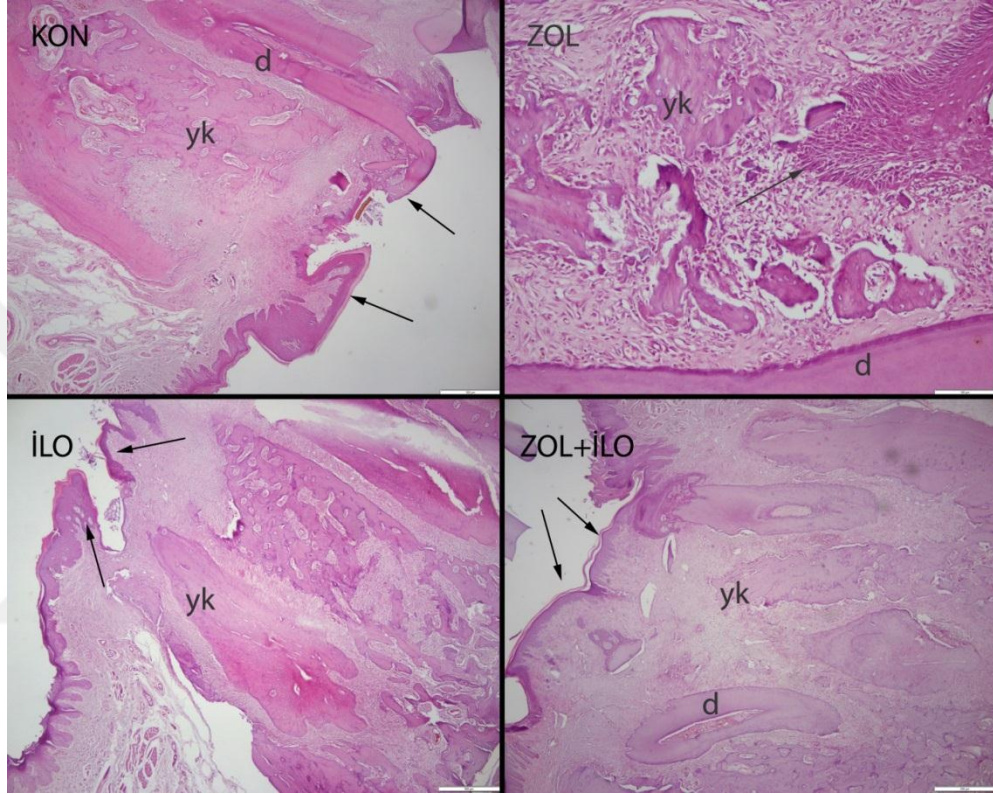
Grupların histopatolojik incelemelerinde 15 günlük KON grubundaki ratlarda diş çekim alanının büyük ölçüde iyileştiği, bağ doku artışı şekillendiği ve yeni kemik trabekülleri oluşmaya başladığı gözlemlendi. Enfekte olmayan olguların birçoğunda epitel tabakasının tamamen diş çekim alanını kapladığı dikkati çekti. Epitel tabakası altında hafif yangısal infiltrasyonların bulunduğu görüldü. Aynı haftalık ZOL grubunda iyileşmenin daha az şekillendiği ve epitelizasyonun tam olarak diş çekim alanını kapatmadığı dikkati çekti. Bu dönemdeki İLO grubunda iyileşmenin hemen hemen kontrol grubundaki gibi olduğu ancak bazı enfekte olgularda epitelizasyonun tam şekillenmediği görüldü. ZOL+İLO grubunda epitelizasyon ve diş çekim alanındaki iyileşme kontrol grubundaki gibiydi. Bu grupta ZOL uygulamasının diş çekimi sonrası şekillenen iyileşme sürecini uzattığı ancak İLO uygulamalarının bu iyileşmedeki yavaşlamayı düzelttiği gözlemlendi.

Çalışmanın 15 günlük bölümündeki tüm gruplarda enfekte olmayan olgularda epitelizasyonun tamamen şekillendiği, normal görünümdeki gingival mukozanın diş çekim alanını tamamen örttüğü gözlemlendi. Kemik trabeküla gelişimleri KON ve İLO gruplarında en yoğun gözlenirken en az kemik gelişimi ZOL grubunda dikkati çekti (Resim 5).



**Resim 5.** Diş çekimi sonrası 15. günde gruplardan alınan örneklerdeki histopatolojik bulgular. KON: Kontrol grubundaki diş çekim alanı (ok başları), tamamen bağ doku ile dolmuş hafif yangısal hücre infiltrasyonları ve tamamen şekillenmiş gingival epitelizasyon (ok), yeni şekillenmeye başlamış kemik oluşumu (yk) ve komşu dişin kesiti (d), HE, Bar=200µm; ZOL: bu gruptaki diş çekim alanı (ok başları) ve yeni şekillenmeye başlayan epitelizasyon (ok) ve kemik trabekülaları (yk), HE, Bar=500µm; İLO: tamamen şekillenmiş bağ doku ile karakterize diş çekim alanı (ok başları), bu olguda gingival yangısal reaksiyon sebebiyle tam olarak şekillenmemiş epitelizasyon (ok), HE, Bar=500µm; İLO+ZOL: Tamamen iyileşmiş, bağ doku ile doldurmuş diş çekim alanı (ok başları) ve epitelizasyon (ok), komşu diş kökü (d), HE, Bar=500µm.

Çalışmanın 45 günlük periyodundaki ratların diş çekimi sonrası iyileşme düzeylerine bakılacak olursa KON ve İLO gruplarında beklenen iyileşmenin ve kemik gelişiminin şekillendiği ancak ZOL grubunda iyileşmenin belirgin şekilde yavaşladığı dikkati çekti. Bu grupta şekillenen kemik trabekülleri hem küçük hem de az sayıda idi. ZOL'ün bu iyileşmeyi yavaşlatıcı etkisinin İLO tedavisi ile normale döndüğü ZOL+İLO grubunda gözlemlendi (Resim 6).

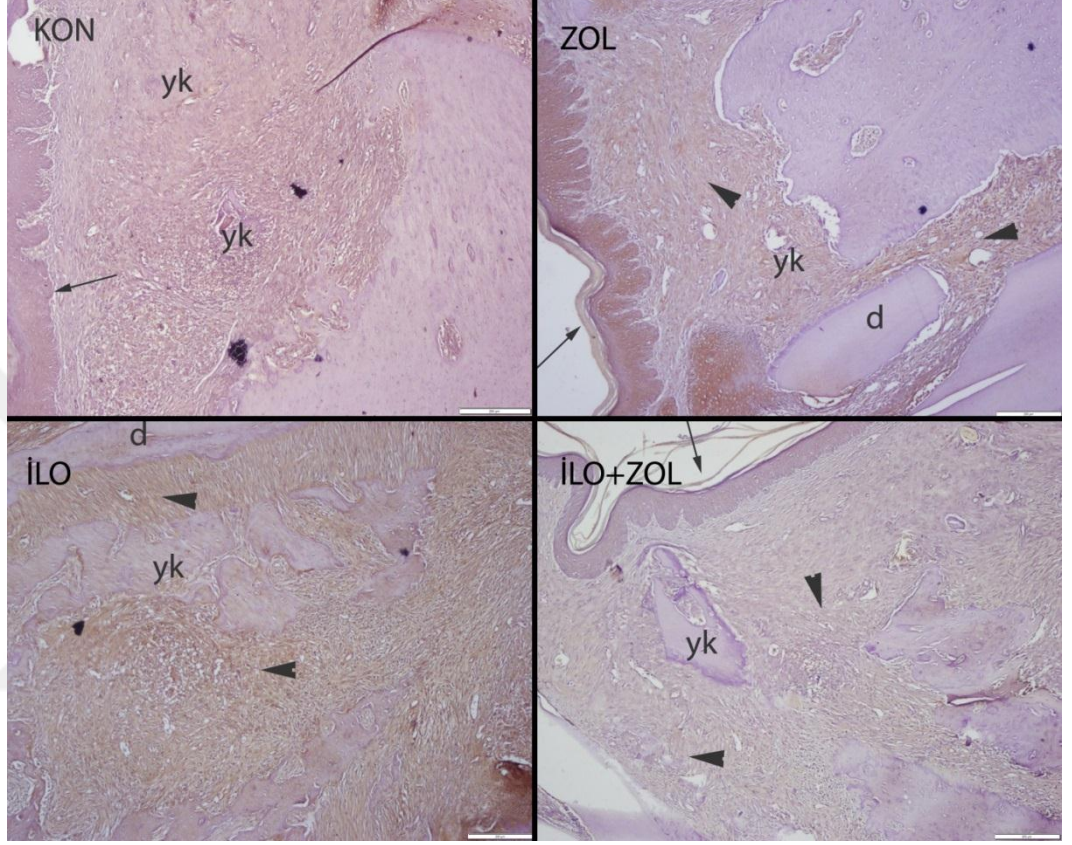


**Resim 6.** Grupların diş çekiminden 45 gün sonraki diş çekim alanlarındaki bulgular, KON: Tamamen diş çekim alanını doldurmuş yeni kemik gelişimi (yk), tam olarak şekillenmiş epitelizasyon (oklar) ve komşu diş kökü (d), HE, Bar=500µm; ZOL: az ve küçük şekillenmiş bir birlerinden bağımsız kemik trabekülaları (yk), komşu diş (d) ve tam şekillenmiş epitelizasyon (ok) HE, Bar=100µm; İLO: diş çekim alanını doldurmuş yeni kemik gelişimi (yk) ve enfekte alan dışında tam şekillenmiş epitelizasyon (ok başları), HE, Bar=500µm, ZOL+İLO: Çekim alanını doldurmuş kemik gelişimi (yk) ve tam şekillenmiş epitelizasyon (oklar), komşu diş (d), HE, Bar=500µm.



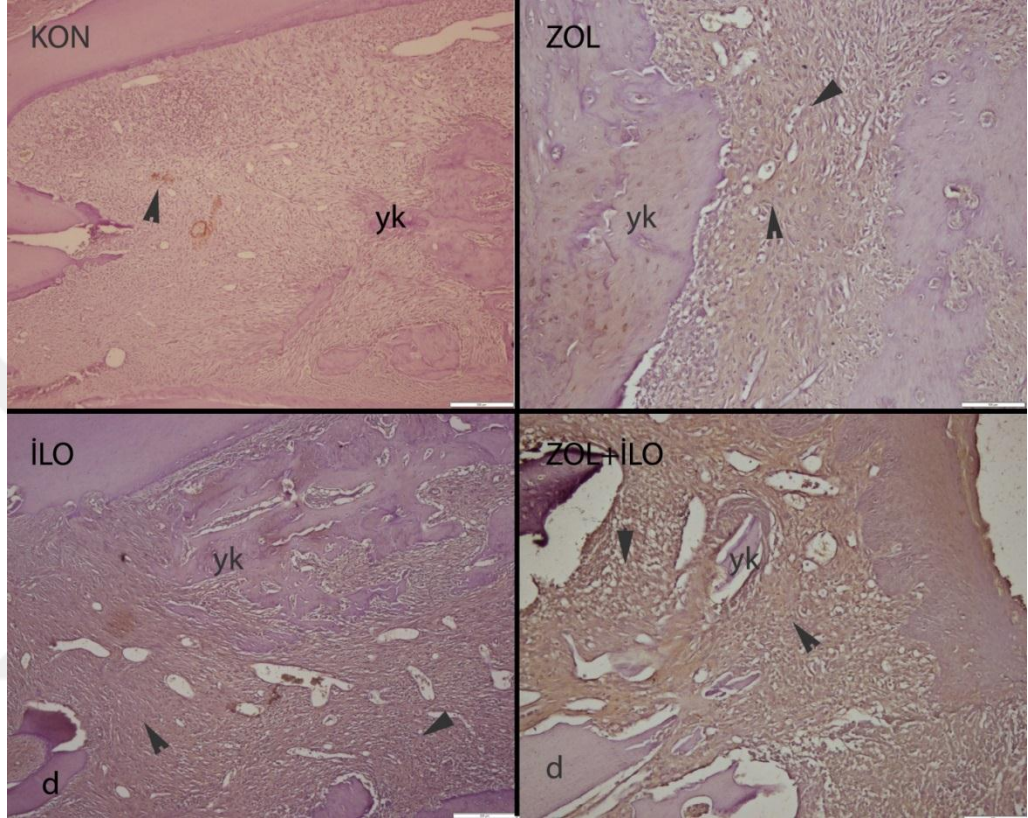
#### 4.4. İmmunohistokimyasal bulgular

Çalışmanın 15 günlük periyodunda gruplarda bağ dokuda hafif şiddette ALP immunoreaksiyonu saptandı (Resim 7).



**Resim 7.** Gruplara göre 15.günde ALP reaksiyonları. Kontrol grubunda tamamen şekillenmiş bağdokuda ki ve yeni şekillenmeye başlayan kemik dokudaki hafif şiddette ALP pozitif immunoreaksiyon (ok başı), streptoavidin biyotin kompleks metot, Bar= 200µm. ZOL: diş çekim alanını dolduran bağ dokuda immunopozitif immunoreaksiyon (ok başı), streptoavidin biyotin kompleks metot, Bar= 200µm., İLO: diş çekim alanındaki bağ dokuda ALP immunoreaksiyonu (ok başı); ZOL+İLO: Bağ dokuda ALP immunoreaksiyonu, streptoavidin biyotin kompleks metot, Bar= 200µm. Yeni şekillenen epitel doku (oklar), yeni şekillenen kemik doku (yk), kahverengi alanlar immunopozitifliği gösteriyor.

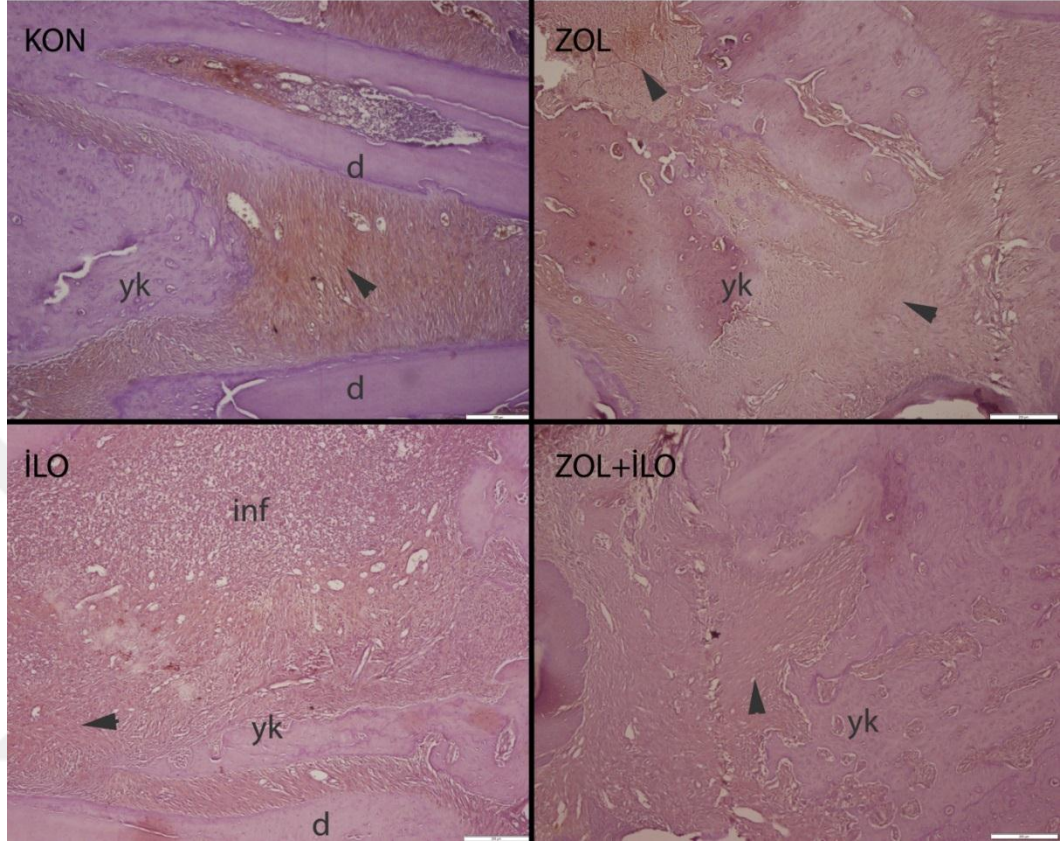
Diş çekimi sonrası 15. günde tüm gruplarda hafif şiddette ANG immunoreaksiyon gözlemlendi. İmmunopozitif reaksiyon özellikle bağ dokuda yerleşirken bazı alanlarda yeni şekillenen epitel dokuda da hafif şiddette immunopozitif reaksiyon dikkati çekti. En şiddetli immunoreaksiyona ZOL+İLO grubunda rastlandı (Resim 8).



**Resim 8.** Diş çekiminden 15 gün sonraki ANG immunoreaksiyonu. Tüm gruplarda hafif pozitif ANG immunoreaksiyonu (ok başları), yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). KON ve İLO; Bar= 200µm, ZOL ve ZOL+ İLO; Bar= 100µm, streptoavidin biyotin kompleks metot.

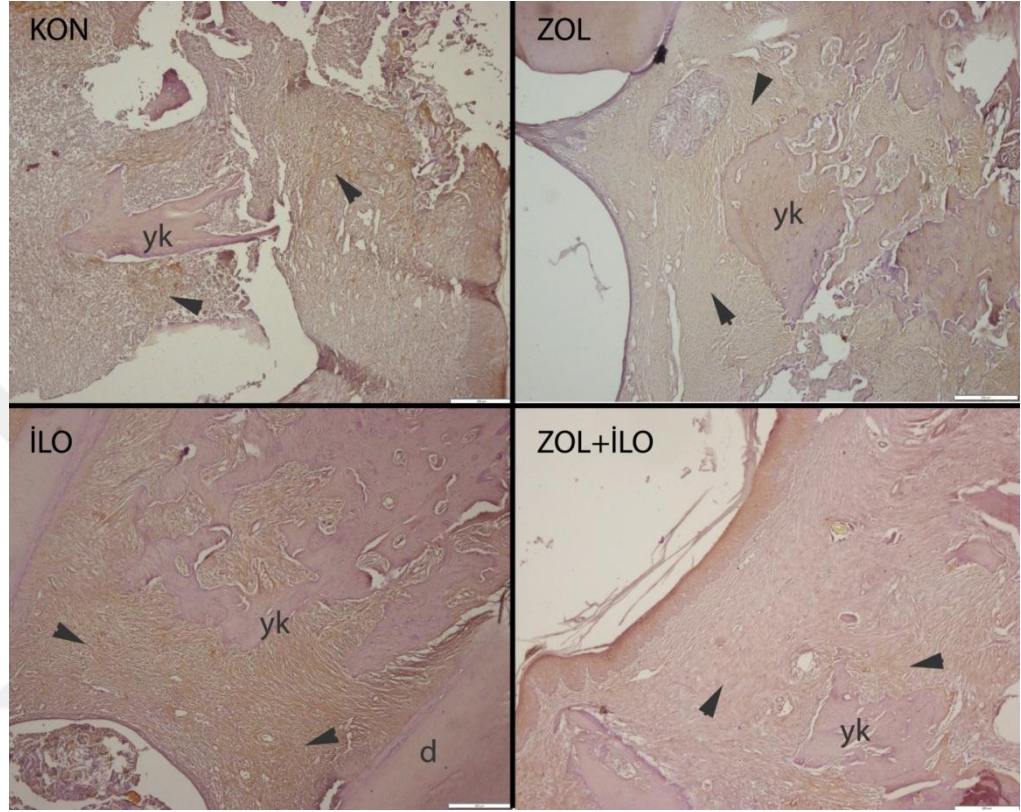


Çalışmanın 15.gününde tüm gruplarda bağ dokuda kollagen IV immunopozitif reaksiyon dikkati çekti (Resim 9).



**Resim 9.** 15 günlük grupta kollagen IV immuopozitif reaksiyon. Kontrol grubunda yeni şekillenen bağ dokuda belirgin kollagen IV immunoreaksiyon (ok başı); ZOL grubunda orta şiddette immunopozitif kollagen IV immunoreaksiyonu (ok başları); İLO grubunda bağ dokuda hafif immunopozitif reaksiyon (ok); ZOL+İLO grubunda orta şiddette immunopozitif kollagen IV reaksiyonu (ok başı), streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 200µm.

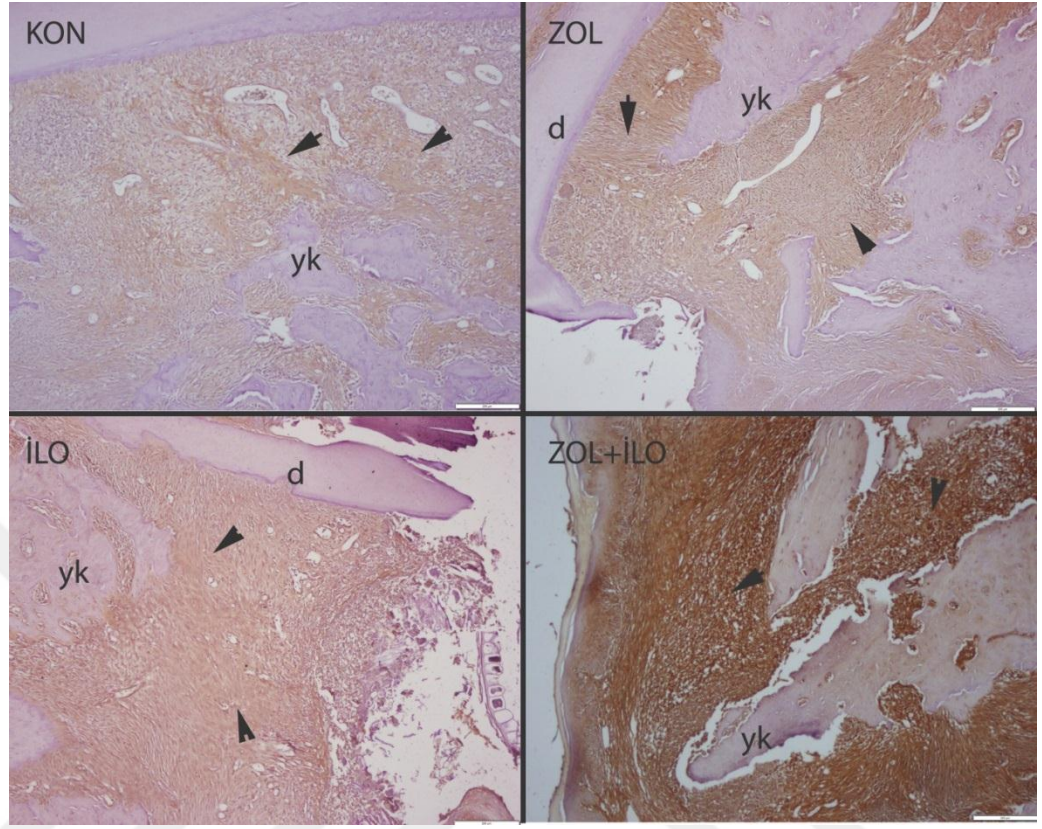
Fibronektin immunoreaksiyonu başlıca bağ dokuda gözlemlendi. Bununla beraber yeni şekillenen kemik dokuda da hafif şiddette immunopozitif reaksiyon görüldü. Bazı epitel hücrelerinde de pozitif immunoreaksiyona rastlandı (Resim 10).



**Resim 10.** Diş çekiminden 15 gün sonra fibronektin immunoreaksiyonu. Tüm gruplarda orta şiddette immunopozitif reaksiyon (ok başları), yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 100µm.



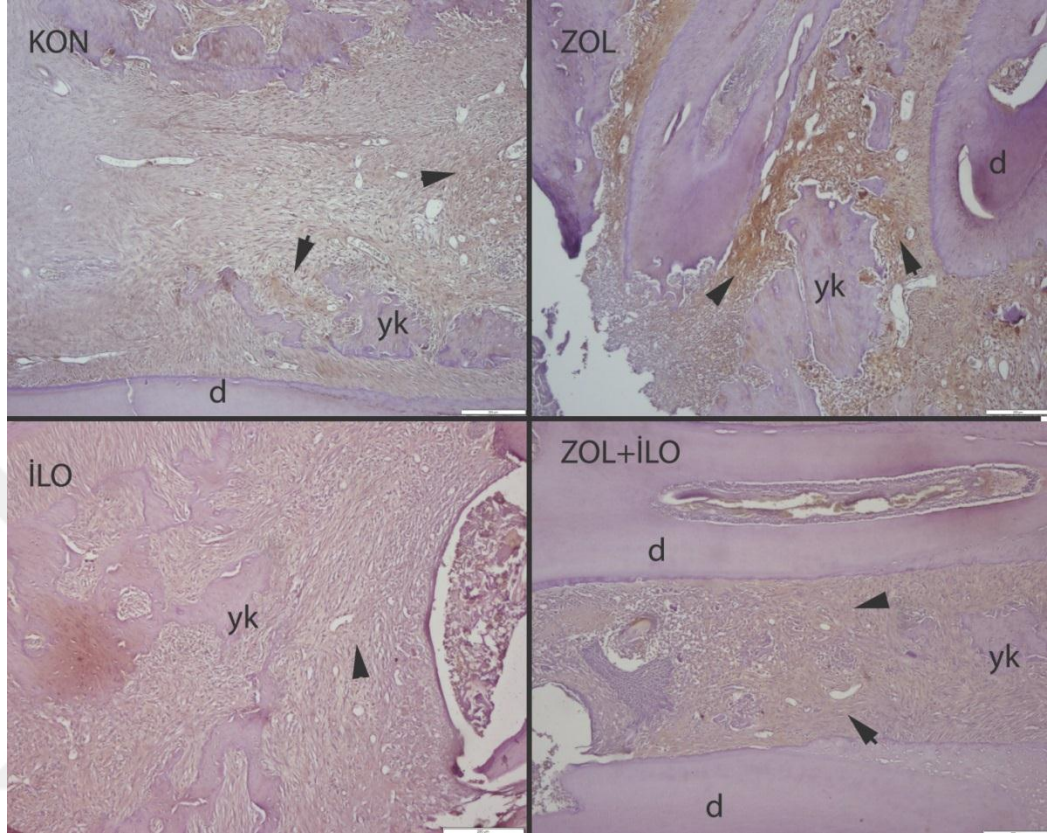
OPN aktivitesi tüm gruplarda yeni şekillenen bağdokuda belirgin şekilde artış gösterdi. En şiddetli OPN reaksiyonuna ZOL+İLO grubunda rastlandı (Resim 11).



**Resim 11.** OPN immunoreaksiyonu. ZOL+İLO grubunda bağ dokuda şiddetli diğer gruplarda orta şiddette OPN immunoreaksiyonu (ok başları), yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 100µm.

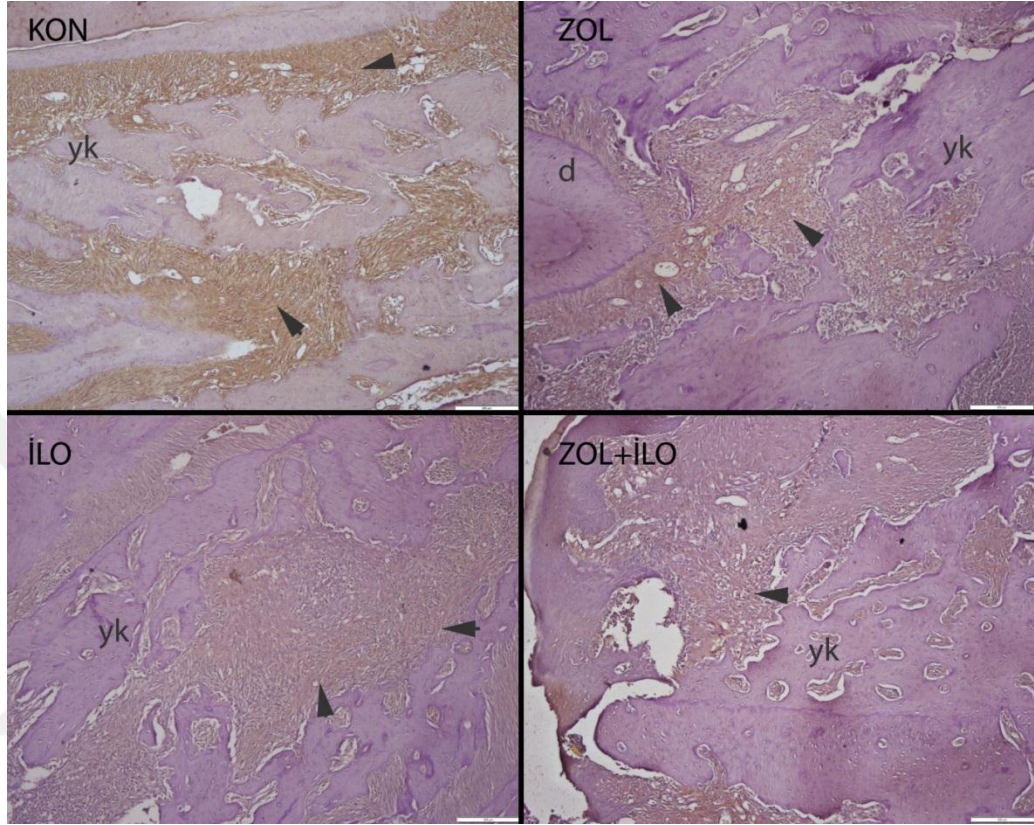


Diş çekimi bölgesinde osteokalsin immunoreaksiyonu bağ doku hücrelerinde çeşitli şiddetlerde dikkati çekti. En şiddetli immunoreaksiyon yeni kemik şekillenme bölgeleri çevrelerindeki bağ dokuda gözlemlendi (Resim 12).



**Resim 12.** Çalışmanın 15 günlük grubundaki gruplarda OC immunoreaksiyonu. Kontrol, İLO ve ZOL+ İLO grubunda hafif, ZOL grubunda orta şiddette OC immunoreaksiyonu, (ok başları), yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 200µm.

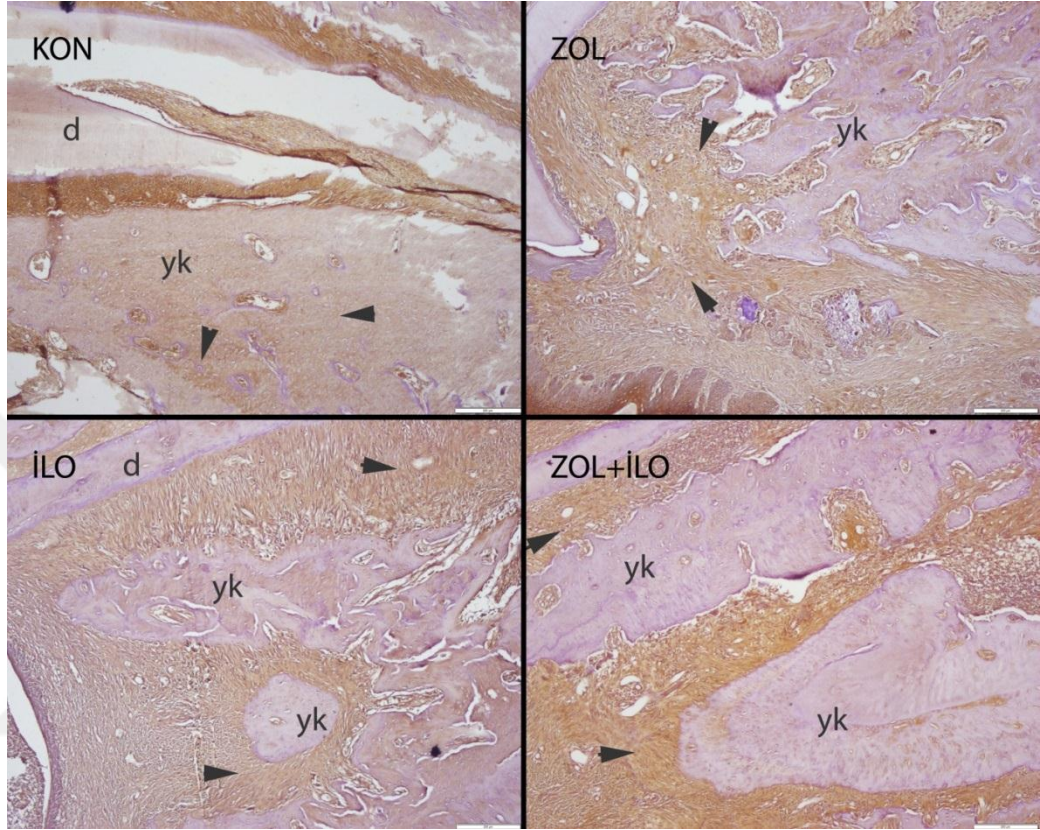
Diş çekiminin 15. gününde alınan örneklerde diş çekimi bölgesinde yeni şekillenen bağ dokuda VEGF immunoreaksiyonunun tüm gruplarda değişen ölçülerde arttığı gözlemlendi. İmmunoreaksiyon kontrol grubunda orta şiddetteyken diğer gruplarda daha hafif şiddette saptandı (Resim 13).



**Resim 13.** VEGF immunoreaksiyonunun diş çekiminin 15.günündeki görünümü. Kontrol grubunda orta diğer gruplarda hafif şiddette immunoreaksiyon, (ok başları), yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 200µm.

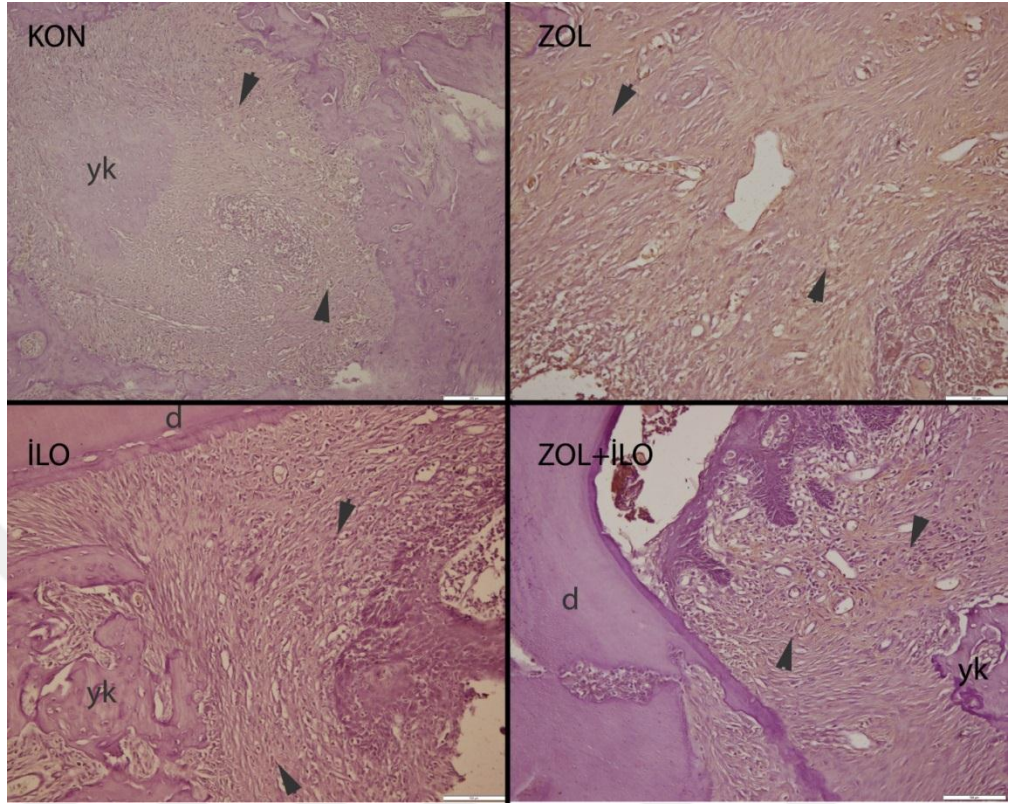


Çalışmanın 45.gününde alınan doku örneklerinde 15. günle karşılaştırıldığında ALP immunoreaksiyonunun arttığı dikkati çekti. Bağ doku hücrelerine ilaveten yeni şekillenen kemik trabeküllerindeki hücrelerin de ALP immunoreaksiyonu gösterdikleri gözlemlendi (Resim 14).



**Resim 14.** Çalışmanın 45. gününde bağ dokuda (oklar) ve yeni şekillenen kemiklerde artmış pozitif ALP immunoreaksiyonu. Yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 200µm.

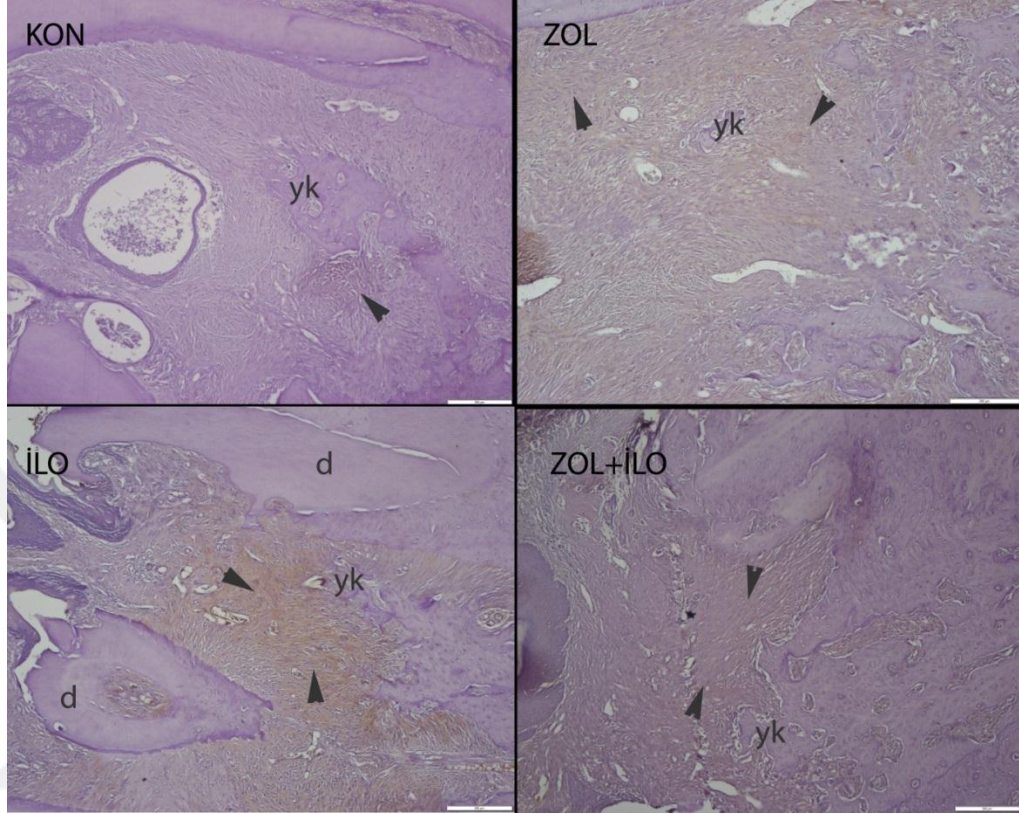
Diş çekiminden 45 gün sonra alınan doku örneklerinde 15. güne kıyasla angiogenin aktivitesinin tüm gruplarda azaldığı dikkati çekti (Resim 15).



**Resim 15.** Çalışmanın 45. gününde gruplarda ANG immunoreaksiyonu. Tüm gruplarda azalmış immunoreaksiyon. Yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, KON, Bar= 200µm; diğer gruplar Bar= 100µm.

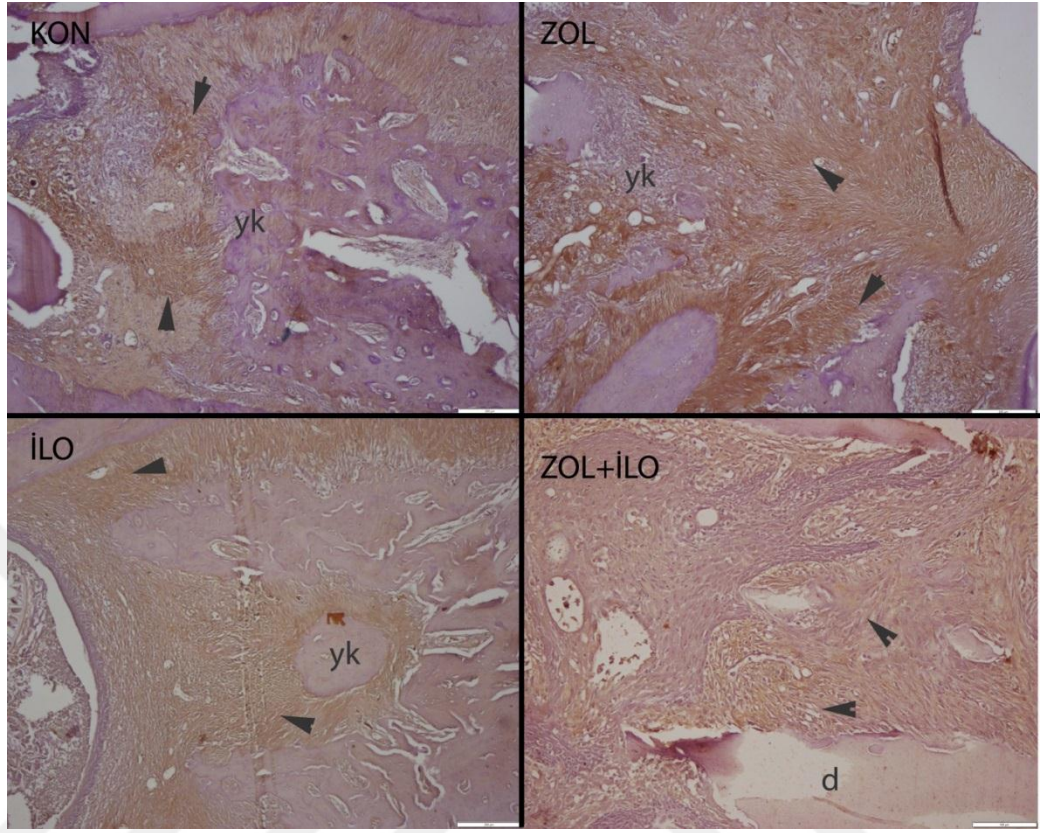


Diş çekimi sonrasında 45. günde diş çekim bölgesinde 15. güne göre kollagen IV immunoreaksiyonunda tüm gruplarda belirgin bir azalma şekillendiği dikkati çekti (Resim 16).



**Resim 16.** Çalışmanın 45. günlük periyodunda kollagen IV immunoreaksiyonunun gruplara göre görünümü. Tüm gruplarda azalmış immunoreaksiyon. Yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 200µm.

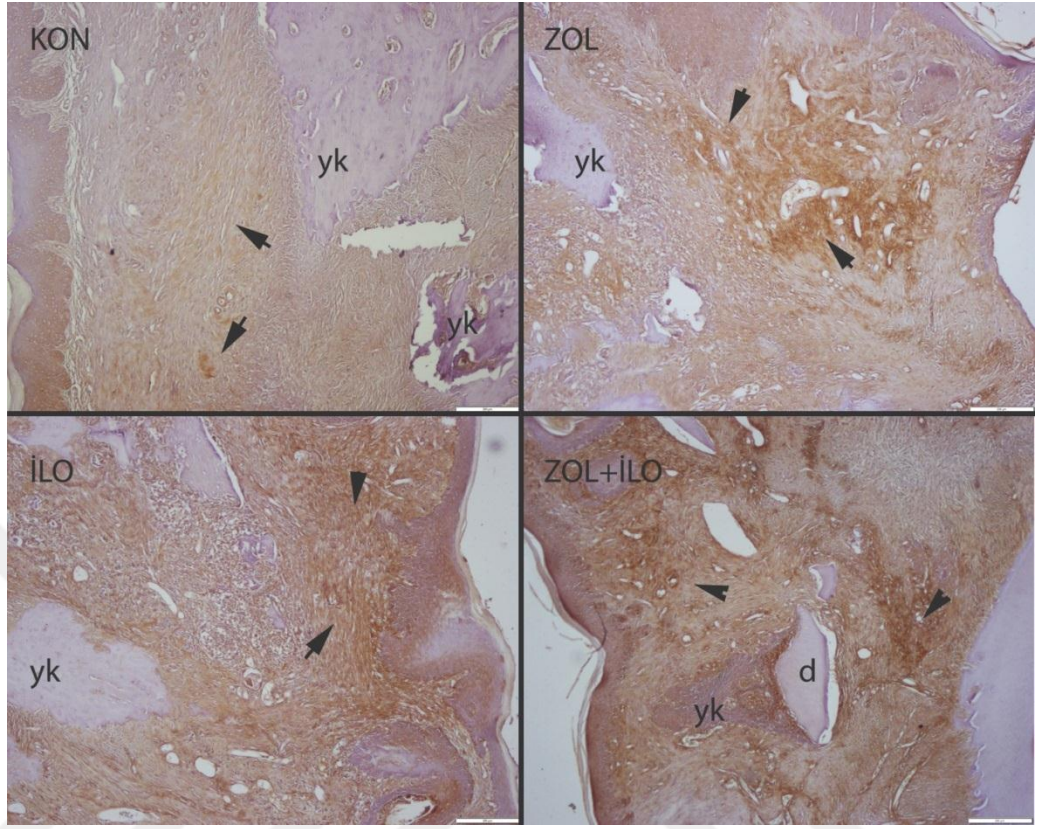
Çalışmanın 45 günlük periyodunda 15. güne kıyasla fibronektin aktivitesinde tüm gruplarda belirgin bir artış dikkati çekti (Resim 17).



**Resim 17.** Çalışmanın 45. gününde artmış fibronektin immunoreaksiyonu (ok başları). Yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 200µm.

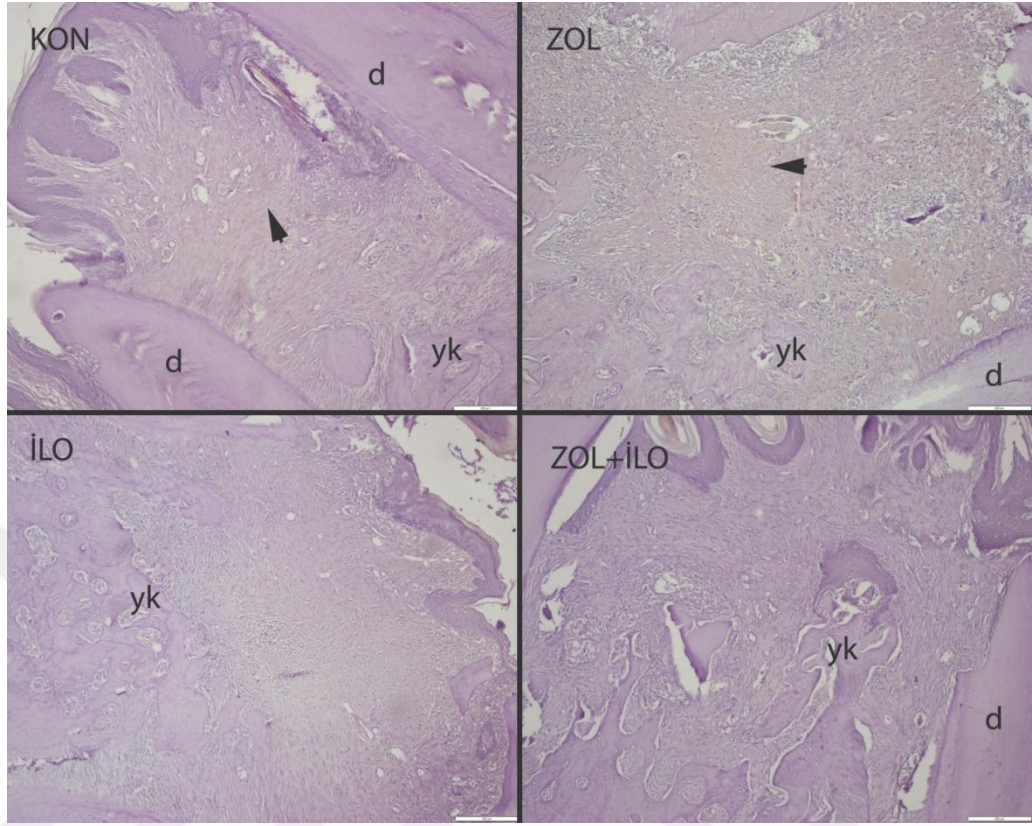


Çalışmanın 15 günlük grubu ile karşılaştırıldığında 45 günlük grupta OPN reaksiyonunda azalma dikkati çekti (Resim 18).



**Resim 18.** Azalmış OPN immunoreaksiyonu. Yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 200µm.

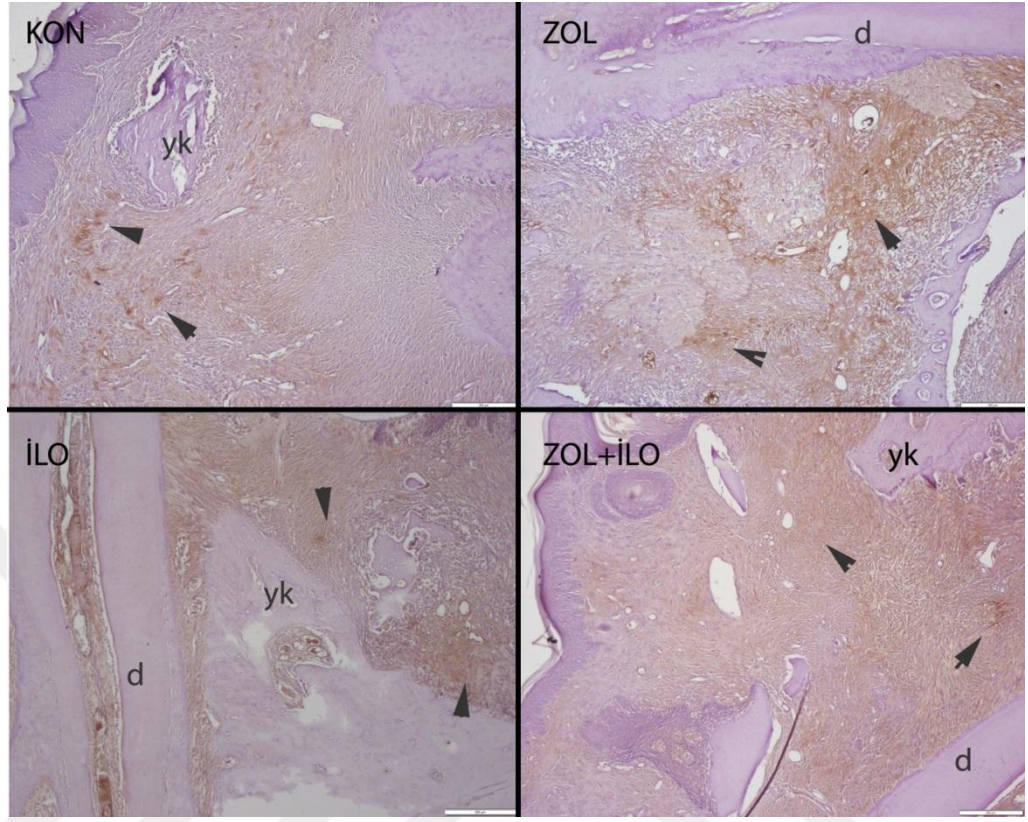
Diş çekimi sonrasında 45. günde OC immunoreaksiyonunun tamamen kaybolduğu ve negatifleştiği dikkati çekti (Resim 19).



**Resim 19.** Çalışmanın 45. Gününde tüm gruplarda negatif OC immunoreaksiyonu. Yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 200µm.



Çalışmanın 45. gününde diş çekimi bölgesinde 15. güne kıyasla azalmış VEGF reaksiyonları dikkati çekti (Resim 20).



**Resim 20.** Diş çekimi sonrası 45. günde Azalmış VEGF immunoreaksiyonu. Yeni şekillenen kemik dokusu (yk), komşu diş (d). Streptoavidin biyotin kompleks metot, Barlar= 200µm.

#### 4.5. Histopatolojik ve immunohistokimyasal analizler için istatistiksel bulgular

Diş çekimi sonrası 15. günde sakrifiye edilen ratlarda Hematoksilen-Eozin (HE) boyamasında elde edilen histopatolojik verilere yapılan Kruskal-Wallis testi sonucunda grupların Rank(sıra sayı) ortalamaları arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir. ( $p<0.05$ ). Bonferroni-Dunn testi sonuçları sırasayı ortalamaları üzerinde latin harfleri ile gösterilmiştir.(TABLO 10). ZOL grubunun en düşük histopatolojik skor değeri aldığı görülmektedir( $p<0.05$ ). Diğer 3 grubun histopatolojik skorlar bakımından aralarında farklılık olmadığı görülmektedir.

Diş çekimi sonrası 45.günde sakrifiye edilen ratlarda histopatolojik inceleme ile elde edilen verilere yapılan Kruskal-Wallis testi sonucunda grupların Rank(sıra sayı) ortalamaları arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ ). Bonferroni-Dunn testi sonuçları sırasayı ortalamaları üzerinde latin harfleri ile gösterilmiştir.(TABLO 10). ZOL grubunun en düşük histopatolojik skor değeri aldığı görülmektedir( $p<0.05$ ). Diğer 3 grubun histopatolojik skorlar bakımından aralarında farklılık olmadığı görülmektedir.

Diş çekimi sonrası 15.günde sakrifiye edilen ratlarda ALP (alkalen fosfataz ) immunreaksiyonu bakımından elde edilen verilere bakıldığında farklılıklar sıra sayı ortalamaları üzerinde latin harfleriyle gösterilmiştir. KON grubu en düşük değere sahip olup ZOL+İLO grubu en yüksek değere sahiptir( $p<0.05$ ). ZOL ve İLO grupları arasında fark anlamlı olmayıp bu iki grup değerleri, KON ve ZOL+İLO gruplarının arasında yer almaktadır(tablo 10).

Diş çekimi sonrası 15.günde sakrifiye edilen ratlarda OPN immunreaksiyonu en düşük İLO grubundadır. Bu değer, ZOL ve ZOL+İLO gruplarından farklıdır( $p<0.05$ ). KON ve İLO grupları arasında ve ZOL ile ZOL+İLO grupları arasında ise istatistik olarak bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ) (tablo 10).

Yapılan Kruskal-Wallis testine göre yukarıdaki belirtilen grupların haricinde istatistik olarak anlamlı bulunan başka bir grup mevcut değildir. Yani, ANG açısından 15.gün ve 45.gün sakrifiye edilen ratlarda, Kollojen IV açısından 15.gün ve 45.gün sakrifiye edilen ratlarda, fibronektin açısından 15.gün ve 45.gün sakrifiye edilen ratlarda, OPN açısından 45.gün sakrifiye edilen ratlarda, OC açısından 15.gün

ve 45.gün sakrifiye edilen ratlarda, VEGF açısından 15.gün ve 45.gün sakrifiye edilen ratlarda gruplar arasında istatistik olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır(tablo 10).

Histopatolojik incelemede KON grubunda elde edilen veriler dikkate alındığında yapılan Mann-Whitney U testi sonucunda 15. ve 45. günler için RANK ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir( $p<0.05$ ). 45. günde histopatolojik skor değerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. ZOL grubunda yapılan Mann-Whitney U testi sonucunda histopatolojik bulgular bakımından zamanların sıra sayı ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir. İLO grubunda da 45. günde daha yüksek olmak üzere zamanların arasındaki fark önemli iken ( $p<0.05$ ) ZOL+İLO grubunda istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır(tablo 11).

ALP bakımından KON, ZOL ve İLO gruplarından elde edilen veriler dikkate alındığında yapılan Mann-Whitney U testi sonucunda 15.ve 45. Günleri için sıra sayı ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ ). Bu 3 gruptaki ALP değerinin 45.günde daha yüksek olduğu görülmektedir. ZOL+İLO grubundaki veriler için ise 15. ve 45. günler arasında istatistiksel olarak fark mevcut değildir(tablo 11).

ANG bakımından tüm gruplarda elde edilen veriler dikkate alındığında yapılan Mann-Whitney U testi sonucunda 15.ve 45. günler için sıra sayı ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ ). Her bir gruptaki 15.gün değerlerinin 45.gün değerlerinden fazla olduğu görülmektedir. (tablo 11).

Kollojen IV bakımından KON, ZOL ve İLO gruplarından elde edilen veriler dikkate alındığında yapılan Mann-Whitney testi sonucunda 15.ve 45. günler için sıra sayı ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ ). Bu gruplardaki 15.gün değerlerinin 45.gün değerlerinden fazla olduğu görülmektedir. ZOL+İLO grubundaki veriler için ise 15. ve 45. günler arasında istatistiksel olarak fark mevcut değildir (tablo 11).

Fibronektin bakımından KON ve ZOL+İLO gruplarından elde edilen veriler dikkate alındığında yapılan Mann-Whitney testi sonucunda 15.ve 45. günler için sıra sayı ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ ). ZOL ve İLO gruplarındaki veriler için ise 15. ve 45. günler arasında istatistiksel olarak fark

mevcut değildir. Yine tüm gruplarda 45. gün değerleri 15. gün değerlerinden yüksek olmuştur. Ancak sadece KON ve ZOL+İLO gruplarındaki farklılığın istatistiki anlamlılığı vardır(tablo 11).

OPN bakımından ZOL ve ZOL+İLO gruplarından elde edilen veriler dikkate alındığında yapılan Mann-Whitney testi sonucunda 15. ve 45. günler için sıra sayı ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ ). KON ve İLO gruplarındaki veriler için ise 15. ve 45. günler arasında istatistiksel olarak fark mevcut değildir. Tüm gruplarda OPN verileri 15. gün alt gruplarında daha yüksek görülse de ZOL ve ZOL+İLO gruplarında ancak bu farklar anlamlıdır(tablo 11).

OC bakımından tüm gruplarda elde edilen veriler dikkate alındığında yapılan Mann-Whitney testi sonucunda 15. ve 45. günler için sıra sayı ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ ). Tüm gruplarda 15.gün verileri 45.gün verilerinden fazla olarak görülmüştür (tablo 11).

VEGF bakımından KON, ZOL ve İLO gruplarından elde edilen veriler dikkate alındığında yapılan Mann-Whitney testi sonucunda 15. ve 45. günler için sıra sayı ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ ). ZOL+İLO grubundaki veriler için ise 15. ve 45. günler arasında istatistiksel olarak fark mevcut değildir. Tüm gruplar için 15. gün verileri 45. gün verilerinden fazla bulursa da KON, ZOL ve İLO gruplarındaki bu farkların istatistiki bir önemi bulunmaktadır(tablo 11).

**Tablo 9.** İmmünohistokimyasal boyamalarda elde edilen 0-3 arasındaki patoloji skorlarının ortalamaları

Boya/Zaman	GRUPLAR			
	KON	ZOL	İLO	ZOL+İLO
HE				
15	1.7778 ±0.22222	0.8±0.2	1.9091±0.21125	1.6±0.30551
45	2.4444±0.17568	1.3333±0.16667	2.6364±0.15212	2.3±0.15275
ANG				
15	1.8889±0.26058	1.9±0.27689	2.4545±0.15746	2.6±0.16330
45	1.1111±0.20031	0.8889±0.20031	1.2727±0.19498	1.0±0.14907
ALP				
15	0.8889±0.20031	1.2±0.35901	1.7273±0.19498	2.1±0.17951
45	2.7778±0.14699	2.3333±0.2357	2.4545±0.15746	2.6±0.16330
Kollojen IV				
15	1.5556±0.24216	1.7±0.21344	2.0±0.23355	1.7±0.15275
45	0.7778±0.14699	0.7778±0.22222	0.8182±0.22636	1.1±0.23333
FBN				
15	1.7778±0.2222	2.0±0.25820	2.3636±0.15212	2.0±0.21082
45	2.5556±0.17568	2.6667±0.16667	2.5455±0.16746	2.6±0.16330
OPN				
15	1.8889±0.26058	2.4±0.16330	1.6364±0.24393	2.5±0.26874
45	1.7778±0.22222	1.6667±0.16667	1.4545±0.15746	1.5±0.16667
OC				
15	1.3333±0.16667	1.5±0.16667	1.3636±0.15212	1.5±0.16667
45	0.3333±0.16667	0.2222±0.14699	0.2727±0.14084	0.3±0.15275
VEGF				
15	1.5556±0.24216	1.4±0.16330	1.3636±0.20328	1.0±0.25820
45	0.4444±0.24216	0.3333±0.16667	0.5455±0.15746	0.4±0.16330

**Tablo 10.** İmmunohistokimyasal boyamaların her bir zamanda ayrı sıra sayı ortalamasının gruplara göre karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis sonuçları

Boya/Zaman	Gruplar				Anlamlılık
HE	KON	ZOL	İLO	ZOL+İLO	P
15	23.94a	11.05b	25.59a	21.25a	0.013
45	23.33a	7.67b	26.5a	20.95a	0.00
ANG					
15	15.67	16.15	23.5	25.90	0.08
45	20.56	16.94	23.27	18.65	0.48
ALP					
15	12.17c	17.5bc	23.05ab	28.2a	0.009
45	24.28	17	18.14	20.9	0.394
Kollojen IV					
15	17.17	19.75	24.14	20.25	0.523
45	18.83	18.56	19.05	23.4	0.679
FBN					
15	16.28	19.8	25.32	19.7	0.277
45	19.33	21.5	19.14	20.2	0.951
OPN					
15	17.56ab	24.3a	14.32b	26.15a	0.47
45	22.89	21.67	17.64	18.5	0.602
OC					
15	18.67	22.0	19.27	22.0	0.822
45	21	18.83	19.82	20.35	0.962
VEGF					
15	23.17	21.5	21.36	16.15	0.491
45	19.22	18.33	22.36	19.6	0.808

**Tablo 11.** İmmunohistokimyasal boyamaların 15. ve 45. günlerdeki gruplara göre sıra sayı ortalamaları üzerinde zamanların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U sonuçları

HE	GRUP	SIRA SAYI ORTALAMASI	P
KON	15	7.17a	0.039
	45	11.83b	
ZOL	15	8.05a	0.064
	45	12.17a	
İLO	15	8.45b	0.016
	45	14.55a	
ZOL+İLO	15	8.25a	0.066
	45	12.75a	
ALP	GRUP	SIRA SAYI ORTALAMASI	P
KON	15	5.11b	0.000
	45	13.89a	
ZOL	15	7.45b	0.028
	45	12.83a	
İLO	15	8.41b	0.013
	45	14.59a	
ZOL+İLO	15	8.3a	0.058
	45	12.7a	
ANG	GRUP	SIRA SAYI ORTALAMASI	P
KON	15	11.89a	0.038
	45	7.11b	
ZOL	15	12.75a	0.014
	45	6.94b	
İLO	15	15.91a	0.001
	45	7.09b	
ZOL+İLO	15	15.3a	0.000
	45	5.7b	
KOLLOJEN	GRUP	SIRA SAYI ORTALAMASI	P
KON	15	12.06a	0.015
	45	6.94b	
ZOL	15	12.75a	0.012
	45	6.94b	
İLO	15	15.32a	0.004
	45	7.68b	
ZOL+İLO	15	12.8a	0.054
	45	8.2a	

FBN	GRUP	SIRA SAYI ORTALAMASI	P
KON	15	6.82b	0.020
	45	12.17a	
ZOL	15	7.9a	0.062
	45	12.83a	
İLO	15	10.5a	0.403
	45	12.5a	
ZOL+İLO	15	8.1b	0.044
	45	12.9a	
OPN	GRUP	SIRA SAYI ORTALAMASI	P
KON	15	9.83a	0.772
	45	9.17a	
ZOL	15	12.7a	0.010
	45	7b	
İLO	15	11.95a	0.712
	45	11.05a	
ZOL+İLO	15	13.75a	0.009
	45	7.25b	
OC	GRUP	SIRA SAYI ORTALAMASI	P
KON	15	13a	0.002
	45	6b	
ZOL	15	14a	0.001
	45	5.56b	
İLO	15	16.05a	0.000
	45	6.95b	
ZOL+İLO	15	14.75a	0.001
	45	6.25b	
VEGF	GRUP	SIRA SAYI ORTALAMASI	P
KON	15	12.72a	0.007
	45	6.28b	
ZOL	15	13.6a	0.001
	45	6b	
İLO	15	14.86a	0.008
	45	8.14b	
ZOL+İLO	15	12.6a	0.084
	45	8.4a	



#### 4.6. Canlı ağırlık bulguları

Canlı ağırlık özelliği bakımından yapılan varyans analizi sonucunda grup - işlem zamanı uygulamaları (15.gün ve 45.gün) - dönem interaksiyonun ortak etkisi istatistik olarak anlamlı değildir (tablo-12).Fakat tüm ikili interaksiyonlar yani işlem zamanı uygulaması- grup, işlem zamanı uygulaması - dönem ve dönem-grup ikili interaksiyonları istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ ). Dolayısıyla işlem zamanı arasındaki farklılık irdelenirken her bir grup için ayrı ve yine her bir dönem için de ayrı ayrı incelenmektedir. Grupların ortalamaları arasındaki farklılıklar irdelenirken de her bir dönem için ayrı ve yine her bir işlem zamanı uygulaması için de ayrı ayrı irdelenmektedir. Son olarak dönemlerin ortalamaları arasındaki farklılıklar irdelenirken her bir işlem zamanı uygulaması için ayrı ve yine her bir grup için de ayrı ayrı irdelenmelidir. Nitekim Tukey testi de bu esasa göre yapılarak farklılıklar ortalamalar üzerinde latin harfleri ile gösterilmiştir.

**Tablo 12.** Grup-uygulama zamanı- dönem interaksiyonuna ilişkin alt grup ortalamaları

Grup	Uygulama zamanı	Dönem		
		Deney başlangıcı	Operasyon günü	Deney sonu
KON	15	362.78±7.85	418.22±12.05	446.56±12.32
	45	345.22±7.85	399.67±12.05	452±12.32
ZOL	15	375.3±7.44	427.2±11.43	435.4±11.69
	45	343.44±7.85	413.44±12.05	447±12.32
İLO	15	387.18±7.1	442.55±10.9	461.18±11.15
	45	334.26±7.1	419.91±10.9	457±11.15
ZOL+İLO	15	350.2±7.44	430.7±11.43	432.4±11.69
	45	364.2±7.44	441.4±11.43	484.5±11.69

**Tablo 13.** Grup - uygulama zamanı interaksyonuna ilişkin alt grup ortalamaları

Grup	Uygulama Zamanı	
	15.gün	45.gün
KON	409.16±9.94 Aa*	398.96±9.94 Aa
ZOL	412.63±9.94 Aa	401.3±9.94 Aa
İLO	430.30±8.99 Aa	403.76±8.99 Ab
ZOL+İLO	404.43±9.43 Ab	430.03±9.43 Aa

\*Küçük harfler her bir grupta zamanlar arası farklılığı, büyük harfler her bir zamanda gruplar arası farklılığı göstermektedir.

Tablo 13 incelendiğinde;

KON grubunda ve ZOL grubunda işlem uygulama zamanları arasında istatistik olarak önemli bir farklılık bulunmazken İLO Grubunda 15.gün işlem görmüş hayvanların daha ağır olduğu ve istatistik olarak bu farkın önemli olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ). Bu durum ZOL+İLO grubunda tersine dönmüş olup 45.gün daha ağır olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ). Ancak operasyon sonrası 15.günde ve 45.günde de canlı ağırlık bakımından gruplar arasındaki farklılığın istatistik olarak önemli olmadığı görülmüştür ( $p=0.406>0.05$ ).

**Tablo 14.** Grup-dönem interaksyonuna ilişkin alt grup ortalamaları

Grup	Dönem		
	Deney başlangıç	Operasyon	Deney sonu
KON	354±5.55 Ca*	408.94±8.52 Bb	449.28±8.71 Aa
ZOL	359.72±5.41 Ca	420.32±8.3 Bab	441.2±8.49 Aa
İLO	360.77±5.02 Ca	431.23±7.71 Bab	459.09±7.88 Aa
ZOL+İLO	357.2±5.26 Ca	436.05±8.08 Ba	458.45±8.27 Aa

\*Küçük harfler her bir haftada gruplar arası farklılığı, büyük harfler her bir grupta haftalar arası farklılığı göstermektedir.

Tablo 14 incelendiğinde;

Her bir grup ile işlem uygulama zamanı alt grubu dönem faktörü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır. İşlem zamanı ilerledikçe hayvanların canlı ağırlıkları önemli bir şekilde artış göstermektedir ( $p<0.05$ ). Deney başlangıcında gruplar arasındaki farklılık istatistik olarak önemli değilken, operasyon zamanında sadece zol+ilo ortalaması kontrol grubundan istatistik olarak önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Deney sonunda ise yine grupların ortalamaları arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir.

**Tablo 15.** Uygulama zamanı-dönem interaksiyonuna ilişkin alt grup ortalamaları

Uygulama zamanı	Dönem		
	Deney başlangıç	Operasyon	Deney sonu
15.gün	368.87±3.73 Ca*	429.67±5.73 Ba	443.88±5.86 Ab
45.gün	346.81± 3.78 Cb	418.61±5.80 Ba	460.13±5.94 Aa

\*Küçük harfler her bir dönemde uygulama zamanları arası farklılığı, büyük harfler her bir uygulama zamanında dönemler arası farklılığı göstermektedir.

Tablo 15 incelendiğinde;

Her bir işlem uygulama zamanı ile uygulama dönem haftası arasında interaksiyon etkisi istatistik olarak önemli bulunmaktadır ( $p<0.05$ ). Deney başlangıç döneminde postoperatif 15.gün sakrifiye edilmiş hayvanların canlı ağırlıkları 45.gün sakrifiye edilmişlere göre daha fazla iken deney sonu döneminde tam tersi bir durum söz konusudur. İşlem dönemi ilerledikçe uygulama zamanına göre canlı hayvan ağırlıklarında önemli bir şekilde artış göstermektedir ( $p<0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

İÇKON konusunda 2014 yılında AAOMS'un tanımlamasından beri PubMed taramasında 67 makale bulunmaktadır. Bu yayınların çoğunluğu derleme niteliğinde olup amaçları İÇKONun etyolojisini, patofizyolojisini anlamak ve tedavisine yönelik teorileri değerlendirmektir (194,195). Birkaçında ise tedaviye yönelik PRGF kullanımı (196),topikal minosiklin uygulaması (197), lazer kullanımı (198,199), bukkal yağ dokusu saplı flep kaydırma (200) gibi minimal invazivden agresif terapilere kadar uzanan yayınlar mevcuttur. Fakat bu tedavi stratejileri ve patofizyolojiye yönelik tanımlaması muhakkak ki daha önce tanımlanmış olan BİÇO için yapılan çalışmalar bir ön belirleyici oluşmuştur.

Bifosfonatların sert dokudaki ve özellikle osteoklast aktivitesinin inhibisyonundaki etkilerini inceleyen birçok çalışma mevcuttur (201). Ancak bifosfonatların kendi başına veya antianjiyojenik ajanlarla birlikte kullanılarak yumuşak dokuda meydana getirdiği değişimler için yakın zamanda literatüre yayınlar ulaşmaya başlamıştır (130). Bifosfonatların antirezorptif etkisinin yanında antianjiyojenik özelliği bilinmektedir (27). Yine ana etki mekanizması antianjiyojenik aktiviteleri olan bevasizumab, sunitinib, sorafenib gibi ajanların İÇKON için etkinliği bilinmektedir (70). Bu çalışma ile bifosfonatların hem sert doku hem de kemik dokudaki etkilerini anlamak adına, sert ve yumuşak dokudaki anjiogenezise olumsuz etkilerini anjiyojenik İloprost ile tedavi etmek amaçlı birçok parametre eşliğinde immunohistokimyasal olarak incelemiştir. Yapılan literatür araştırmalarında benzer çalışmalara rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmanın ilerideki çalışmalara öncü bir çalışma olduğunu düşünmekteyiz.

### 5.1. Deney hayvanı seçimi

In vivo modellerde, büyük hayvanların daha çok kemik için yapılan biyomekanik testler ya da yeni bir cihaz tasarlanmasında; küçük hayvanların ise sert ve yumuşak doku iyileşme mekanizmaları ve genetik alanlarında kullanılması önerilmektedir (202). Bugüne kadar köpek, koyun, domuz, maymun ve tavşan modelleri üzerinde çalışmalar yapılmış olsa da, büyük hayvanlar pahalı olmaları,

bakımlarının zor olması gibi birçok dezavantaja sahiptir. Tek bir hayvan modelinin ideal olmasını beklemek yerine, çalışmanın amacına yönelik uygun modelin seçilmesi daha doğru bir yaklaşım olacaktır. Medikal araştırmalarda en yaygın kullanılan türlerden biri sıçanlardır (203). Yapılan bu çalışmada, temin edilebilme, barındırma ve besleme kolaylığı olması, ucuz olması, büyük hayvanlara göre daha kolay müdahaleye imkân tanınması, daha fazla örnek alınabilme imkânı sunması, fizyolojileri hakkında yeterli kaynak bulunması ve enfeksiyona olan dirençleri gibi avantajları nedeniyle, sıçan modeli kullanıldı (204).

Dişilerin hormonal farklılıklara bağlı olarak stabil olmayan metabolizmaları ve İÇKON olgularının genellikle yetişkin veya yaşlı valarada görülmeleri nedeniyle de 12 haftalık erkek sıçan kullanılmıştır.

## **5.2. Diş çekimi**

Çene kemiklerinde osteonekrozun bifosfonatlara bağlı gelişme insidansı da yaş, cinsiyet dental cerrahi veya travma olup olmamasına, bifosfonatların verilme şekline, dozun, çeşidine ve maruz kalma süresine göre değişmektedir (205). Yakın zamandaki literatüre göre İÇKON vakalarının %94ü IV formda, %6si ise oral formda oral bifosfonat tedavisi almaktadır (180). Avrupadaki 470 İÇKON vakasıyla yapılan bir çokmerkezli çalışmada osteonekroz vakalarının 37sinin oral kullanımına bağlı olduğu rapor edilmiştir (%7.8). Amerikan Oral ve Maksiyofasiyal Cerrahi Derneği (AAOMS)da tanımlı olan İÇKON risk faktörlerinin hiçbirisi bu vakalarda mevcut değildi (206). Avusturalyada 114 bifosfonata bağlı osteonekroz vakasının %73'ü diş çekimi sonrası gerçekteşmiştir. Osteoporoz hastalarında görölme sıklığı %0.01-%0.04 iken aynı hastalarda diş çekimi sonrası insidans %0.09-%0.34 olmuştur. Pazianas ve arkadaşlarına göre İÇKON riski çene cerrahileri sonrası 4 kat artmaktadır (207). Kemik malignitesine sahip hastalarda insidans %0.33-%1.15 iken diş çekimi sonrası insidans %6.7-%9.1 olmuştur (208).

Yine bifosfonatlara bağlı çene kemiklerinde osteonekroz görölme için bifosfonatların tipine bağlı olarak maruz kalınan süre 1.6 ile 4.7 yıl arasında değişmektedir(209). Bamias ve arkadaşlarına göre 4-12 ay arasında bifosfonat verilen kanser hastalarında İÇKON insidansı %1.5 iken 37-48 ay arasında bifosfonat alan hastalarda insidansı %7.7'dir. Yakınlardaki çalışmalarda osteoporoz için

kullanılan denosumaba bağı osteonekroz insidansı yılda 100000 hastada 0-30.2 olarak belirtilmiştir (210-213). Ama kanser hastalarında kullanılan denosumab yüzünden İÇKON insidansı %2.3 e kadar çıkmaktadır (214-216).

Bu bilgilere göre İÇKON insidansının düşük olmasına rağmen oluşan lezyonlar hekimleri zorlamaktadır. Ama yine de lezyonların gelişiminde majör etken olarak diş çekimi görülmektedir (105, 209). İÇKON görülmesi de bifosfonatların çene kemiklerinde etkinliği ve lezyon görülme olasılığını artırdığı aşikârdır. Bu yüzden çalışmamızda ratlara bifosfonat verirken insidans düşüklüğü nedeniyle osteonekroz modeli oluşturmayı planlamayıp yine etken oluşturmak adına diş çekimi planladık. Yine yakın zamandaki çalışmalara göre alt çenede İÇKON görülme insidansı %73 iken üst çene tutulumu %22 olduğu için çekimlerin alt çenede yapılması daha uygun bulundu. Hemimandibuladaki tüm molar dişler yerine 1 diş çekilmesi patoloğun yeterli kesit alabilmesi açısından uygun bulunduğu için yalnızca 1 molar diş çekildi. Literatürde benzer olarak Kuroshima ve ark. sıçanlarda 1.molar dişin çekimi sonrası PTH alınmasının diş çekim socketinin iyileşmesine etkisini araştırmışlardır (217).

### **5.3. ZOL uygulaması**

#### **5.3.1. Uygulama şekli**

Zoledronat gibi güçlü bifosfonatlar yarılanma ömürlerinin uzunluğu ve etkilerini uzun süre koruyabilmeleri nedeniyle i.v. olarak verildiklerinde doz tekrarına ihtiyaç duyulmamaktadır. Zoledronat vücuda i.v. veya subkutan olarak uygulanmaktadır. Klinik kullanımı daha çok i.v. olan bu preparat (218), hayvan deneylerinde de aynı yolla kullanılabilir (219, 220). Yalnızca subkutan olarak (221) veya intraperitoner (222) uygulanan hayvan deneylerinin dışında i.v. ve subkutan uygulamaların birbiri ile kıyaslandığı çalışmalar da mevcuttur (223, 224). Bir çalışmada bifosfonat lokal olarak uygulanmıştır (225). Hayvan çalışmalarında subkutan teknik oldukça pratik olduğundan (226) çalışmamızda bu tekniği kullandık.

#### **5.3.2. Dozu ve uygulama zaman aralığı**

Hayvan deneylerinde ZOL uygulamalarının dozajları ile alakalı oldukça farklı yayınlar mevcuttur. Sonis ve ark. 0.075 mg/kg SC uygularken 0.1mg/kg IP (227,228), 0.25mg/kg SC (221), 0.125mg/kg IP (222) 0.04mg/kg IV (229),

0.035mg/kg IV (2190.6mg/kg IP (230), 0.075mg/kg SC (231), 0.066mg/kg IP (232), 0.02mg/kg IV (220), 0.08mg/kg IV (223) gibi ZOL uygulamala dozları mevcuttur. Ortalama insan vücudunun 55-60 kg olduğu dikkate alınarak ortalama dozun her 4 haftalık periyotta 70 µg/kg olduğu belirlenmiştir. Hokugo ve ark.'ın, sıçan üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada 2 haftalık zaman aralıkları ile 35 µg/kg dozda ZOL uygulaması ile toplam dozun insan ile eşdeğer olmasını sağlamıştır. Bu sebeple çalışmamız için ZOL insan eşdeğer dozu uygulaması açısından Hokugo'nun bu uygulama modeli alınmış ve 2 haftalık periyotlarla 35 µg/kg SC ZOL uygulaması yapılmıştır(219).

#### **5.4. İloprost uygulaması ve dozajı**

Birçok hastalıkta anjiojenik etkileri nedeniyle kullanılabilen iloprost Reynaud fenomeni gibi olgularda standart doz olarak 0.5-2µg/kg/dk olmak kaydı ile 8 saate kadar infüzyon yolu ile verilmektedir (233). İloprostun, periferik arter arter hastalığı (PATH), TAO veya Raynaud fenomeni gibi şiddetli periferik arter hastalıklarının farklı tiplerindeki tedavi etkinliği araştırılmıştır. Tüm bu endikasyonlarda terapötik etkinlik elde edilmiştir (234-236). Yapılmış olan klinik çalışmalarda 14–28 gün boyunca günlük infüzyonlar şeklinde uygulanan iloprost'un iskemik ülserlerin iyileşmesi ve istirahat ağrısının giderilmesinde plaseboya göre daha yararlı olduğu gösterilmiştir (237, 238). İloprost'un, infüzyon bitiminden sonra 5 ila 30 dakikalık yarılanma ömrüyle plazma düzeylerinde hızlı bifazik düşüş gözlenir. Ortaya çıkan yan etkiler 10–15 dakika içinde ortadan kaybolur. İloprost'un erkek ve kadınlardaki plazma düzeyi profilleri benzerdir. Bu durum cinsiyetin iloprost farmakokinetiğini etkilemediğini gösterir (239). İloprost'un etkileri trombosit, lökosit aktivitesinin inhibisyonu, vazodilatasyon ve endotel korunması olarak özetlenebilir. Bu etkileri yönüyle özellikle vazodilatasyon etkisinin güçlü olması çoğu yan etkilerden sorumlu olabilir (240, 241). Vazodilatasyon ve aynı zamanda trombosit agregasyonu inhibisyonunun başladığı en düşük infüzyon hızının 0,5 ng/kg/dk. düzeyinde olduğu gösterilmiştir. Yüksek iloprost dozlarının etkiyi arttırmadığı rapor edilmiştir (242, 243). 0,5 – 2,0 ng/kg/dk dozundan daha yüksek dozlarda vazodilatasyonun artmasına bağlı olarak muhtemelen kanın ciltten kas dokusuna doğru kaçması (steal fenomeni) sonucu terapötik etki daha fazla artmaz. Antiplatelet ve diğer olumlu etkilerinin azalmasına neden olur. Koroner yetmezliği bulunan hastalarda iloprost'un yüksek

dozlarda (2,0 – 6,0 ng/kg/dk) koroner dolaşımdan çalmaya neden olduğu bildirilmiştir (244, 245). Burada iloprost infüzyon dozu arttırılarak tolere edilen en yüksek dozun değil, optimum dozun hedef alınması gerekliliği sonucuna varılmıştır.

Çocuklarda kanser yüzünden kemoterapi sonrası osteonekroz vakalarında iloprostun 0.5ng/kg/dk,0.75ng/kg/dk ve 1ng/kg/dk dozlarda günlük 1.1-6.8 saat infüzyonla verildiği bir çalışmada bu vakalarda da günlük alım dozu 1.8 -4.2µg/kg aralığında olmuştur(10). Optimum doz olarak ise ratlarda yapılan çalışmalarda infüzyon uygulamanın güçlüğü nedeniyle intraperitoner uygulama tercih edilen yayımlar mevcuttur (8, 246, 247). Dogan ve ark. fraktür iyileşmesinde 10µg/kg günlük dozajda 5 gün boyunca intraperitoner olarak iloprost uygulamışlardır (8). Karatepe ve ark. iskemik kolit modelli ratlarda iloprostu 2µg/kg infüzyon ile uygulamışlardır (246). Vasiliadis ve ark. nin anastomozlar için yaptığı çalışmadaki günlük 2µg/kg intraperitoner uygulama modeli (247) örnek alınarak çalışmamızda iloprostun uygun rat dozu olarak belirlenmiştir.

### **5.5. Hayvanların canlı ağırlıklarının zamana bağlı değişimi**

Gruplar arasında hayvan ağırlıkları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaması hayvanların homojen bir şekilde dağıldığını göstermektedir. Deney başlangıcı, operasyon süreci ve deney sonu değerlendirildiğinde ise İLO verilen gruptaki hayvan ağırlıklarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselişi İLOnun anjiogenezis etkisinin hayvanlar üzerinde etkilerinin kilo almayı arttırdığını, ZOL grubundaki hayvanlardaki kilo artışının ise diğer gruplara göre daha az olması ise ZOL ün kilo artışını negatif etkilediğini vurgulamaktadır. Fakat her grubu incelediğimizde hayvanlarda postoperatif herhangi bir kilo kaybı görülmemiştir. 45. Gün sakrifiye edilmiş hayvanların deney başlangıç kiloları genel olarak 15.gün sakrifiye edilmiş olanlara göre daha düşük olsa da kilo artış hızının 15.günden sonra istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artışı hayvanların yaralarının iyileşmesinin 15.günde tamamlandığını göstermektedir ve bu bulgu Yamashita ve ark. sıçanlarda palatal mukoza iyileşmesi için 15 gün yeterli olduğunu destekler niteliktedir (248). Yine 45.gün sonuna kadar geçen 1 aylık periyotta hayvanların kilo artış hızının yükselmiş olduğu görülmüştür. Bu da hayvanların derlenme evresini geçirmiş olduklarını teyit etmektedir.



## 5.6. İÇKON için kullanılan bazı belirteçlerin incelemesi

Kemik döngüsündeki aşırı baskılamamanın İÇKON oluşması ile alakalı olduğu düşünülmektedir ve kemik döngüsünde kullanılan CTX( C-terminal telopeptid) belirleyicisinin İÇKON için de kullanılması adına birçok çalışma mevcuttur (249, 250). Kunchur ve arkadaşlarının yayınladığı bir raporda, 150'nin altındaki CTX değerinin klinik risk faktörleri olan yaş, cinsiyet, komorbiditeler, kemik hastalıkları ve bifosfonata maruz kalma süresi ile uyumlu olmadığı ayrıca CTX değerlerinin 150-200 değerlerinden küçük olmasının herhangi bir risk bölgesi ifade etmediği söylemektedirler (Şekil 10).

C-terminal çapraz bağlı telopeptit (CTX) değeri	Osteonekroz riski
≥150 pg/mL	Yok
126–149 pg/mL	Minimal
100–125 pg/mL	Orta
<100 pg/mL	Yüksek

Şekil 10. CTX ve osteonekroz riski (249)

İÇKON görülmüş hastaların ilk CTX değerlerinin zaten 200'ün altında olması bunun nedeni olarak düşünülmüştür (251). Kim ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada 37 İÇKON hastası 24 aydan uzun süre bifosfonata maruz kalmasına rağmen İÇKONu bulunmayan cinsiyet eşleşmeli 37 kontrol hastası ile kıyaslanmıştır. Vaka ve kontrol grupları arasında Osteokalsin, DPD(deoksipiridinolin), NTX( N-terminal telopeptid), kemik-spesifik alkalen fosfataz ve CTX değerleri açısından anlamlı bir sonuç bulunmamıştır. Bu sonuçlar, İÇKON riskini değerlendirmek için kemik döngüsü markerlarını kullanmanın yanlış olacağını düşündürmektedir (252). Ayrıca CTX kemik döngüsü belirteçlerini kullanmanın bir takım limitasyonları mevcuttur. İlk olarak sistemik olan bu belirteçler maksilla ve mandibulada mevcut kemik durumuna yeterince aksettirilemez. İkincisi kanser hastalarında metastaz bulunması, CTX değerlerini etkilemektedir. Bu sebeple CTX değerlerini metastazın

mı BPların mı etkilediği öngörülemezdir (253). Üçüncü olarak ise, osteoporoz hastalarının BP tedavisi öncesi yüksek oranda baskılanmış bir kemik remodelling metabolizmasına sahip olmasıdır (254). Günümüze kadar İÇKON riskini belirlemede herhangi bir kemik rezorpsiyon belirteci kullanılması etkili olamamıştır (70).

Tüm bu sebeplerden çalışmamızda CTX ve NTX değerlerine kemik iyileşme belirteci olarak anlamlı sonuçlar doğurmayacağından yer verilmemiştir.

### **5.7. Histopatoloji incelemesi**

Bi ve ark., ZOL, steroid ve kemoterapötik ilaç uygulayarak diş çekimi yaptıkları in vivo çalışmada uygulanan üç ilaç çeşidi içinde ZOL'un osteonekroz açısından en etkin ajan olduğunu ve yumuşak doku iyileşmesini geciktirdiğini rapor etmiştir (222). Kobayashi ve ark., ZOL uyguladıkları sıçanlarda diş çekimi sonrası yumuşak doku ve kemik iyileşmesini araştırdıkları çalışmada, ZOLun kemik iyileşmesini ve anjiogenezisi olumsuz etkileyerek yara iyileşmesini geciktirdiğini belirtmiştir (221). Yamashita ve ark. sıçanlarda travmatik diş çekiminin zorluğundan kaynaklı palatinal mukozayı mukoperiosteal seviyede kazıyarak kemik ve yumuşak doku iyileşmesine bifosfonatların etkisini inceledikleri çalışmalarında 2.hafta sonunda yumuşak doku oluşumunun istenilen düzeye geri döndüğünü belirtmişlerdir (248). Çalışmamızdaki iyileşme süreci Yamashita ve ark.'ın çalışması ile uyumlu gerçekleşmiştir (248). Çalışmanın 15 günlük bölümünde tüm gruplarda enfekte olmayan olgularda epitelizasyonun tamamen şekillendiği, normal görünümdeki gingival mukozanın diş çekim alanını tamamen örttüğü gözlemlendi. Yine ilk 15 günlük periyotta kemik trabeküllerinin gelişimi KON ve İLO gruplarında en yoğun gözlenirken en az kemik gelişiminin ZOL grubunda olması ZOL'un kemik oluşumundaki inhibitör etkilerini destekler niteliktedir.

Sonis ve ark. sıçanlarda maksiller ve mandibular tüm molar dişlerin çekilmesinden önce zoledronik asit ve deksametazon uyguladıkları ve yumuşak ve sert dokudaki iyileşmeyi kontrol ettikleri çalışmalarında kontrol gruplarında 14günde mukoza bütünlüğü sağlanırken ZOL verdikleri gruplarda mukoza bütünlüğünün 28.güne kadar korunamadığını tespit etmiştir (255). Kontrol gruplarında ise kemik iyileşmesinin 28.günde histopatolojik ve radyolojik olarak saptanabildiğini tespit etmişlerdir. Tam iyileşme süreci açısından 45-60 gün geçmesini savunan çalışmalar

da mevcuttur (228). Çalışmamızda diş çekimi sonrası 45.gün sakrifiye edilen grupları bu sebeple seçtik. Bu çalışmalarla benzer nitelikte çalışmamızda da 45.günlük periyottaki sıçanların diş çekimi sonrası iyileşme düzeylerinde KON ve İLO gruplarında beklenen iyileşmenin ve kemik gelişiminin şekillendiği ancak ZOL grubunda yavaşlayan iyileşme içinde bulunan kemik trabeküllerinin küçük ve sayıca az olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca ZOL'ün iyileşmeyi yavaşlatıcı etkisini İLO tedavisi seçeneği ile normale döndürülebileceği ZOL+İLO grubunda çekim alanını doldurmuş kemik gelişimini ve tam şekillenmiş epitelizasyonu göz önünde bulundurarak öngörülebilir (Resim 2).

İstatistiksel verileri incelediğimizde de KON ve İLO gruplarında Histopatolojik verilerde 45.günde 15.günlere nazaran istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkan sonuçlar iyileşmenin varlığını doğrulamaktadır. Yine aynı şekilde ZOL grupları arasında postoperatif 15. ve 45. günler arasında anlamlı bir fark çıkmaması iyileşmenin yavaşladığını göstermektedir. ZOL+İLO grubunda 15. ve 45. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış olsa da histopatolojik kesitlerde 45.günde daha fazla yeni kemik yapımı ve epitelizasyonun bütünlüğü izlenmektedir.

## **5.8. İmmünohistokimyasal inceleme**

### **5.8.1. Alkalen fosfataz**

Alkalen fosfataz, nükleotid, protein ve alkaloidleri de içeren birçok molekül tipinden fosfat grubunu kaldırarak çalışan bir hidrolitik enzimdir. Fosfat grubunun kaldırılmasına defosforilizasyon adı verilmektedir. İsminden de anlaşılacağı üzere, alkalen fosfataz, ortamda alkalik varlığında en etkili duruma geçer. Basit fosfataz terimiyle de eş anlamlı olarak kullanılabilir (256).

#### **5.8.1.1. Kemik alkalen fosfataz**

Alkalen fosfatazın kemik spesifik izoenzimi olan bone alkaline phosphatase (B-ALP) osteoblast membranına yerleşik bir protein olup osteoblast aktivasyonu varsa dolaşıma salınır. BAP' in ölçümü kemik dışı patolojilerden daha az etkilenir ve kemik oluşumunu değerlendirmede iyi bir belirteçdir. Osteoporoz tanısı için osteoblastlardan kaynaklanan bu enzim fraksiyonunu ölçmek gereklidir. 13 ile 17

yaşları arasındaki çocuklarda total alkalen fosfataz düzeyinin %87'sinin kemik izoenzimine, %8.5'unun karaciğer izoenzimine, %1.5'unun barsak fraksiyonuna ait olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla serum total alkalen fosfataz düzeyleri eğer karaciğer-safra bozuklukları dışlanabilirse sadece kemik yapımının bir indeksi olarak da kullanılabilir (257).

Kemik yapımının arttığı durumlarda, bir başka deyişle osteoblastik aktivitenin arttığı durumlarda (Paget Hastalığı, primer veya sekonder kemik tümörleri, primer hiperparatiroidi, hipertiroidi, kırıklar, çocukların hızlı büyüme dönemlerinde) serum ALP düzeyi artmaktadır (258, 259).

Diş çekim sonrası osteoblastların osteoid madde yapımına başlaması ve ortamın alkelenmesi sonucu osteoblastların alkalen fosfataz yapımı indüklenmektedir (18). Buna bağlı olarak ALP seviyesi artışı beklenmelidir. ALP seviyesindeki artış kemik döngüsünün hızlandığını göstermektedir ve öncül osteoblast diferansiyasyonu ile ilişkilidir (260). Bizim çalışmamızda tüm gruplarda 15.günde bağdokuda hafif şiddetteki ALP seviyelerinin 45.günde artması ve yeni şekillenen kemik trabeküllerinde de ALP immunoreaksiyonlarının gözlenmesi yeni kemik yapımını doğrular niteliktedir.

Sánchez-Sánchez ve ark., osteogenesis imperfekta(OI) hastalarında zoledronik asidin ALP seviyelerinde değişim yapmadığını tespit etmiştir (261). Patel ve ark., multiple myelom hastalarında bifosfonat tedavisi sonrası B-ALP seviyesinde artışın kemik iyileşmesi ile alakalı olarak osteoblast aktivitesi sonucu olduğunu düşünmektedir (262). Kemper ve ark., avasküler osteonekroz ve kemik iliği ödemi ağrılarında kullanılan bir NSAİD olan İndometazin osteoblast baskılayıcı etkilerini gidermek için osteoblast-koruyucu potansiyeli görülen İloprostun kullandıkları çalışmalarında, iloprostun osteoblast diferensiyasyonunu artırarak B-ALP değerlerini artırdığını göstermiştir (263). Literatür ile benzer şekilde, bu çalışmadaki verilere göre de kontrol grubu ile kıyaslandığında ZOL uygulaması ALP değerleri üzerinde anlamlı bir değişiklik yapmamış iken, İLO verilen gruplarda ALP değerlerinin arttığı gözlenmektedir. Bu değerlere göre iloprostun kemik yapımı üzerinde olumlu etkileri olduğu söylenebilir.

### 5.8.2. Anjiogenin

ANG başlıca anjiogenezin çeşitli basamaklarında görev alır ve bu ön planda yara iyileşmesi açısından önemlidir (264). ANG'nin anjiyogeneziste etkisi 4 yolla olmaktadır: Ribonükleaz aktivitesi, bazal membran degradasyonu, sinyal iletimi ve nükleer translokasyon (265).

ANG'in endotel hücrelerine bağlanmasıyla endotel hücreleri çevrelerini saran dokunun içine doğru invazyon gösterir ve anjiogenik stimülasyon kaynağına doğru migrayona başlar. Bu esnada yeni damar yapısını oluşturmak üzere ANG proliferasyonuna uğrar (266).

ANG, arteryel düz kas hücrelerinin de proliferasyonuna yardımcı olur. Nükleustaki ANG aktivitesi endotel hücre proliferasyonunda anahtar rollerden birini oynar ve asidik fibroblast büyüme faktörü(aFGF), bazik fibroblast büyüme faktörü(bFGF) ve VEGF gibi diğer anjiogenik faktörlerin fonksiyonu için gereklidir (265).

ANG ekspresyonunun birçok değişik kanser çeşidinde arttığı görülmüştür. Serum ANG düzeyinin tümör büyümesi, progresyonu, tümör agresifliği ve kötü prognoz ile yakından ilişkili olduğu saptanmıştır (267).

Zoledronik asidin kemik hemostazındaki etkinliği ve antianjiogenik etkileri (268) bilinmesine karşın literatürde ZOL ile yapılan çalışmalarda ANG düzeyleri ile ilgili bir yayın saptanamamıştır. Yine aynı şekilde İloprostun anjiogenik etkinliğine dair birçok yayın (246, 269, 270) mevcut olsa da ANG düzeyi etkisine ilişkin bir yayın bulunmamaktadır.

Bu çalışmada postoperatif 15.gün gerçekleşen hafif pozitif ANG immünoreaksiyonu 45.günde daha da azalmıştır. İstatistiksel olarak da tüm gruplardaki 15.gün verileri 45.gün verilerinden fazla saptanmıştır ve anjiogeninin etkilerinin azaldığı görülmektedir. Gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmayışı ZOL ve İLO nun ANG üzerinde etkisinin bulunmadığı sonucunu doğrulamaktadır. İstatistiksel olarak bir anlam bulunmasa da veriler incelendiğinde İLO'nun verilerinin genel olarak ANG düzeylerinde daha fazla olduğu

görülmektedir. Bu durumun ise yine İLO'nun anjiojenik aktiviteyi stimule edici etkisinden kaynaklandığı yorumu yapılabilir.

### **5.8.3.Kollojen IV**

Bazal membranlar, oldukça kompleks yapıda yaklaşık 50 adet glikoprotein dizisinden meydana gelirler (271). Tip 4 kollojen, laminin ile birlikte, hücre adezyonunda, migrasyonunda, büyümesinde önemli bir rol oynar (272). Tip 4 kollojen, fizyolojik ve patolojik olaylar sonucu bozulabilir (271). Tip 4 kollojenin bozulması, anjiyogenezde (273), doku remodelasyonunda ve kanser gelişiminde önemli rol oynar (274, 275). Anjiyogenezis sırasında, bazal membran tip 4 kollojenin önemi, GPA 1734, D609, cis-hidroksiprolin ve B-aminopropionitrit gibi inhibitörlerin kullanıldığı çalışmalarda, kollojen biyosentezinin inhibisyonu, endotelial tüp formasyonunun engellenmesi ve tümöral gelişimin artması gibi sonuçlar sonrasında görülmüştür (271).

#### **5.8.3.1.Yara iyileşmesi açısından kollojen IV**

Tip 4 kollojenin yara dokusu üzerindeki iyileşmesi bir çalışmada şöyle vurgulanmıştır: Araştırmacılar 62 insan cildi yaralanmasını, kollojen tip 4'ün bazal membrandaki lokasyonunu immünohistokimyasal analiz ile incelemişlerdir (276). Epitelial BMZ (bazal membran zonu) fragmanları yara bölgesinde henüz 4. gündeyken tespit edilmiş, 8 gün sonra epitelial BMZ en erken tam iyileşme dokusunda görülmüş olup, 21 gün sonunda ise tamamiyle lezyon bölgesini örttüğünü kaydetmişlerdir. (276, 277).

ZOL'ün kemik metabolizmasında etkili belirteçlerinden olan kollojen tip 1'in N-terminal ve C-terminal telopeptidleri üzerinde birçok yayın mevcuttur (278, 279). Yumuşak doku iyileşmesinde önemli bir belirteç olan Kollojen 4 ile bifosfonatlara ilişkin bir yayın mevcut değildir. Larsson-Callerfelt ve ark. akciğer fibroblastları üzerinde kollojen ağlarına iloprostun etkilerini araştırdıkları çalışmalarında iloprostun tip 1 kollojen sentezini ve fibroblast kontraktilesini düşürdüğünü fakat kollojen-ilişkin proteoglikanlara etki etmediklerini tespit etmişlerdir (280). Fakat literatürde iloprostun tip 4 kollojen üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışma da mevcut değildir.

Çalışmamızda kollojen IV incelendiğinde ise tüm gruplarda 15.günde immünopozitif yönde görülen reaksiyonlar 45. günde azalmaktadır. İstatistiksel olarak da KON, ZOL ve İLO gruplarında zaman içindeki azalma değerleri anlamlıdır. Zamanla kollojen IV'ün azalması yaraların iyileşmesiyle ilişkilendirilebilir. Gruplar arasındaki istatistiksel ve immunohistokimyasal olarak belirgin bir fark bulunmayışı kollojen IV üzerinde ZOL ve İLO'nun etkinliğinin olmadığını düşündürmektedir.

#### **5.8.4. Fibronektin**

Fibronektin, integrin olarak anılan membran proteinlerine bağlanan ekstrasellüler matriks glikoproteinidir. İntegrine benzer olarak fibronektin, kollojen, fibrin ve heparan sülfat proteoglikanları gibi ekstrasellüler matriks komponentler ihtiva eder (281).

Fibronektin üretimi, değişimi ve organizasyonundaki bozukluklar, fibrosis ve kanseri de içerebilen birçok patoloji ile ilişkilendirilebilir (282).

Fibronektin, hücre adezyonu, doğum, migrasyon ve diferansiyasyonunda, yara iyileşmesinde ve embriyojenik gelişimde önemli bir role sahiptir (281, 283, 284). Pıhtı oluşumunda fibrin ile birlikte işlev görür. Ekspoz olmuş bölgenin altındaki doku pıhtı formasyonu sayesinde korunur ve iyileşme prosesi başlar.

Fibronektin embriyoenez için de gerekli olup, ilgili genin inaktive olması erken ölü doğumlara neden olmaktadır (285). Fibronektin, embriyojenik gelişim sırasında hücre adezyonunda ve migrasyonda öncü proteinlerden olup; eksikliğinde mesodermal, nöral tüp ve vasküler gelişimde defektler söz konusu olur (286).

Fibronektin, insan tükürüğünde bulunur, oral kavite ve farinksin, kolonizasyon ile potansiyel patojenlerden temizlenmesine yardım eder (287).

Fibronektin yara iyileşmesinde, hücre migrasyonunda ve granülasyon dokusunun gelişiminde, konnektif dokunun yeniden sentezlenmesinde ve yeniden modellenmesinde temel etkilere sahiptir (288). Plazma fibronektin düzeyi, akut inflamasyon, cerrahi travma söz konusu ise ve yaygın damar içi pıhtılaşma(DIC) problemi bulunan hastalarda yüksektir (289). Fibronektin, embriyojenik ve yetişkin bireylerin ekstrasellüler matriksinde bulunur (290). Yara bölgesinde, yeni kollojen

fibrillerin oluşmasıyla yakından ilişkili olup, kollagenin depolanmasında fibroblastlara da yardım eder (291). Yara iyileşmesinde dermal rejenerasyonu ve granülasyon dokusunun maturasyonunu hızlandırmaktadır. Fibronektinin immünohistokimyasal saptanması deri lezyonlarının sınıflandırılmasında kullanışlı olmaktadır (276).

Literatürde fibronektinin zoledronik asit çalışmalarında kullanımına dair yeterince yayın mevcut değildir. Gallo ve ark. göğüs kanseri tedavisini araştırdıkları çalışmalarında mezenşimal kök hücrelerinin migrasyonun takibinden fibronektin kaplı membranlar kullanmıştır. Fakat bu çalışmalarında fibronektinin plazma düzeyleri yer almamaktadır (292). Insalaco ve ark., göğüs kanseri hücrelerinde zoledronik asidin antitümöral etkilerini ve anjiogenezisteki değişiklikleri araştırdıkları çalışmalarında hücre iskeleti komponenti olan fibronektinin zoledronik asidin etkisi ile artmasının proliferasyonu, invazyonu ve anjiogenezisi inhibe etmede önemli rolü olduğunu bulmuşlardır (293). Fibronektindeki bu artışın mRNA ekspresyonuna bağlı olarak gerçekleştiği saptanmıştır. İloprost ile fibronektinin birlikte kullanıldığı makale de mevcut değildir. Yayınlanan tek makalede, Ruf ve ark., insan hücresi ve tam kanda nötrofil aktivasyonunu inceleyen çalışmalarında trombosit agregasyonunu önlemede EDTA ile birlikte iloprost kullanmışlardır (294). Trombositler tarafından sağlanan nötrofil aktivasyonu için fibrinojen bağlanması gerekliliğinden bahsederken trombosit ve nötrofiller arasında ve kontak yüzeylerinde fibronektin yerine fibrinojen saptamışlardır. Fibrinojenin nötrofil aktivasyonu için daha önemli olduğunu rapor etmişlerdir. İntegrinlerin, endotelial hücrelerdeki PMNL(polimorfonükleer lökositler)in adezyonunda fibronektin, laminin ve vitronektinin öneminden bahsetmişlerdir.

Bizim çalışmamızda post operatif 15.günde fibronektinin immunoreaksiyonu daha ağırlık olarak bağ dokuda gözlenmiştir ve bunun yanında kemik dokuda da hafif pozitif immunoreaksiyon gözlenmiştir. Yine bazı epitel dokularında da pozitif immunoreaksiyon izlenmiştir. Postoperatif 45.günde 15.güne kıyasla tüm gruplarda immünohistokimyasal olarak belirgin bir fibronektin aktivasyonu mevcuttur. Ancak istatistiki verilere göre de 45.gün verileri, 15.gün verilerine göre fazla olsa da sadece KON ve ZOL+İLO gruplarında farklılığın istatistik olarak anlamlı olması fibronektinin mekanizması hakkında yeterli yorum yapılamamasına yol açmaktadır.



Diş çekimi sonrasında yara iyileşmesinde ZOL ve İLO'un etkileri açısından fibronektinin sonuçları tam olarak anlaşılmadığı için konu hakkında daha fazla çalışma yapılmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

### **5.8.5. Osteopontin**

Osteopontin (OPN) ilk olarak kemiğin ekstraselüler matriksinde tanımlanmış fosfoglikoprotein yapıda bir bileşiktir. OPN'nin inflamasyon regülasyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Kemik remodeling sürecinde de rol almaktadır. Yamamoto ve ark.'nın deney hayvan artrit modelinde OPN'nin baskılanmasının inflamasyonu ve eklem erozyonunu azaltabileceği gösterilmişti. Shio ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada, romatoid artritte idrar OPN düzeyinin hastalık aktivasyonu ile ilişkili olabileceğini vurgulamışlardı. Güncel bir makalede, OPN'in inflamasyondan ziyade özellikle kemik remodeling sürecinde kemiğin yapım ve yıkım göstergeleri ile korale olarak hem rezorpsiyon hem de formasyonda rol oynadığı rapor edilmiştir (295-297).

#### **5.8.5.1. Kemik remodelinginde rolü**

Osteopontin, kemik remodelasyonunda önemli bir faktördür (298). Osteoprotegerin(OPG) ve receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand(RANKL) ile birlikte osteoklast regülatörü olarak tarif edilmiştir (299). Özellikle kemiklerin mineral matriksindeki osteoklastlara bağlanır (300).

OPN, osteoklastların, kemik rezorpsiyonunu başlatacak olan tırtıklı yüzeylerinin aktivasyonuna yardım eder. Osteoklastların rezorpsiyon alanına migrasyonunda fonksiyon görererek normal kemik rezorpsiyonu ve kemik döngüsünde önemli bir role sahip olmaktadır (301). Vasküler kalsikasyonu da önlemektedirler (302). Ayrıca ürede bulunarak böbrek taşı oluşumunu inhibe eder (303).

#### **5.8.5.2. Yara iyileşmesi açısından osteopontin**

OPN sitokin aracılı doku onarımında anahtardır. Kemotaktik molekül olarak, yara bölgesinde inflamatuvar hücre göçünü destekler. OPN, doku remodelingi ve inflamasyon sahalarında belirgin bir şekilde artmaktadır (304, 305). Laboratuvar fare deneyleri, OPN'in yara iyileşmesi üzerine olan etkilerini göstermiştir. Yabani farelerle kıyaslandığında, çalışma grubunda (OPN verilmiş), insizyon bölgesinde

özellikle kollojen fiber diameter ve daha çok rezidüel debris gibi değişiklikler gözlemlenmiştir. Daha çok makrofaj göçü gözlenmiş ve iyileşmeye cevap düzenlenmiştir (306). OPN, kollojen tip 1'e direk olarak bağlanmaktadır (307) ve kollojen tip 2, 3, 4 ve 5 ile etkileşim içindedir (308). Yakın zamandaki çalışmalar myofibroblast diferansiasyonu ve kollojen kontraksiyonu için OPN'in gerekli olduğundan bahsetmektedir (309).

Patel ve ark. multiple myeloma hastalarında bifosfonat tedavisi sonrasında remisyon evresinde, kemik remodeling belirteci olarak osteopontin ve osteoprotegerin seviyelerinin vakaların yarısında arttığını tespit etmişlerdir (262). Frisch ve ark., akut myeloid lösemi modeli oluşturulan sıçanlarda, lösemnin osteoprogenitör hücrelere olan olumsuz etkilerinden ötürü osteopontin ve osteokalsin değerlerinin 400 kata kadar düştüğünü göstermişlerdir fakat zoledronik asit tedavisi uygulandığında bu değerlerdeki değişim hakkında bilgi verilmemiştir (310).

Tanaka ve ark. yayınladıkları makalede OPN'in osteoklastlar tarafından üretilen majör anjiogenik faktör olduğunu ve tümör anjiogenezisinden sorumlu faktör olduğunu vurgulamışlardır. Multiple myelomada majör osteopontin kaynağının osteoklastlar olduğunu belirtmişlerdir (311). Dass ve ark., zoledronik asidin osteosarkomu inhibe etmesindeki model çalışmasında ZOLin tümör anjiogenezisini direkt olarak etkilediğini ve osteopontin seviyesini azalttığını bulmuşlardır (312). İloprostun anjiogenik etkilerinin bilinmesine karşın tümör anjiogenezisi üzerindeki etkilerini ve osteopontin üzerindeki etkilerini içeren bir makale bulunamamıştır.

Çalışmamızda tüm gruplarda 15.günde bağ dokuda belirgin şekilde OPN reaksiyonu görülmüştür ve en şiddetli reaksiyon ZOL+İLO grubunda gözlenmiştir. 45.günde ise OPN reaksiyonlarında azalma görülmüştür. İstatistiksel olarak incelendiğinde ise ZOL ve ZOL+İLO gruplarında anlamlı farklılığın olması ZOLin literatürün aksine OPN değerlerini yükselttiği şeklinde yorumlanmasına neden olmaktadır. ZOL'in osteoklastik inhibisyon etkisine karşın OPN değerlerinin azalma göstermek yerine artış göstermesi dikkat çekicidir. İLO'nun ise beklenenin aksine OPN üzerinde olumlu bir etkisinden bahsedilememektedir. Aksine İLO grubunda kontrol grubuna göre düşük OPN değerleri görülmesi İLO'un OPN değerlerini düşürdüğünü düşündürmektedir.

### 5.7.6. Osteokalsin

Osteokalsin (OC), diğ er bir adı GLA protein olan kemik dokusuna spesifik, osteoblast, odontoblast ve kondroblastlar tarafından sentezlenen, kemik matriksinin kollojen dışı bir proteindir. Kemik ekstraselöler matriksine gömölü olarak bulunur. Osteoblastik aktivitenin spesifik bir göstergesidir (313). Osteoblasttan OC sentezi için 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> (calsitriol) ve vitamin K gereklidir (314, 315). Sentezlenen molekülün %10-25'i dolaşıma verilir. Dolaşıma katılan bu miktar kemik yapımını yansıtır ve serum seviyesi ölçülebilmektedir (314). Kemik yapımının göstergesi olarak sensitivite ve spesifitesi yüksektir (316-318). Diürnal ritmi vardır, en yüksek değ erine saat 04.00 sıralarında ulaşırken saat 17.00 sıralarında en düşük değ erlere iner. Serum düzeyleri yaş, cinsiyet, boy ve büyüme hızı ile korelasyon gösterir. Puberte ve ergenlik döneminde yüksek değ erlerde dir (319). Osteokalsin hızlı bir şekilde böbreklerden filtre olup uzaklaştırılır (320). Serum düzeyi, böbrek fonksiyonlarındaki değ iş ikliklerden etkilenir. Glomerül filtrasyon oranı azaldığında serum OC düzeyi artar (321). Dolaşımdaki osteokalsinin yarı ömrü kısadır. Osteokalsinin fonksiyonu tam olarak tespit edilememekle birlikte kimyasal yapısı hidroksiapatitle etkileştiğ ini göstermektedir. İskelet gelişimi süresince hidroksiapatit depolanmasıyla beraber OC' de artma olduğu tespit edilmiştir (322). Osteokalsin sentezi, mineralizasyon ve ilerleyici osteoblast farklılaşması ile artar. Birçok çalışmada kemik yeniden yapılanmasının arttığı hastalıklarda (paget hastalığı, hipertiroidi, hiperparatiroidi gibi) serum OC seviyesinin arttığı ve yeniden yapılanmanın azaldığı durumlarda (steroid tedavisi, hipoparatiroidi, kemik metastazına bağlı hiperkalsemi gibi) serum seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (323, 324). 60 yaş üstü erkeklerde artan OC değ erleri artmış kemik döngüsü sebebiyle yaşa bağlı osteoporozu vurgularken, osteoporoz rahatsızlığı bulunan yaşlı kadınlardaki artmış OC değ erleri postmenapoz döneme nazaran fazla bulunmuştur (325).

Bolland ve ark., HIV+ 43 hastada zoledronatın uzun dönem takibini içeren çalışmalarında 3 yıl boyunca serum OC seviyesini takip etmişler, sadece 2 doz IV olarak verilen ZOLun yaklaşık 3 yıl boyunca serum OC değ erlerini plaseboya göre düşük seviyede tuttuğu gözlemlenmiştir (326). Gasser ve ark., overektomi yapılmış sıçanlarda kansellöz ve kortikal kemikte zoledronik asidin uzun dönem etkilerini

araştırdıkları çalışmalarında overektomi sonrası artan OC değerlerinin ZOL tedavisi sonrası belirgin olarak düştüğünü belirtmişlerdir (327). Basso ve ark., çalışmalarında zoledronik asidin osteoblastlardaki alkalen fosfataz ve osteokalsin üretiminden sorumlu genlerin ekspresyonunu azaltarak osteoblast diferansiasyonun inhibe ettiğini tespit etmişlerdir (328).

Kemper ve ark., kemik iliği mezenşimal stromal hücrelerinde indometazinin olumsuz etkilerini gidermek amacıyla iloprost kullandıkları çalışmalarında, iloprostun dolaylı olarak OC seviyesinde artışa neden olarak osteoblastik diferansiasyona katkı sağlayabileceğini ifade etmişlerdir (263).

Bizim çalışmamızda 15.günde bağ dokuda farklı değerlerde OC reaksiyonuna rastlanırken en şiddetli değerler yeni kemik şekillenme bölgelerinde kaydedilmiştir. OC değerlerinin artması yeni kemik yapımı ile uyumludur. Literatüre göre de yeni kemik yapım bölgelerinde OC seviyelerinin artması beklenen bir durumdur. 45.günde tüm gruplarda OC değerlerinin hemen hemen sıfır değerlerine düşmesi kemik yapımının bitmek üzere olduğunu ve kemikleşmenin 45.günde tamamlanlandığını işaret etmektedir. Fakat ZOLun OC seviyesine olumsuz etkilerinin olması beklenirken ZOL gruplarında OC değerlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. Yine İLO gruplarında OC seviyeleri bir miktar yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamaktadır. Bu durumda sonuçlarımıza göre ZOL ve İLOnun OC üzerinde etkisinin bulunmadığı sonucu çıkarılmaktadır.

### **5.8.7. VEGF(Vasküler endotelial büyüme faktörü)**

Vasküler endotel hücreleri için çok spesifik bir mitojen olan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) endotel hücrelerinde proliferasyon yapar, hücre migrasyonunu kolaylaştırır ve apoptozu inhibe eder. İn vivo olarak VEGF kan damarlarındaki geçirgenliği artırmasının yanında anjiyogenezi indüklediğinden anjiyogenezin regülasyonunda santral rol oynar (329).

Vasküler geçirgenlik faktörü (VPF) olarak bilinen, vasküler endotelial büyüme faktörü (330), kan dolaşımı yetersiz olduğunda dokulara oksijen desteği sağlayan sistemin bir bileşenidir. VEGF serum konsantrasyonu bronşiyal astım ve diyabette yüksektir (331). VEGF'nin normal fonksiyonu yeni kan hücreleri yaratmak,

embriyojenik gelişim sırasında kan damarları oluşumunu artırmak ve kollateral dolaşıma katkıda bulunarak sistemik dolaşıma destek olmaktır.

VEGF aşırı salgılandığı zaman, hastalıklara katkıda bulunabilir. Yeterli kan desteği olmadan, solid kanser kitleleri büyüyemez, kanserli dokuda VEGF salgısı ve buna bağlı metastaz söz konusu olabilir. Aşırı VEGF yine retina ve diğer dokularda hastalıklara sebep olabilir. Aflibercept, bevasizumab ve ranibizumab gibi ajanlar, VEGF inhibisyonu ile hastalıkları kontrol altına alabilir ya da yavaşlatabilir (330).

#### **5.8.7.1. Yara iyileşmesi açısından VEGF**

Kütanoz yaralarda, VEGF salgısında artış görülür (331, 332). Ayrıca reseptörleri, granülasyon dokusunda yer alan kan damarlarında da artış gösterir (333, 334). Bu paterne göre, VEGF nin yara anjiyogenezisini stimüle ettiği söylenebilir. Bazı çalışmalara göre, VEGF'nin yapısal olarak bozulduğu veya üretiminin azaldığı durumlarda, yara iyileşmesi defektleri görülmüştür (331-333, 335).

VEGF'yi nötralize eden antikorların kullanılmasıyla, yara iyileşmesinde çarpıcı bir düşüş görülmüştür. Bu bulgular göstermiştir ki, endojen VEGF yara iyileşmesinde çok önemli bir role sahiptir (336).

Santini ve ark., kanser hastalarında bifosfonat uygulaması sonrası anjiyogenik faktörlerin serum seviyelerini araştırdığı çalışmada VEGF seviyesinin önemli miktarda düştüğünü göstermiştir (338).

Basso ve ark., zoledronik asidin direk olarak hücre proliferasyonu ve migrasyonundan sorumlu epitelyal büyüme faktörlerinden VEGF'ye %34 ve bFGF'ye %51 orana azaltıcı etkilerinden bahsetmişlerdir (337). Yine İshiaq ve ark., bifosfonatların osteoblastik hücrelerdeki proanjiojenik faktörler olan VEGF ve anjiopietin-1(ANG-1) üzerindeki inhibisyonunu bildirmişlerdir (339). Çalışmamızda ZOL'in VEGF verilerini düşürse de istatistiksel olarak diğer gruplardan farklı olmadığı sonucu ortaya çıkmıştır. Ayrıca KON ve İLO gruplarında da 15. ve 45. günler arasındaki fark istatistiksel ve immunohistokimyasal olarak da önemlidir. 15.günde artan VEGF değerleri yara iyileşmesinin başladığını ama gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir. 45.günde değerlerin birbiri ile orantılı olarak düşmesi yara iyileşmesinin zamanla tamamlandığını göstermektedir.

Gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmayışı ise ZOL'in VEGF üzerinde olumsuz etkilerinin saptanamadığını veya İloprostun yara iyileşmesi sürecinde VEGF üzerinde etkili olmadığı sonucunu düşündürmektedir. En düşük değerlerin ZOL+İLO grubunun 15.günlerinde gerçekleşmiş olması iloprostun ZOL ile birlikte VEGF salgısında azaltıcı bir role sahip olabileceğini akla getirmektedir.



## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Zoledronik asit uygulanan sıçanlarda 1 molar dişin çekilmesi sonrası mukoza bütünlüğü 15 günde genel olarak tamamlanmaktadır. Yaranın tamamen iyileşmesi için ise 45 günlük süre yeterli olmaktadır.
2. Diş çekimi sonrası sıçanlarda iyileşen yumuşak doku ve kemik dokuda zoledronik asit iyileşmeyi genel olarak geciktirmekte ve enfeksiyona yatkınlığı artırmaktadır.
3. İstatistiksel olarak ZOL'ün ANG üzerindeki etkisi anlamlı değildir.
4. Literatürün aksine ZOL gruplarında OPN değerlerinde artış görülmüştür.
5. OC değerlerinde düşüş beklenirken ZOL'ün OC üzerine etkisi anlamlı değildir.
6. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da VEGF değerlerinde düşüşe sebep olması yara iyileşmesi açısından ZOL'ün olumsuz etkilerini desteklemektedir.
7. İLO'nun istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ALP ve ANG üzerindeki pozitif etkileri Anjiogenezis ve yara iyileşmesini artırıcı yönde bir etkisi olduğunu göstermektedir.
8. ZOL ve İLO'nun fibronektin değerleri üzerindeki etkileri anlaşılamamıştır.
9. ZOL ve İLO'nun Kollojen IV üzerinde herhangi bir etkisinin bulunmayışı Kollojen IV'ün çekim yarasında anlamlı bir belirleyici olmadığı sonucunu doğrulamaktadır.
10. İLO'nun OPN değerlerini artırması beklenirken aksine düşürmüştür.
11. ZOL ve İLO'nun OC üzerinde anlamlı bir etkisi olmasa da OC'nin kemik yapım bölgelerinde artmış olması, kemik iyileşmesi bakımından OC'nin uygun bir belirteç olduğu sonucunu doğrulamaktadır.
12. ZOL'ün yara iyileşmesi üzerindeki, İÇKON oluşturabilen, olumsuz etkilerinin İLO'nun anjiogenezis üzerindeki olumlu etkileri sayesinde giderilebileceği, bu yüzden de İÇKON tedavisi için etkili bir ajan olarak kullanılabilirliğine dair umut veren bir çalışma olmuştur. Konu hakkında daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

## ÖZET

### **Bifosfonat Verilen Ratlarda Diş Çekimi Sonrasında İloprostun Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi**

İlaca Bağlı çene kemiklerinde osteonekroz(İÇKON) açısından en etkili ajanlardan biri olan zoledronik asidin yumuşak ve sert dokudaki yara iyileşmesi olumsuz etkilemesi nedeniyle osteonekroz görüldüğü düşünülmektedir. İloprost, anjiogenezisi artırıcı etkisi, kemik iliği ödemi ve avasküler nekrozda tedavi edici özelliği bulunması açısından etkili bir medikamenttir. Bu çalışmanın amacı zoledronatın diş çekimi sonrası iyileşmeyi bozucu etkilerinin iloprost ajanının anjiogenezis üzerindeki olumlu etkilerinin kullanılarak giderilmeye çalışılmasının histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesidir. Bu tezin en önemli amacı ise diş hekimliği ve çene cerrahisinde hekimleri uğraştıran İÇKON vakalarında gerekli tedavi edici bir ajan saptanmasıdır.

Bu çalışmada, Sprague-Dawley cinsi 88 erkek sıçan kullanıldı. Ratlar, 4 ana grup ve 2 alt grup olarak toplam 8 gruba ayrıldı. Ana gruplar, zoledronat ve iloprost verilen, zoledronat ve iloprost verilmeyen(kontrol grupları), yalnızca zoledronat verilen ve yalnızca iloprost verilen olarak ayrılırken, alt gruplar ise postoperatif 15. Ve 45. Gün sakrifiye edilecek olmalarına göre ayrıldı. Bifosfonat verilen gruplara 6 hafta boyunca bifosfonat verildi. 5.haftada genel anestezi altında sağ mandibular molar dişleri çekildi. Tüm grupların dişleri de aynı şekilde 5.hafta çekildi. İloprost verilen gruplara ise, diş çekiminden sonra 1, 2, 3, 4 ve 5. günlerde iloprost intraperitonel olarak verildi. Diş çekiminden 15 ve 45 gün sonra alt gruplar sakrifiye edilerek elde edilen mandibula örnekleri immünohistokimyasal olarak yara iyileşmesi açısından incelendi. İstatistik analizde Mann- Whitney U, Kruskal Wallis ve Bonferroni-Dunn testleri kullanıldı.

İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da ZOL'ün histopatolojik olarak yumuşak ve sert dokudaki iyileşmeyi geciktirdiği, immünohistokimyasal olarak ALP, OC, VEGF üzerindeki olumsuz etkilerinin İLO ile giderildiği düşünüldüğünde İLOnun İÇKON tedavisinde etkili olabileceği söylenebilir.

**Anahtar sözcükler:** İlaca Bağlı Çene Kemiklerinde Osteonekroz, Bifosfonatlar, Zoledronik Asit, İloprost, Yara iyileşmesi



## ABSTRACT

### **Evaluation Of The Effects Of Iloprost In Wound Healing After Tooth Extraction In Rats Received Biphosphonate**

Osteonecrosis is thought to be seen because of zoledronic acid, which is one of the most effective agents in terms of medical related osteonecrosis of the jaws, because it can negatively affect wound healing in soft and hard tissue. Iloprost is an effective medicament, for its angiogenesis-promoting effect in terms of having healing properties in avascular necrosis and bone marrow edema.

The aim of this study is to evaluate effects of zoledronate in rats receiving zoledronate after tooth extraction by using the positive effects of iloprost agent on angiogenesis, as histopathologic and immunohistochemical. The most important aim of this thesis is to detect an effective and a therapeutic agent in MRONJ cases mess with doctors in dental and jaw surgery.

In this study, 88 male Sprague-Dawley rats were used. Rats were divided into a total of 8 groups, 4 as the main group and 2 as subgroup. While main groups were divided into 4 as biphosphonates and iloprost given, bisphosphonates and iloprost not given (as control groups), only the bisphosphonate and only iloprost given, subgroups were divided by their sacrifice time as postoperative 15th and 45th day. Bisphosphonates given groups took it for 6 weeks. In 5th of this 6 weeks, their right lower molar teeth were extracted under general anesthesia. The teeth of all groups were extracted in the same manner as 5th week also. In the groups treated with iloprost, 1, 2, 3, 4 and 5 days after tooth extraction iloprost was given intraperitoneally. After 15 and 45 days after tooth extraction, subgroups were sacrificed and their mandible samples were examined in terms of wound healing as immunohistochemically. For statistical analysis, Mann-Whitney U, Kruskal Wallis and Bonferroni-Dunn tests were used.

Although not statistically significant, ZOL delays wound healing histopathologically in soft and hard tissues and ILO is likely to be effective in the treatment of MRONJ in which negative effects of ZOL immunohistochemically on ALP, OC, VEGF can be resolved with ILO.

**Keywords:** Medication Related Osteonecrosis of the Jaws, Biphosphonates, Zoledronic Acid, Iloprost, Wound Healing.

## KAYNAKLAR

1. Scoletta M, Arduino PG, Reggio L, Delmasso P, Mozzati M. Effect of Low-Level Laser Irradiation on bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: preliminary results of prospective study. *Photomed Laser Surg* 2010; 110(1): 46–53.
2. Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Graham R, Russell G, Rogers MJ. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res*. 1998; 13(4): 581-589.
3. Maurer P, Sandulescu T, Kriwalsky MS, Rashad A, Hollstein S, Stricker I, Hölzle F, Kunkel M. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the maxilla and sinusitis maxillaris. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2011; 40(3): 285-291.
4. Marx RE, Pamidronate (Aredia) and Zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61: 1115-1118.
5. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo t, Mehrotra B, O’Ryan F. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons Special Committee Position Paper on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2014; 72(10): 1938-1956.
6. 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.
7. Conte Neto N, Spolidorio LC, Andrade CR, S Bastos A, Guimarães M, Marcantonio E Jr. Experimental development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in rodents. *Int J Exp Pathol* 2013; 94(1): 65-73.
8. Dogan A, Duygun F, Kalender AM, Bayram I and Sungur I. Iloprost inhibits fracture repair in rats. *Chin Med J* 2014; 127(16): 2960-2965.
9. Kawaguchi H, Pilbeam CC, Harrison JR. The role of prostaglandins in the regulation of bone metabolism. *Clin Orthop Relat Res* 1995; 313: 36-46.
10. Jäger M, Zilkens C, Westhoff B, Jelinek EM, Kozina G, Krauspe R. Efficiency of iloprost treatment for chemotherapy-associated osteonecrosis after childhood cancer. *Anticancer Res* 2009; 29(8): 3433–3440.
11. Petje G, Radler C, Aigner N, Manner H, Kriegs-Au G, Grill F. Pharmacological management of aseptic osteonecrosis in children. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5(7): 1455-1462.
12. Gerald MC, Diane RK, David JM, David EP, Roger R, Martin C. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Wound Repair and Regeneration* 1994; 2: 165–170.
13. Özkorkmaz EG ve Özay Y. Yara iyileşmesi ve yara iyileşmesinde kullanılan bazı bitkiler. *Derleme Dergisi* 2009; 2(2): 63-67.
14. Ozgen U, Ikbal M, Hacimuftuoglu A, Houghton PJ, Gocer F, Dogan H, Coskun M. Fibroblast growth stimulation by extracts and compounds of *Onosma argentatum* roots. *J Ethnopharmacol*. 2006; 104(1-2): 100-103.

15. Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P. Ethnopharmacological approaches to wound healing exploring medicinal plants of India. *J Ethnopharmacol* 2007; 114(2): 103-113.
16. Larjava H. Oral Wound Healing: An overview. In: *Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management*, 1st Ed. Edited by Hannu Larjava John Wiley & Sons, Chichester, West Sussex: Blackwell Publishing, 2012, p.81-175.
17. Çöloğlu AS. Ağız yaralarının iyileşmesi. *İ.Ü.Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 1970; 4(2): 112-120.
18. Özkan S. Tam Gömük 20 yaş dişlerinin ekstraksiyon yaralarının postoperatif 3. Ve 7. Güne değerlendirilmesi. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Btirme Tezi (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Selda Ertürk)*, 2000: 2-16.
19. Marx RE. Oral & Intravenous Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaws. History, Etiology, Prevention, and Treatment. Illinois: Quintessence Publishing Co, Inc, 2007, p.9-20.
20. Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev* 1998; 19: 80-100.
21. Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest* 1996; 97: 2692-2696.
22. Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone* 2011; 49(1): 2-19.
23. Fleisch HA, Russell RGG, Bisaz S, Muehlbauer RC, Williams DA. The inhibitory effect of phosphonates on the formation of calcium phosphate crystals in vitro and on aortic and kidney calcification in vivo. *Eur J Clin Invest* 1970; 1: 12-18.
24. Francis MD, Russell RGG, Fleisch H. Diphosphonates inhibit formation of calcium phosphate crystals in vitro and pathological calcification in vivo. *Science* 1969; 165:1264-1266.
25. Russell RG, Xia Z, Dunford JE, Oppermann U, Kwaasi A, Hulley PA, Kavanagh KL, Triffitt JT, Lundy MW, Phipps RJ, Barnett BL, Coxon FP, Rogers MJ, Watts NB, Ebetino FH. Bisphosphonates: an update on mechanisms of action and how these relate to clinical efficacy. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1117: 209-257.
26. Minaire P, Depassio J, Berard E, Meunier PJ, Edouard C, Pilonchery G, Goedert G. Effects of clodronate on immobilization bone loss. *Bone* 1987; 8(1): 63-68.
27. Bartl R, Frisch B, von Tresckow E, Bartl C. Bisphosphonates In Medical Practice- Actions, Side Effects, Indications, Strategies. Berlin/Newyork: Springer, 2007, p.50-70.
28. Cooper A. Compliance with treatment for osteoporosis. *Lancet* 2006; 368(9548): 1648.
29. Russell R, Rogers M. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone* 1999; 25: 97-106.
30. Papapoulos SE. Bisphosphonate actions: physical chemistry revisited. *Bone* 2006; 38(5): 613-616.

31. Widler L, Jahnke W, Green JR. The chemistry of bisphosphonates: from antiscaling agents to clinical therapeutics. *Anticancer Agents Med Chem* 2012; 12(2): 95-101.
32. Perez-Lopez FR. Postmenopausal osteoporosis and alendronate. *Maturitas* 2004; 48: 179-192.
33. De Rosa G, Misso G, Salzano G, Caraglia M. Bisphosphonates and cancer: what opportunities from nanotechnology? *J Drug Deliv* 2013; 2013: 637976.
34. Şimşek S. Alendronat ve K1 vitamininin rat femoral kırık kemik iyileşmesi üzerindeki etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Isparta, (Tez Danışmanı: Yard. Doç. Dr. Bilge Çadır), 2011; 14-24.
35. Soydan SS, Şenel F, Araz K. Bifosfonata Bağlı Olarak Çene Kemiklerinde Gelişen Osteonekrozun Patogenezi ve Tedavisi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2009; 33(3): 61-68.
36. Güven D. Bifosfonatlar ve Dişhekimliği. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Bitirme tezi, İzmir, (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aytül Önal), 2013; 7-8.
37. Önal L. Bifosfonat uygulanan ratlarda fibroblast büyüme faktörünün mukoza anjiogenezisine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Isparta, (Tez Danışmanı: Yard. Doç. Dr. Gülperi Koçer), 2013; 3-31.
38. Mönkkönen H, Holen I, Evans A, Jauhiainen M, Auriola S, Mönkkönen J. Zoledronic acid induced IPP/ApppI accumulation in different cancer cell lines. *Bone* 2006; 38(3): 58.
39. Russell R, Croucher P, Rogers M. Bisphosphonates: pharmacology, mechanisms of action and clinical uses. *Osteoporos Int* 1999; 9: 66–80.
40. 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; 106(1): 5-13.
41. Bartl R, Frisch B. Bisphosphonates for Bones – Guidelines for Treatment in all Medical Disciplines, Blackwell Science Berlin, 2002, p.51-75.
42. Plotkin LI, Aquirre JI, Kousteni S, Manolagas SC, Bellido T. Bisphosphonates and estrogens inhibit osteocyte apoptosis via distinct molecular mechanisms downstream of extracellular signal-regulated kinase activation. *J Biol Chem.* 2005; 280: 7317-7325.
43. Otto S. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: Bisphosphonates, Denosumab, and New Agents. Berlin: Springer, 2015, p.43-55.
44. Landesberg R, Cozin M, Cremers S, Woo V, Kousteni S, Sinha S, Garrett-Sinha L, Raghavan S. Inhibition of oral mucosal cell wound healing by bisphosphonates. *J Oral Maxillofac Surg* 2008; 66(5): 839–847.
45. Roelofs AJ, Garrioch S, Ebetino FH, Rogers MJ. Prevention of breast cancer cell adhesion to bone in vitro by bisphosphonates is mediated by their inhibitory effect on protein prenylation. *Bone* 2006; 38(3): 59-60.

46. Siddhika GS, Kay WC. Direct effects of bisphosphonates on breast cancer cells. Review. *Breast Cancer Res* 2002; 4: 18-23.
47. Huesa C, Staines KA, Millán JL, MacRae VE. Effects of etidronate on the *Enpp1<sup>-/-</sup>* mouse model of generalized arterial calcification of infancy. *Int J Mol Med* 2015; 36(1): 159-165.
48. Edouard T, Chabot G, Miro J, Buhas DC, Nitschke Y, Lapierre C, Rutsch F, Alos N. Efficacy and safety of 2-year etidronate treatment in a child with generalized arterial calcification of infancy. *Eur J Pediatr* 2011; 170(12): 1585-1590.
49. Toussaint ND, Lau KK, Strauss BJ, Polkinghorne KR, Kerr PG. Effect of alendronate on vascular calcification in CKD stages 3 and 4: a pilot randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis* 2010; 56(1): 57-68.
50. Price PA, Roublick AM, Williamson MK. Artery calcification in uremic rats is increased by a low protein diet and prevented by treatment with ibandronate. *Kidney Int* 2006; 70(9): 1577-1583.
51. Li H, Jia GL, Wang HC, Zhang RQ, Tao HR, Lü R, Hu T, Wang J. The effect of alendronate on arterial calcification in rat model. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2006; 45(6): 489-492.
52. Price PA, Faus SA, Williamson MK. Bisphosphonates alendronate and ibandronate inhibit artery calcification at doses comparable to those that inhibit bone resorption. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(5): 817-824.
53. Synetos A, Toutouzas K, Benetos G, Drakopoulou M, Trantalís G, Kotronias R, Agrogiannis G, Tsiamis E, Deftereos S, Davlourous P, Patsouris E, Stefanadis C. Catheter based inhibition of arterial calcification by bisphosphonates in an experimental atherosclerotic rabbit animal model. *Int J Cardiol.* 2014; 176(1): 177-181.
54. Sarıdoğan M. Postmenopozal Osteoporoz Tedavisi: Bifosfonatlar. *Kaya Artemis Otel, Gazimağusa, KKTC.* 2010; 183-187.
55. Miller PD. Bisphosphonates: Pharmacology and use in the treatment of osteoporosis. In: Marcus R, Feldman D, Nelson DA, Rosen CJ (Eds) *Osteoporosis* 3.Ed, San Diego, USA: Elsevier American Pres, 2008, p.1725 – 1741.
56. Epperla N, Pathak R. Hypocalcemia Secondary to Zoledronate Therapy in a Patient With Low Vitamin D Level. *Case Report. Wisconsin Med Soc* 2015; 114(4): 163-167.
57. Pazianas M, Cooper C, Ebtino FH, Russell RG. Long-term treatment with bisphosphonates and their safety in postmenopausal osteoporosis. *Ther Clin Risk Manag* 2010; 21: 325-343.
58. Kreutle V, Blum C, Meier C, Past M, Müller B, Schütz P, Borm K. Bisphosphonate induced hypocalcaemia – report of six cases and review of the literature. *Swiss Med Wkly* 2014; 144: 13979.
59. Sarıdoğan M, Gün K. Postmenopozal Osteoporoz Tedavisinde Uzun Dönem Bifosfonat Kullanımı ve Görülebilen Yan Etkiler-Derleme. *Osteoporoz Dünyasından* 2010; 16: 66-71.

60. Bock O, Felsenberg D. Bisphosphonates in the management of postmenopausal osteoporosis –optimizing efficacy in clinical practice *Clin Interv Aging* 2008; 3(2): 279–297.
61. Papapetrou PD. Bisphosphonate-associated adverse events *Hormones* 2009; 8(2): 96-110.
62. Chang JT, Green L, Beitz J. Renal failure with the use of zoledronic acid. *N Engl J Med* 2003; 349: 1676-1679.
63. Yıldız N, Alpay H. Bifosfonatların Pediatrik Nefrolojide Kullanımı *Pediatric Bifosfonatlar. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 2011; 20(2): 132-141.
64. Hirschberg R. Renal complications from bisphosphonate treatment. Review. *Curr Opin Support Palliat Care* 2012; 6: 342–347.
65. Pfister T, Atzpodien E, Bohrmann B, Bauss F. Acute renal effects of intravenous bisphosphonates in the rat. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97(6): 374-81.
66. Munier A, Gras V, Andrejak M, Bernard N, Jean-Pastor MJ, Gautier S, Biour M, Massy Z. Zoledronic acid and renal toxicity: Data from French adverse effect reporting database. *Ann Pharmacother* 2005; 39: 1194-1197.
67. Onur Ö, Kurtuluş B, Çevik P. Bifosfonat kullanan hastalarda oral cerrahi uygulamalarda karşılaşılabilecek sorunlar ve tedavisi. *İ.Ü.Diş Hek Fak Derg* 2009; 43: 113-122.
68. Crépin S, Laroche ML, Sarry B, Merle L. Osteonecrosis of the jaw induced by clodronate, an alkylbiphosphonate: case report and literature review. *Eur J Clin Pharmacol.* 2010; 66(6): 547-554.
69. Migliorati CA, Woo SB, Hewson I, Barasch A, Elting LS, Spijkervet FK, Brennan MT. A systematic review of bisphosphonate osteonecrosis (BON) in cancer. *Support Care Cancer* 2010; 18(8): 1099-106.
70. Kwon TG. Risk Factors for Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws. In: *Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: Bisphosphonates, Denosumab, and New Agents.* Berlin: Springer, 2015, p.27-43.
71. Alpaslan G, Alaçam T, Alpaslan C, Altay N, Ataç A, Bağış Y, Bulut B, Çehreli Z, Kiremitçi A, Memikoğlu UT. Bifosfonat kullanan hastalarda çenelerde osteonekrozun önlenmesi, tanınması ve alınması gereken önlemler. *Türk Dişhekimleri Birliği Eğitim Komisyonu Klinik rehberi* 2013, s.3-13.
72. Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y, Poveda R, Milian MA, Sanchis JM, Silvestre FJ, Scully C. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J Oral Pathol Med.* 2005; 34(2): 120-123.
73. Kapitola J, Zák J. Effect of pamidronate on bone blood flow in oophorectomized rats. *Physiol Res* 1998; 47(4): 237-240.
74. Santini D, Vincenzi B, Avvisati G, Dicuonzo G, Battistoni F, Gavasci M, Salerno A, Denaro V, Tonini G. Pamidronate induces modifications of circulating angiogenetic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res* 2002; 8(5): 1080-1084.

75. Conte P, Coleman R. Bisphosphonates in the treatment of skeletal metastases. *Semin Oncol.* 2004; 31: 59-63.
76. Ferretti G, Fabi A, Carlini P, Papaldo P, Cordiali Fei P, Di Cosimo S, Salesi N, Giannarelli D, Alimonti A, Di Cocco B, D'Agosto G, Bordignon V, Trento E, Cognetti F. Zoledronic-acid-induced circulating level modifications of angiogenic factors, metalloproteinases and proinflammatory cytokines in metastatic breast cancer patients. *Oncology* 2005; 69(1): 35-43.
77. Metcalf S, Pandha HS, Morgan R. Antiangiogenic effects of zoledronate on cancer neovasculature. *Future Oncol* 2011; 7(11): 1325-1333.
78. Little DG, Peat RA, Mcevoy A, Williams PR, Smith EJ, Baldock PA. Zoledronic acid treatment results in retention of femoral head structure after traumatic osteonecrosis in young Wistar rats. *J Bone Miner Res* 2003; 18(11): 2016-2022.
79. Agarwala S, Jain D, Joshi VR, Sule A. Efficacy of alendronate, a bisphosphonate, in the treatment of AVN of the hip. A prospective open-label study. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44(3): 352-359.
80. Lai KA, Shen WJ, Yang CY, Shao CJ, Hsu JT, Lin RM. The use of alendronate to prevent early collapse of the femoral head in patients with nontraumatic osteonecrosis. A randomized clinical study. *J Bone Joint Surg Am* 2005; 87(10): 2155-2159.
81. Raje N, Woo SB, Hande K, Yap JT, Richardson PG, Vallet S, Treister N, Hideshima T, Sheehy N, Chhetri S, Connell B, Xie W, Tai YT, Szot-Barnes A, Tian M, Schlossman RL, Weller E, Munshi NC, Van Den Abbeele AD, Anderson KC. Clinical, radiographic, and biochemical characterization of multiple myeloma patients with osteonecrosis of the jaw. *Clin Cancer Res.* 2008; 14(8): 2387-95.
82. Belcher R, Boyette J, Pierson T, Siegel E, Bartel TB, Aniasse E, Stack BJ. What is the role of positron emission tomography in osteonecrosis of the jaws? *J Oral Maxillofac Surg* 2014; 72(2): 306-310.
83. Lazarovici TS, Yoffe T. Epidemiology of Medication- Related Osteonecrosis of the Jaw. In: Otto S (ed.) *Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: Bisphosphonates, Denosumab, and New Agents.* 1st ed., Berlin Heidelberg: Springer, 2015, p.55-63.
84. Jadu F, Lee L, Pharaoh M, Recce D, Wang L. A retrospective study assessing the incidence, risk factors and comorbidities of pamidronate-related necrosis of the jaws in multiple myeloma patients. *Ann Oncol* 2007; 18(12): 2015-2019.
85. 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* 2007; 92(3): 1172-5.
86. Thumbigere-Math V, Tu L, Huckabay S, Dudek AZ, Lunos S, Basi DL, Hughes PJ, Leach JW, Swenson KK, Gopalakrishnan R. A retrospective study evaluating frequency and risk factors of osteonecrosis of the jaw in 576 cancer patients receiving intravenous bisphosphonates. *Am J Clin Oncol* 2012; 35(4): 386-92.

87. Di Fede O, Fusco V, Matranga D, Solazzo L, Gabriele M, Gaeta GM, Favia G, Sprini D, Peluso F, Colella G, Vescovi P, Campisi G. Osteonecrosis of the jaws in patients assuming oral bisphosphonates for osteoporosis: a retrospective multi-hospital-based study of 87 Italian cases. *Eur J Intern Med.* 2013; 24(8): 784-790.
88. Malden N, Lopes V. An epidemiological study of alendronate-related osteonecrosis of the jaws. A case series from the south-east of Scotland with attention given to case definition and prevalence. *J Bone Miner Metab* 2012; 30(2): 171–182.
89. Diniz-Freitas M, Lopez-Cedrun JL, Fernandez-Sanroman J, Garcia-Garcia A, Fernandez-Feijoo J, Diz-Dios P. Oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: clinical characteristics of a series of 20 cases in Spain. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2012; 17(5): 751–758.
90. Durie BG, Katz M, Crowley J. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates. *N Engl J Med* 2005; 353(1): 99–102.
91. Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, Katodritou E, Triaridis S, Andreadis CG, Boukovinas I, Koloutsos GE, Teleioudis Z, Kitikidou K, Paraskevopoulos P, Zervas K, Antoniadis K. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Clin Oncol* 2009; 27(32): 5356–5362.
92. Badros A, Terpos E, Katodritou E, Goloubeva O, Kastritis E, Verrou E, Zervas K, Baer MR, Meiller T, Dimopoulos MA. Natural history of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2008; 26(36): 5904–5909.
93. Allen MR, Burr DB. The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: so many hypotheses, so few data. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67: 61–70.
94. Bertoldo F, Santini D, Lo Cascio V. Bisphosphonates and osteomyelitis of the jaw: a pathogenic puzzle. *Nat Clin Pract Oncol.* 2007; 4(12): 711–721.
95. Abtahi J, Agholme F, Sandberg O, Aspenberg P. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw in a rat model arises first after the bone has become exposed. No primary necrosis in unexposed bone. *J Oral Pathol Med* 2012; 41(6): 494–499.
96. Otto S, Hafner S, Mast G, Tischer T, Volkmer E, Schieker M, Stürzenbaum SR, von Tresckow E, Kolk A, Ehrenfeld M, Pautke C. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: is pH the missing part in the pathogenesis puzzle? *J Oral Maxillofac Surg.* 2010; 68(5): 1158–1161.
97. Tsao C, Darby I, Ebeling PR, Walsh K, O'Brien-Simpson N, Reynolds E, Borromeo G. Oral health risk factors for bisphosphonate-associated jaw osteonecrosis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013; 71(8): 1360–1366.
98. Boonyapakorn T, Schirmer I, Reichart PA, Sturm I, Massenkeil G. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: prospective study of 80 patients with multiple myeloma and other malignancies. *Oral Oncol.* 2008; 44(9): 857–869.
99. Pozzi S, Marcheselli R, Sacchi S, Baldini L, Angrilli F, Pennese E, Quarta G, Stelitano C, Caparotti G, Luminari S, Musto P, Natale D, Broglio C, Cuoghi



- A, Dini D, Di Tonno P, Leonardi G, Pianezze G, Pitini V, Polimeno G, Ponchio L, Masini L, Musso M, Spriano M, Pollastri G; Gruppo Italiano Studio Linfomi. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a review of 35 cases and an evaluation of its frequency in multiple myeloma patients. *Leuk Lymphoma*. 2007;48(1):56–64.
100. Manfredi M, Merigo E, Guidotti R, Meleti M, Vescovi P. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a case series of 25 patients affected by osteoporosis. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2011; 40(3): 277–284.
  101. O’Ryan FS, Lo JC. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in patients with oral bisphosphonate exposure: clinical course and outcomes. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012; 70(8): 1844–1853.
  102. Otto S, Abu-Id MH, Fedele S, Warnke PH, Becker ST, Kolk A, Mücke T, Mast G, Köhnke R, Volkmer E, Haasters F, Lieger O, Iizuka T, Porter S, Campisi G, Colella G, Ploder O, Neff A, Wiltfang J, Ehrenfeld M, Kreuzsch T, Wolff KD, Stürzenbaum SR, Schieker M, Pautke C. Osteoporosis and bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw: not just a sporadic coincidence—a multi-centre study. *J Craniomaxillofac Surg*. 2011; 39(4): 272–277.
  103. Paparella ML, Brandizzi D, Santini-Araujo E, Cabrini RL. Histopathological features of osteonecrosis of the jaw associated with bisphosphonates. *Histopathology* 2012; 60(3): 514–516.
  104. Lesclous P, Lesclous P, Abi Najm S, Carrel JP, Baroukh B, Lombardi T, Willi JP, Rizzoli R, Saffar JL, Samson J. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a key role of inflammation? *Bone* 2009; 45(5): 843–852.
  105. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mehrotra B. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws—2009 update. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 67: 2–12.
  106. Wessel JH, Dodson TB, Zavras AI. Zoledronate, smoking, and obesity are strong risk factors for osteonecrosis of the jaw: a case–control study. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008; 66(4): 625–631.
  107. Lai XS, Yang LP, Li XT, Liu JP, Zhou ZW, Zhou SF. Human CYP2C8: structure, substrate specificity, inhibitor selectivity, inducers and polymorphisms. *Curr Drug Metab* 2009;10(9): 1009–1047.
  108. Nicoletti P, Cartsos VM, Palaska PK, Shen Y, Floratos A, Zavras AI. Genomewide pharmacogenetics of bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw: the role of RBMS3. *Oncologist*. 2012; 17(2): 279–287.
  109. Silva I, Branco JC. Rank/Rankl/opg: literature review. *Acta Reumatol Port* 2011; 36(3): 209–218.
  110. Fizazi K, Carducci M, Smith M, Damião R, Brown J, Karsh L, Milecki P, Shore N, Rader M, Wang H, Jiang Q, Tadros S, Dansey R, Goessl C. Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind study. *Lancet*. 2011; 377(9768): 813–822.
  111. Anghel R, Bachmann A, Beksac M, Brodowicz T, Finek J, Komadina R, Krzemieniecki K, Lang I, Marenca J, von Moos R, Pecherstorfer M, Rordorf T,

- Vrbanec D, Zielinski C. Expert opinion 2011 on the use of new anti-resorptive agents in the prevention of skeletal-related events in metastatic bone disease. *Wien Klin Wochenschr.* 2013; 125(15–16): 439–447.
112. Body JJ. Inhibition of RANK Ligand to treat bone metastases. *Bull Cancer* 2013; 100(11): 1207–1213.
113. Silva I, Branco JC. Denosumab: recent update in postmenopausal osteoporosis. *Acta Reumatol Port* 2012; 37(4): 302–313.
114. Lipton A, Fizazi K, Stopeck AT, Henry DH, Brown JE, Yardley DA, Richardson GE, Siena S, Maroto P, Clemens M, Bilynsky B, Charu V, Beuzeboc P, Rader M, Viniegra M, Saad F, Ke C, Braun A, Jun S. Superiority of denosumab to zoledronic acid for prevention of skeletal-related events: a combined analysis of 3 pivotal, randomised, phase 3 trials. *Eur J Cancer.* 2012; 48(16): 3082–3092.
115. Fizazi K, Lipton A, Mariette X, Body JJ, Rahim Y, Gralow JR, et al. Randomized phase II trial of denosumab in patients with bone metastases from prostate cancer, breast cancer, or other neoplasms after intravenous bisphosphonates. *J Clin Oncol.* 2009; 27(10): 1564–71.
116. Lipton A, Steger GG, Figueroa J, Alvarado C, Solal-Celigny P, Body JJ, de Boer R, Berardi R, Gascon P, Tonkin KS, Coleman R, Paterson AH, Peterson MC, Fan M, Kinsey A, Jun S.. Randomized active-controlled phase II study of denosumab efficacy and safety in patients with breast cancer-related bone metastases. *J Clin Oncol.* 2007; 25(28): 4431–4437.
117. Smith MR, Egerdie B, Hernandez Toriz N, Feldman R, Tammela TL, Saad F, Heracek J, Szwedowski M, Ke C, Kupic A, Leder BZ, Goessl C. Denosumab in men receiving androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *N Engl J Med.* 2009; 361(8): 745–55.
118. Saad F, Brown JE, Van Poznak C, Ibrahim T, Stemmer SM, Stopeck AT, Diel IJ, Takahashi S, Shore N, Henry DH, Barrios CH, Facon T, Senecal F, Fizazi K, Zhou L, Daniels A, Carrière P, Dansey R. Incidence, risk factors, and outcomes of osteonecrosis of the jaw: integrated analysis from three blinded active-controlled phase III trials in cancer patients with bone metastases. *Ann Oncol.* 2012; 23(5): 1341–1347.
119. Kerbel R, Folkman J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nat Rev Cancer.* 2002; 2(10): 727–739.
120. Smidt-Hansen T, Folkmar TB, Fode K, Agerbaek M, Donskov F. Combination of zoledronic Acid and targeted therapy is active but may induce osteonecrosis of the jaw in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg* 2013; 71(9): 1532–1540.
121. Greuter S, Schmid F, Ruhstaller T, Thuerlimann B. Bevacizumab-associated osteonecrosis of the jaw. *Ann Oncol* 2008; 19(12): 2091–2092.
122. Koch FP, Walter C, Hansen T, Jager E, Wagner W. Osteonecrosis of the jaw related to sunitinib. *Oral Maxillofac Surg* 2011; 15(1): 63–66.
123. Kneissel M, Luong-Nguyen NH, Baptist M, Cortesi R, Zumstein-Mecker S, Kossida S, O'Reilly T, Lane H, Susa M. Everolimus suppresses cancellous bone

- loss, bone resorption, and cathepsin K expression by osteoclasts. *Bone* 2004; 35(5): 1144–1156.
124. Troeltzsch M, Woodlock T, Kriegelstein S, Steiner T, Messlinger K. Physiology and pharmacology of nonbisphosphonate drugs implicated in osteonecrosis of the jaw. *J Can Dent Assoc* 2012; 78: 85.
125. Estilo CL, Fornier M, Farooki A, Carlson D, Bohle G, 3rd, Huryn JM. Osteonecrosis of the jaw related to bevacizumab. *J Clin Oncol* 2008; 26(24): 4037–4038.
126. Guarneri V, Miles D, Robert N, Dieras V, Glaspy J, Smith I, Thomssen C, Biganzoli L, Taran T, Conte P. Bevacizumab and osteonecrosis of the jaw: incidence and association with bisphosphonate therapy in three large prospective trials in advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 122(1): 181–188.
127. Disel U, Besen AA, Ozyilkan O, Er E, Canpolat T. A case report of bevacizumab-related osteonecrosis of the jaw: old problem, new culprit. *Oral Oncol* 2012; 48(2): 2–3.
128. Hopp RN, Pucci J, Santos-Silva AR, Jorge J. Osteonecrosis after administration of intravitreal bevacizumab. *J Oral Maxillofac Surg* 2012; 70(3): 632–635.
129. Santos-Silva AR, Belizario Rosa GA, Castro Junior G, Dias RB, Prado Ribeiro AC, Brandao TB. Osteonecrosis of the mandible associated with bevacizumab therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013; 115(6): 32–36.
130. Christodoulou C, Pervena A, Klouvas G, Galani E, Falagas ME, Tsakalos G, Visvikis A, Nikolakopoulou A, Acholos V, Karapanagiotidis G, Batziou E, Skarlos DV. Combination of bisphosphonates and antiangiogenic factors induces osteonecrosis of the jaw more frequently than bisphosphonates alone. *Oncology* 2009; 76(3): 209–211.
131. Keizman D, Ish-Shalom M, Pili R, Hammers H, Eisenberger MA, Sinibaldi V, Boursi B, Maimon N, Gottfried M, Hayat H, Peer A, Kovel S, Sella A, Berger R, Carducci MA. Bisphosphonates combined with sunitinib may improve the response rate, progression free survival and overall survival of patients with bone metastases from renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* 2012; 48(7): 1031–1037.
132. Beuselink B, Wolter P, Karadimou A, Elaidi R, Dumez H, Rogiers A, Van Cann T, Willems L, Body JJ, Berkens J, Van Poppel H, Lerut E, Debruyne P, Paridaens R, Schöffski P. Concomitant oral tyrosine kinase inhibitors and bisphosphonates in advanced renal cell carcinoma with bone metastases. *Br J Cancer.* 2012; 107(10): 1665–1671.
133. Fleissig Y, Regev E, Lehman H. Sunitinib related osteonecrosis of jaw: a case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2012; 113(3): 1–3.
134. Nicolatou-Galitis O, Migkou M, Psyrri A, Bamias A, Pectasides D, Economopoulos T, Raber-Durlacher JE, Dimitriadis G, Dimopoulos MA. Gingival bleeding and jaw bone necrosis in patients with metastatic renal cell carcinoma receiving sunitinib: report of 2 cases with clinical implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2012; 113(2): 234–238.

135. Kim DW, Jung YS, Park HS, Jung HD. Osteonecrosis of the jaw related to everolimus: a case report. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2013; 51(8): 302–304.
136. Ayllon J, Launay-Vacher V, Medioni J, Cros C, Spano JP, Oudard S. Osteonecrosis of the jaw under bisphosphonate and antiangiogenic therapies: cumulative toxicity profile? *Ann Oncol* 2009; 20(3): 600–601.
137. Serra E, Paolantonio M, Spoto G, Mastrangelo F, Tete S, Dolci M. Bevacizumab-related osteonecrosis of the jaw. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2009; 22(4): 1121–1123.
138. 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; 22(10): 1479–1491.
139. Otto S, Kwon TG, Assaf AT. Definition, clinical features and staging of medication-related osteonecrosis of the jaw. In: Otto S (ed.) *Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: Bisphosphonates, Denosumab, and New Agents*. 1st ed., Berlin Heidelberg: Springer, 2015, p.43-55.
140. Otto S, Schreyer C, Hafner S, Mast G, Ehrenfeld M, Stürzenbaum S, Pautke C. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws—characteristics, risk factors, clinical features, localization and impact on oncological treatment. *J Craniomaxillofac Surg*. 2012; 40(4): 303-309.
141. Assaf AT, Jürgens TP, Benecke AW, Riecke B, Blessmann M, Zrnc TA, Much CC, Heiland M, Friedrich RE. Numb chin syndrome. A rare and often overlooked symptom. *J Orofac Pain* 2014; 28(1): 80–90.
142. Otto S, Pautke C, Hafner S, Hesse R, Reichardt LF, Mast G, Ehrenfeld M, Cornelius CP. Pathologic fractures in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw—review of the literature and review of our own cases. *Craniomaxillofac Trauma Reconstr* 2013; 6(3): 147–154.
143. Assaf AT, Smeets R, Riecke B, Weise E, Gröbe A, Blessmann M, Steiner T, Wikner J, Friedrich RE, Heiland M, Hoelzle F, Gerhards F. Incidence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in consideration of primary diseases and concomitant therapies. *Anticancer Res*. 2013; 33(9): 3917–3924.
144. Mast G, Otto S, Mücke T, Schreyer C, Bissinger O, Kolk A, Wolff KD, Ehrenfeld M, Stürzenbaum SR, Pautke C. Incidence of maxillary sinusitis and oro-antral fistulae in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Craniomaxillofac Surg* 2012; 40(7): 568–571.
145. Saldanha S, Shenoy VK, Eachampati P, Uppal N. Dental implications of bisphosphonate-related osteonecrosis. *Gerodontology* 2012; 29(3): 177–187.
146. 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(11): 1567–1575.
147. Saussez S, Javadian R, Hupin C, Magremanne M, Chantrain G, Loeb I, Decaestecker C. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw and its

- associated risk factors: a Belgian case series. *Laryngoscope* 2009; 119(2): 323–329.
148. Thumbigere-Math V, Michalowicz BS, Hodges JS, Tsai ML, Swenson KK, Rockwell L, Gopalakrishnan R. Periodontal disease as a risk factor for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Periodontol.* 2013; 85(2): 226–233.
  149. Advisory Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 65(3): 369–376.
  150. Mücke Y, Mitchel AD. Local and microvascular free flaps in patients with medication-related osteonecrosis of the jaw. In: Otto S (ed.) *Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: Bisphosphonates, Denosumab, and New Agents.* 1st ed., Berlin Heidelberg: Springer, 2015, p.93-103.
  151. Vescovi P, Manfredi M, Merigo E. Adjuvant treatment options in the management of medication-related osteonecrosis of the jaw. In: Otto S (ed.) *Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: Bisphosphonates, Denosumab, and New Agents.* 1st ed., Berlin Heidelberg: Springer, 2015, p.103-111.
  152. Boykin Jr JV, Baylis C. Hyperbaric Oxygen Therapy mediates increased nitric oxide production associated with wound healing: a preliminary study. *Adv Skin Wound Care* 2007; 20(7): 382–388.
  153. Freiburger JJ, Padilla-Burgos R, Chhoeu AH, Kraft KH, Boneta O, Moon RE, Piantadosi CA. Hyperbaric Oxygen Treatment and bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw: a case series. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65(7): 1321–1327.
  154. Vescovi P, Nammour S. Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ) therapy. A critical review. *Minerva Stomatol.* 2010; 59(4): 181–213.
  155. Agrillo A, Petrucci MT, Tedaldi M, Mustazza MC, Marino SMF, Gallucci C, Iannetti G. New therapeutic protocol in the treatment of avascular necrosis of the jaws. *J Craniofac Surg.* 2006; 17(6): 1080–1083.
  156. Agrillo A, Sassano P, Rinna C, Priore P, Iannetti G. Ozone therapy in extractive surgery on patients treated with bisphosphonates. *J Craniofac Surg* 2007; 18(5): 1068–1070.
  157. Agrillo A, Filiaci F, Ramieri V, Riccardi E, Quarato D, Rinna C, Gennaro P, Cascino F, Mitro V, Ungari C. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): 5 year experience in the treatment of 131 cases with ozone therapy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012; 16(12): 1741–1747.
  158. Onur Ö, Sofuyev N. Çenelerde Bifosfonat Kullanımına Bağlı Gelişen Osteonekrozdan Korunma ve Tedavi Yöntemleri. *Dergi Bilimsel* 2011; 62-68.
  159. Vescovi P, Manfredi M, Meleti M, Merigo E. Bisphosphonate-associated osteonecrosis (BON) of the jaws: a possible treatment? *J Oral Maxillofac Surg* 2006; 64(9): 1460–1462.
  160. Posten W, Wrone DA, Dover JS, Arndt KA, Silapunt S, Alam M. Low-Level Laser Therapy for wound healing: mechanism and efficacy. *Dermatol Surg* 2005; 31(3): 334–340.

161. Garavello-Freitas I, Baranauskas V, Joazeiro PP, Padovani CR, Dal Pai-Silva M, da Cruz-Höfling MA. Low-power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organization during tibia wound healing in rats. *J Photochem Photobiol B*. 2003; 70(2): 81–89.
162. Vescovi P, Meleti M, Merigo E, Manfredi M, Fornaini C, Guidotti R, Nammour S. Case series of 589 tooth extractions in patients under bisphosphonates therapy. Proposal of a clinical protocol supported by Nd:YAG low-level laser therapy. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013; 18(4): 680-685.
163. Vescovi P, Conti S, Merigo E, Ciociola T, Polonelli L, Manfredi M, Meleti M, Fornaini C, Rocca JP, Nammour S. In vitro bactericidal effect of Nd:YAG laser on *Actinomyces israelii*. *Lasers Med Sci* 2013; 28(4): 1131–1135.
164. Vescovi P, Merigo E, Manfredi M, Meleti M, Fornaini M, Bonanini M, Rocca JP, Nammour S. Nd:YAG laser biostimulation in the treatment of bisphosphonate-associated necrosis of the jaw: clinical experience in 28 cases. *Photomed Laser Surg* 2008; 26(1): 37–46.
165. Curti M, Rocca JP, Bertrand MF, Nammour S. Morpho structural aspect of Er:YAG prepared class V cavities. *J Clin Laser Med Surg* 2004; 22(2): 119-124.
166. Vescovi P, Manfredi M, Merigo E, Meleti M, Fornaini C, Rocca JP, Nammour S. Surgical approach with Er:YAG laser on osteonecrosis of the jaws (ONJ) in patients under bisphosphonate therapy (BPT). *Lasers Med Sci* 2010; 25(1): 101–113.
167. Graziani F, Vescovi P, Campisi G, Favia G, Gabriele M, Gaeta GM, Gennai S, Gioia F, Miccoli M, Peluso F, Scoletta M, Solazzo L, Colella G. Resective surgical approach shows a high performance in the management of advanced cases of bisphosphonate-related osteonecrosis of the Jaws: a retrospective survey of 347 Cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2012; 70(11): 2501–2507.
168. Campisi G, Bedogni A, Di Fede O, Vescovi P, Fusco V, Lo Muzio L. Osteonecrosis of the jaw related to bisphosphonates, denosumab and anti-angiogenics in cancer and osteoporotic patients: diagnosis and management. *Dent Cadmos* 2013; 9: 566–589.
169. Albanese A, Licata ME, Polizzi B, Campisi G. Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immun Ageing* 2013; 10(1): 23.
170. 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. *Curr Ther Res Clin Exp* 2008; 69(4): 356-362.
171. Chan HL, McCauley LK. Parathyroid hormone applications in the craniofacial skeleton. *J Dent Res* 2013; 92(1): 18-25.
172. Chiang YC, Zebaze RMD, Ghasem-Zadeh A, Iuliano-Burns S, Hardidge A, Seeman E. Teriparatide improves bone quality and healing of atypical femoral fractures associated with bisphosphonate therapy. *Bone* 2013; 52: 360–365.
173. Harper R, Fung E. Resolution of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the mandible: possible application for intermittent low-dose parathyroid hormone [rhPTH(1-34)]. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65: 573-580.

174. Cheung A, Seeman E. Teriparatide therapy for alendronate-associated osteonecrosis of the jaw. *N Engl J Med* 2010; 363: 2473-2474.
175. Narongroeknawin P, Danila MI, Humphreys LG Jr, Barasch A, Curtis JR. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw, with healing after teriparatide: a review of the literature and a case report. *Spec Care Dentist* 2010; 30: 77-82.
176. Lee JJ, Cheng SJ, Jeng JH, Chiang CP, Lau HP, Kok SH. Successful treatment of advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible with adjunctive teriparatide therapy. *Head Neck* 2011; 33: 1366-1371.
177. Kwon YD, Lee DW, Choi BJ, Lee JW, Kim DY. Short-term teriparatide therapy as an adjunctive modality for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Osteoporos Int*. 2012; 23(11): 2721-2725.
178. Narváez J, Narváez JA, Gómez-Vaquero C, Nolla JM. Lack of response to teriparatide therapy for bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *Osteoporos Int* 2013; 24(2): 731-733.
179. Vescovi P, Merigo E, Meleti M, Manfredi M, Fornaini C, Nammour S, Mergoni G, Sarraj A, Bagan JV. Conservative surgical management of stage I bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Int J Dent* 2014; 2014: 107690, p.1-8.
180. Lau AN, Adachi JD. Resolution of osteonecrosis of the jaw after teriparatide [recombinant human PTH-(1-34)] therapy. *J Rheumatol*. 2009; 36(8): 1835-1837.
181. Moncada S, Gryglewski B, Bunting S, Vane IB. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976; 263: 663-665.
182. Moncada S, Vane JR. Unstable metabolites of arachidonic acid and their role in haemostasis and thrombosis. *Br Med Bull*. 1978; 34: 129-135.
183. Rademaker M, Cooke ED, Almond NE, Beacham JA, Smith RE, Mant TG, Kirby JD. Comparison of intravenous infusion of iloprost and oral nifedipin in treatment of Reynaud's phenomenon in patient with systemic sclerosis: atherosclerosis double blind randomised study. *Br Med J* 1989; 298: 561-564.
184. Wigley FM, Lima JA, Mayes M, McClain, Chapin JL, Ward-Able C. The prevalence of undiagnosed pulmonary arterial hypertension in subjects with connective tissue disease at the secondary health care level of community-based rheumatologists (the UNCOVER study) 2005; 52: 2125-2132.
185. Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time? *Sepsis Crit Care Med* 1998; 26: 2078-2086.
186. Dellinger RP. Current therapy for sepsis. *Infect Dis Clin North Am* 1999; 13: 495-509.
187. Radauceanu A, Avignon A, Ribstein J, Monnier L. Use of a prostacyclin analogue in cholesterol crystal embolism. 1998; 15: 262-263.
188. Rosenzweig EB, Kerstein D, Barst RJ. Long-Term Prostacyclin for Pulmonary Hypertension With Associated Congenital Heart Defects. *Circulation* 1999; 99: 1858-1865.

- 189.Olschewski H, Simonneau G, Galié N, Higenbottam T, Naeije R, Rubin LJ, Nikkho S, Speich R, Hoepfer MM, Behr J, Winkler J, Sitbon O, Popov W, Ghofrani HA, Manes A, Kiely DG, Ewert R, Meyer A, Corris PA, Delcroix M, Gomez-Sanchez M, Siedentop H, Seeger W. Inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2002; 347: 322-329.
- 190.Dogan A,Duygun F, Kalender AM, Bayram I and Sungur I. Iloprost inhibits fracture repair in rats. *Chin Med J* 2014; 127(16): 2960-2965.
- 191.Karabay Ö, Silistreli E, Erdal C, Önoel H, Algın İ, Güzeloğlu M, Yürekli İ, Kılıcı G, Açıklı Ü. Ciddi periferik arter hastalığında intravenöz iloprost tedavisi sonuçları. *Turkish J Vasc Surg* 2005; 14: 21-26.
- 192.Tokgöz N, Karamustafa H, Şimşek S,Ergin F, Keçecigil HT. Periferik Arter Hastalarında İloprost İnfüzyonunun Yan Etkileri. *Dirim Tıp Gazetesi* 2009; 84(1): 11-14.
- 193.Coskun Benlidayi I, Guzel R. Oral bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw: a challenging adverse effect. *Rheumatol* 2013; 2013: 215034.
- 194.Katsarelis H, Shah NP, Dhariwal DK, Pazianas M. Infection and medication-related osteonecrosis of the jaw. *J Dent Res* 2015; 94(4): 534-539.
- 195.Borumandi F, Aghaloo T, Cascarini L, Gaggl A, Fasanmade K. Anti-resorptive Drugs and their Impact on Maxillofacial Bone among Cancer Patients. *Anticancer Agents Med Chem* 2015; 15(6): 736-743.
- 196.Cucchi A, Caricasulo R, Ghensi P, Malchiodi L, Corinaldesi G. Prevention of mronj using prgf in a totally edentulous patient restored with post-extraction implants. *J Oral Implantol* 2016; 42(3): 299-303.
- 197.Karasneh JA, Al-Eryani K, Clark GT, Sedghizadeh PP. Modified protocol including topical minocycline in orabase to manage medication-related osteonecrosis of the jaw cases. *J Oral Pathol Med* 2016. doi: 10.1111/jop.12419.
- 198.Mergoni G, Vescovi P, Sala R, Merigo E, Passerini P, Maestri R, Corradi D, Govoni P, Nammour S, Bianchi MG. The effect of laser therapy on the expression of osteocalcin and osteopontin after tooth extraction in rats treated with zoledronate and dexamethasone. *Support Care Cancer* 2016; 24(2): 807-813.
- 199.Vescovi P, Giovannacci I, Merigo E, Meleti M, Manfredi M, Fornaini C, Nammour S. Tooth extractions in high-risk patients under bisphosphonate therapy and previously affected with osteonecrosis of the jaws: surgical protocol supported by low-level laser therapy. *J Craniofac Surg.* 2015; 26(3): 696-699.
- 200.Berrone M, Florindi FU, Carbone V, Aldiano C, Pentenero M. Stage 3 Medication-Related Osteonecrosis of the Posterior Maxilla: Surgical Treatment Using a Pedicled Buccal Fat Pad Flap: Case Reports. *J Oral Maxillofac Surg* 2015; 73(11): 2082-2086.
- 201.Nagaoka Y, Kajiya H, Ozeki S, Ikebe T, Okabe K. Mevalonates restore zoledronic acid-induced osteoclastogenesis inhibition. *J Dent Res* 2015; 94(4): 594-601.
- 202.Auer J, Goodship A, Arnoczky S, Pearce S, Price J, Claes, L, von Rechenberg B,Hofmann-Amttenbrinck M, Schneider E, Müller-Terpitz R, Thiele F, Rippe



- KP, Grainger DW. Refining animal models in fracture research: seeking consensus in optimising both animal welfare scientific validity for appropriate biomedical use. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2007; 8: 72.
203. Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater* 2007; 13: 1-10.
204. Egermann M, Goldhahn J, Schneider E. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int* 2005;16(2): 129-138.
205. Pazianas M, Miller P, Blumentals WA, Bernal M, Kothawala P. A review of the literature on osteonecrosis of the jaw in patients with osteoporosis treated with oral bisphosphonates: prevalence, risk factors, and clinical characteristics. *Clin Ther* 2007; 29(8): 1548-1558.
206. Otto S, Abu-Id MH, Fedele S, Warnke PH, Becker ST, Kolk A, Mücke T, Mast G, Köhnke R, Volkmer E, Haasters F, Lieger O, Iizuka T, Porter S, Campisi G, Colella G, Ploder O, Neff A, Wiltfang J, Ehrenfeld M, Kreusch T, Wolff KD, Stürzenbaum SR, Schieker M, Pautke C. Osteoporosis and bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: not just a sporadic coincidence--a multi-centre study. *J Craniomaxillofac Surg* 2011; 39(4): 272-277.
207. Pazianas M, Blumentals WA, Miller PD. Lack of association between oral bisphosphonates and osteonecrosis using jaw surgery as a surrogate marker. *Osteoporos Int* 2008; 19(6): 773-779.
208. Mavrokokki T, Cheng A, Stein B, Goss A. Nature and frequency of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in Australia. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65(3): 415-23.
209. Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med* 2006; 144(10): 753-761.
210. Papapoulos S, Chapurlat R, Libanati C, Brandi ML, Brown JP, Czerwiński E, Krieg MA, Man Z, Mellström D, Radominski SC, Reginster JY, Resch H, Román Ivorra JA, Roux C, Vittinghoff E, Austin M, Daizadeh N, Bradley MN, Grauer A, Cummings SR, Bone HG. Five years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the first two years of the FREEDOM extension. *J Bone Miner Res* 2012; 27(3): 694-701.
211. Orwoll E, Teglbyærg CS, Langdahl BL, Chapurlat R, Czerwiński E, Kendler DL, Reginster JY, Kivitz A, Lewiecki EM, Miller PD, Bolognese MA, McClung MR, Bone HG, Ljunggren Ö, Abrahamsen B, Gruntmanis U, Yang YC, Wagman RB, Siddhanti S, Grauer A, Hall JW, Boonen S. A randomized, placebo-controlled study of the effects of denosumab for the treatment of men with low bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(9): 3161-3169.
212. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR, Delmas P, Zoog HB, Austin M, Wang A, Kutilek S, Adami S, Zanchetta J, Libanati C, Siddhanti S, Christiansen C; FREEDOM Trial. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009; 361(8): 756-765.

213. Bone HG, Chapurlat R, Brandi ML, Brown JP, Czerwinski E, Krieg MA, Mellström D, Radominski SC, Reginster JY, Resch H, Ivorra JA, Roux C, Vittinghoff E, Daizadeh NS, Wang A, Bradley MN, Franchimont N, Geller ML, Wagman RB, Cummings SR, Papapoulos S. The effect of three or six years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the FREEDOM extension. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(11): 4483-4492.
214. Stopeck AT, Lipton A, Body JJ, Steger GG, Tonkin K, de Boer RH, Lichinitser M, Fujiwara Y, Yardley DA, Viniegra M, Fan M, Jiang Q, Dansey R, Jun S, Braun A. Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer: a randomized, double-blind study. *J Clin Oncol* 2010; 28(35): 5132-5139.
215. Gimsing P, Carlson K, Turesson I, Fayers P, Waage A, Vangsted A, Mylin A, Gluud C, Juliusson G, Gregersen H, Hjorth-Hansen H, Nesthus I, Dahl IM, Westin J, Nielsen JL, Knudsen LM, Ahlberg L, Hjorth M, Abildgaard N, Andersen NF, Linder O, Wisløff F. Effect of pamidronate 30 mg versus 90 mg on physical function in patients with newly diagnosed multiple myeloma (Nordic Myeloma Study Group): a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010; 11(10): 973-982.
216. Henry DH, Costa L, Goldwasser F, Hirsh V, Hungria V, Prausova J, Scagliotti GV, Sleeboom H, Spencer A, Vadhan-Raj S, von Moos R, Willenbacher W, Woll PJ, Wang J, Jiang Q, Jun S, Dansey R, Yeh H. Randomized, double-blind study of denosumab versus zoledronic acid in the treatment of bone metastases in patients with advanced cancer (excluding breast and prostate cancer) or multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2011; 29(9): 1125-1132.
217. Kuroshima S, Kovacic BL, Kozloff KM, McCauley LK, Yamashita J. Intra-oral PTH administration promotes tooth extraction socket healing. *J Dent Res* 2013; 92(6): 553-559.
218. Zhao X, Hu D, Qin J, Mohanan R, Chen L. Effect of bisphosphonates in preventing femoral periprosthetic bone resorption after primary cementless total hip arthroplasty: a meta-analysis. *J Orthop Surg Res* 2015; 10: 65.
219. Hokugo A, Christensen R, Chung EM, Sung EC, Felsenfeld AL, Sayre JW, Garrett N, Adams JS, Nishimura I. Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res* 2010; 25(6): 1337-1349.
220. Marino KL, Zakhary I, Abdelsayed RA, Carter JA, O'Neill JC, Khashaba RM, Elsalanty M, Stevens MR, Borke JL. Development of a rat model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *J Oral Implantol* 2012; 38: 511-518.
221. Kobayashi Y, Hiraga T, Ueda A, Wang L, Matsumoto-Nakano M, Hata K, Yatani H, Yoneda T. Zoledronic acid delays wound healing of the tooth extraction socket, inhibits oral epithelial cell migration, and promotes proliferation and adhesion to hydroxyapatite of oral bacteria, without causing osteonecrosis of the jaw, in mice. *J Bone Miner Metab* 2010; 28(2): 165-175.
222. Bi Y, Gao Y, Ehrchiou D, Cao C, Kikuri T, Le A, Shi S, Zhang L. Bisphosphonates cause osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *Am J Pathol* 2010; 177(1): 280-290.

223. Aguirre JI, Akhter MP, Kimmel DB, Pingel JE, Williams A, Jorgensen M, Kesavalu L, Wronski TJ. Oncologic doses of zoledronic acid induce osteonecrosis of the jaw-like lesions in rice rats (*Oryzomys palustris*) with periodontitis. *J Bone Miner Res* 2012; 27(10): 2130-2143.
224. Barba-Recreo P, Del Castillo Pardo de Vera JL, García-Arranz M, Yébenes L, Burgueño M. Zoledronic acid - related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *J Craniomaxillofac Surg* 2014; 42(6): 744-750.
225. Amanat N, McDonald M, Godfrey C, Bilston L, Little D. Optimal timing of a single dose of zoledronic acid to increase strength in rat fracture repair. *J Bone Miner Res* 2007; 22(6): 867-876.
226. Astrand J, Harding AK, Aspenberg P, Tägil M. Systemic zoledronate treatment both prevents resorption of allograft bone and increases the retention of new formed bone during revascularization and remodelling. A bone chamber study in rats. *BMC Musculoskelet Disord* 2006; 7: 63.
227. Huja SS, Fernandez SA, Phillips C, Li Y. Zoledronic acid decreases bone formation without causing osteocyte death in mice. *Arch Oral Biol* 2009; 54(9): 851-856.
228. Senel FC, Kadioglu Duman M, 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; 109(3): 385-391.
229. Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, Moimas S, Dore F, Pozzato G, Cavalli F, Zanconati F, Contardo L, Giacca M, Di Lenarda R. A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *J Oral Pathol Med* 2010; 39(5): 390-396.
230. Maahs MP, Azambuja AA, Campos MM, Salum FG, Cherubini K. Association between bisphosphonates and jaw osteonecrosis: a study in Wistar rats. *Head Neck* 2011; 33(2): 199-207.
231. Cankaya AB, Erdem MA, Isler SC, Demircan S, Soluk M, Kasapoglu C, Oral CK. Use of cone-beam computerized tomography for evaluation of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in an experimental rat model. *Int J Med Sci* 2011; 8(8): 667-672.
232. Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, Shoff M, Ronconi M, Gotcher JE, Bezouglaia O, Dry SM, Tetradis S. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J Bone Miner Res* 2011; 26(8): 1871-1882.
233. Cooke ED, Nicolaidis AN. Raynaud's syndrome. *BMJ* 1990; 300(6724): 553-555.
234. Diehm C, Abri O, Baitsch G, Beck K, Breddin HK, Brock FE, Clevert HD, Corovic D, Marshall M, Rahmel B, Scheffler P, Schmidt W, Oberender H. Alloprost, ein stabiles Prostacyclin derivat, bei arterieller Verschlusskrankheit im Stadium IV. *Dtsch med Wschr* 1989; 114: 783-788.
235. Fiessinger JN, Schafer M. Trial of Iloprost vs. Aspirin treatment for critical limb ischemia of thromboangiitis obliterans. *Lancet* 1990; 335: 555-557.

236. McHugh NJ, Csuba M, Watson H, Belcher E, Amadi A, Ringe EFJ, Black CM, Maddison PJ. Infusion of Iloprost, a prost, a prostacyclin analogue, for treatment of Raynaud's phenomenon in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 1988; 47: 43–49.
237. Nogren L, Alwark A, Angqvist KA, Hedberg B, Berqvist D, Takolander R, Claes G, Lundell A, Holm J, Jivegard L, Risberg B, Ortengren T, Ortenwall P, et al. A stable prostacyclin analogue (iloprost) in the treatment of ischaemic ulcers of the lower limb. A Scandinavian –Polish placebo –controlled, randomised multicentre study. *Eur J Vasc Surg* 1990; 4: 463–467.
238. Balzer K, Bechara G, Bisler H, Cleverth D, Diehm C, Heisg G, Held K, Mahfoud Y, Moerl H. Placebo controlled double -blind multicentre study on the efficacy of Iloprost in the treatment of ischaemic rest pain in patients with peripheral arterial circulatory disease. *Vasa Suppl* 1987; 20: 379–381.
239. Hildebrand M, Krause W, Oberender HA, Zurdel- Dillinger S, Jünger M, Bodenburg H. Pharmacokinetics of iloprost in patients with severe peripheral arterial occlusive disease. *Eicosanoids* 1990; 3: 145–148.
240. Witt W, Baldus B, Müller B. Antithrombotic profile of iloprost in experimental models of arterial and venous thrombosis. In Gryglewski RJ, Stok G (eds). *Prostacyclin and its Stable Analogue Iloprost*. Berlin: Springer Verlag, 1987, p.81–90.
241. Müller B, Krast T, Stürzebecher S, Witt W, Schillinger E, Baldus B. Potential therapeutic mechanisms of stable prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) - mimetics in severe peripheral vascular disease. *Acta Biomed Biochim* 1988; 47: 40–44.
242. Grant SM, Goa KL. Iloprost. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in peripheral vascular disease, myocardial ischemia and extracorporeal circulation procedures. *Drugs* 1992; 43(6): 889–924.
243. Caspary L, Creutzig A, Alexander K. Intravenous infusion iloprost in arterial occlusive disease: Dose –dependent effects on skin microcirculation. *Eur J Clin Pharmacol* 1991; 41: 131–136.
244. Buigardini R, Galvani M, Ferrini D, Gridelli C, Tollemeto D, Macri N, Puddu P, Lenzi S. Myocardial ischaemia during intravenous prostacyclin administration: Hemodynamic findings and precautionary measures. *Am Heart J* 1987; 113: 234–240.
245. Dormandy JA. Clinical experience with iloprost in the treatment of critical leg ischaemia. In: Rubanyi GM, ed. *Cardiovascular Significance of Endothelium-Derived Vasoactive Factors*. New York: Futura Publishing 1991; 335–347.
246. Karatepe O, Cakir A, Unal O, Battal M, Adas G, Kamali G, Kemik A, Aydin T, Kamali S, Karahan SR, Aksoy M. Iloprost reduces colonic injury in ischemic colitis in rats. *Acta Cir Bras* 2011; 26(3): 220-226.
247. Vasiliadis K, Kanellos I, Tsachalis T, Blouhos K, Zaraboukas T, Koliakos G, Betsis D. Influence of the stable prostacyclin analog iloprost on the healing of colonic anastomosis in rats. *Minerva Chir* 2007; 62(4): 241-248.
248. Yamashita J, Koi K, Yang DY, McCauley LK. Effect of zoledronate on oral wound healing in rats. *Clin Cancer Res* 2011; 17(6): 1405-1414.

249. Marx RE, Cillo Jr JE, Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65(12): 2397–2410.
250. Kwon YD, Kim DY, Ohe JY, Yoo JY, Walter C. Correlation between serum C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen and staging of oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67(12): 2644–2648.
251. Kunchur R, Need A, Hughes T, Goss A. Clinical investigation of C-terminal cross-linking telopeptide test in prevention and management of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 67(6): 1167–1173.
252. Kim JW, Kong KA, Kim SJ, Choi SK, Cha IH, Kim MR. Prospective biomarker evaluation in patients with osteonecrosis of the jaw who received bisphosphonates. *Bone* 2013; 57(1): 201–205.
253. Lopez-Carrizosa MC, Samper-Ots PM, Perez AR. Serum C-telopeptide levels predict the incidence of skeletal-related events in cancer patients with secondary bone metastases. *Clin Transl Oncol* 2010; 12(8): 568–573.
254. Kimmel DB, Recker RR, Gallagher JC, Vaswani AS, Aloia JF. A comparison of iliac bone histomorphometric data in post-menopausal osteoporotic and normal subjects. *Bone Miner* 1990; 11(2): 217-235.
255. 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(2): 164-172.
256. Tamás L, Huttová J, Mistrk I, Kogan G. Effect of carboxymethyl chitin-glucan on the activity of some hydrolytic enzymes in maize plants. *Chem Pap* 2002; 56(5): 326-329.
257. Haspolat K, Söker M. Kemiğe ait biyokimyasal değerler ve onkoloji. *Dicle Tıp Dergisi (Journal of Medical School)* 2002; 29(3): 83-89.
258. Calvo MS, Eyre DR, Gunndgerg CM. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endocrine Society* 1996; 17(4): 333-368.
259. Szulc P, Seeman E, Delmas PD. Biochemical measurements of bone turnover in children and adolescents. *Osteoporosis Int* 2000; 11: 281-294.
260. Hoemann CD, El-Gabalawy H, McKee MD. In vitro osteogenesis assays: influence of the primary cell source on alkaline phosphatase activity and mineralization. *Pathol Biol (Paris)* 2009; 57(4): 318–323.
261. Sánchez-Sánchez LM, Cabrera-Pedroza AU, Palacios-Saucedo G, de la Fuente-Cortez B. Zoledronic acid (zoledronate) in children with osteogenesis imperfecta. *Gac Med Mex* 2015; 151(2): 164-168.
262. Patel CG, Yee AJ, Scullen TA, Nemani N, Santo L, Richardson PG, Laubach JP, Ghobrial IM, Schlossman RL, Munshi NC, Anderson KC, Raje NS. Biomarkers of bone remodeling in multiple myeloma patients to tailor bisphosphonate therapy. *Clin Cancer Res* 2014; 20(15): 3955-3961.

263. Kemper O, Herten M, Fischer J, Haversath M, Beck S, Classen T, Warwas S, Tassemeier T, Landgraeber S, Lensing-Höhn S, Krauspe R, Jäger M. Prostacyclin suppresses twist expression in the presence of indomethacin in bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Med Sci Monit* 2014; 20: 2219-2227.
264. Tello-Montoliu A, Patel JV, Lip GY. Angiogenin: a review of the pathophysiology and potential clinical applications. *J Thromb Haemost* 2006; 4(9): 1864-1874.
265. Gao X, Xu Z. Mechanisms of action of angiogenin. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2008; 40(7): 619-624.
266. Hu GF. Limited proteolysis of angiogenin by elastase is regulated by plasminogen. *J Protein Chem* 1997; 16(7): 669-679.
267. Shimoyama S, Shimizu N, Tsuji E, Yamasaki K, Kawahara M, Kaminishi M. Distribution of angiogenin and its gene message in colorectal cancer patients and their clinical relevance. *Anticancer Res* 2002; 22(2B): 1045-1052.
268. Ribeiro V, Garcia M, Oliveira R, Gomes PS, Colaço B, Fernandes MH. Bisphosphonates induce the osteogenic gene expression in co-cultured human endothelial and mesenchymal stem cells. *J Cell Mol Med* 2014; 18(1): 27-37.
269. Doganci S, Yildirim V, Yesildal F, Erol G, Kadan M, Ozkan G, Avcu F, Ozgurtas T. Comparison of angiogenic and proliferative effects of three commonly used agents for pulmonary artery hypertension (sildenafil, iloprost, bosentan): is angiogenesis always beneficial? *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19(10): 1900-1906.
270. Di Stefano R, Barsotti MC, Melillo E, Iorio M, Santoni T, Armani C, Dell'omodarme M, Ristori C, De Caterina R, Balbarini A. The prostacyclin analogue iloprost increases circulating endothelial progenitor cells in patients with critical limb ischemia. *Thromb Haemost* 2008; 100(5): 871-877.
271. Kalluri R. Basement membranes: structure, assembly and role in tumor angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 422-433.
272. Aumailley M, Timpl R. Attachment of cells to basement membrane collagen type IV. *J Cell Biol* 1986; 103: 1569-1575.
273. Kamphaus GD, Colorado PC, Panka DJ, Hopfer H, Ramchandran R, Torre A, Maeshima Y, Mier JW, Sukhatme VP, Kalluri R. Canstatin, a novel matrix-derived inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *J Biol Chem* 2000; 275: 1209-1215.
274. Hamano Y, Zeisberg M, Sugimoto H, Lively JC, Maeshima Y, Yang C, Hynes RO, Werb Z, Sudhakar A, Kalluri R. Physiological levels of tumstatin, a fragment of collagen IV alpha3 chain, are generated by MMP-9 proteolysis and suppress angiogenesis via alphaV beta3 integrin. *Cancer Cell* 2003; 3: 589-601.
275. Maeshima Y, Sudhakar A, Lively JC, Ueki K, Kharbanda S, Kahn CR, Sonenberg N, Hynes RO, Kalluri R. Tumstatin, an endothelial cell-specific inhibitor of protein synthesis. *Science* 2002; 295: 140-143.
276. Betz P, Nerlich A, Wilske J, Tübel J, Wiest I, Penning R, Eisenmenger W. The time-dependent rearrangement of the epithelial basement membrane in human

- skin wounds--immunohistochemical localization of Collagen IV and VII. *Int J Legal Med* 1992; 105: 93-97.
277. Wick G, Glanville RW, Timpl R. Characterization of antibodies to basement membrane (type IV) collagen in immunohistological studies. *Immunobiology* 1980; 156: 372-381.
278. Zhao X, Hu X. Dosing of zoledronic acid with its anti-tumor effects in breast cancer. *J Bone Oncol* 2015; 4(3): 98-101.
279. Pectasides D, Nikolaou M, Farmakis D, Kanakis I, Gaglia A, Kountourakis P, Karamanos NK, Economopoulos T, Raptis SA. Clinical value of bone remodelling markers in patients with bone metastases treated with zoledronic acid. *Anticancer Res* 2005; 25(2B): 1457-1463.
280. Larsson-Callerfelt AK, Hallgren O, Andersson-Sjöland A, Thiman L, Björklund J, Kron J, Nihlberg K, Bjermer L, Löfdahl CG, Westergren-Thorsson G. Defective alterations in the collagen network to prostacyclin in COPD lung fibroblasts. *Respir Res* 2013; 14: 21.
281. Pankov R, Yamada KM. Fibronectin at a glance. *J Cell Sci* 2002; 115(20): 3861-3863.
282. Williams CM, Engler AJ, Slone RD, Galante LL, Schwarzbauer JE. Fibronectin expression modulates mammary epithelial cell proliferation during acinar differentiation. *Cancer Res* 2008; 68(9): 3185-3192.
283. Grinnell F. Fibronectin and wound healing. *J Cell Biochem* 1984; 26(2): 107-116.
284. Valenick LV, Hsia HC, Schwarzbauer JE. Fibronectin fragmentation promotes alpha4beta1 integrin-mediated contraction of a fibrin-fibronectin provisional matrix. *Exp Cell Res* 2005; 309(1): 48-55.
285. George EL, Georges-Labouesse EN, Patel-King RS, Rayburn H, Hynes RO. Defects in mesoderm, neural tube and vascular development in mouse embryos lacking fibronectin. *Development* 1993; 119(4): 1079-1091.
286. Darribère T, Schwarzbauer JE. Fibronectin matrix composition and organization can regulate cell migration during amphibian development. *Mech Dev* 2000; 92(2): 239-250.
287. Hasty DL, Simpson WA. Effects of fibronectin and other salivary macromolecules on the adherence of *Escherichia coli* to buccal epithelial cells. *Infect Immun* 1987; 55(9): 2103-2109.
288. Grinnell F, Billingham RE, Burgess L. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. *J Invest Dermatol* 1981; 76(3): 181-189.
289. Bruhn HD, Heimburger N. Factor-VIII-related antigen and cold-insoluble globulin in leukemias and carcinomas. *Haemostasis* 1976; 5(3): 189-192.
290. Mosher DF. Cross-linking of cold-insoluble globulin by fibrin-stabilizing factor. *J Biol Chem* 1975; 250(16): 6614-6621.
291. Engvall E, Ruoslahti E, Miller EJ. Affinity of fibronectin to collagens of different genetic types and to fibrinogen. *J Exp Med* 1978; 147(6): 1584-1595.

292. Gallo M, De Luca A, Lamura L, Normanno N. Zoledronic acid blocks the interaction between mesenchymal stem cells and breast cancer cells: implications for adjuvant therapy of breast cancer. *Ann Oncol* 2012; 23(3): 597-604.
293. Insalaco L, Di Gaudio F, Terrasi M, Amodeo V, Caruso S, Corsini LR, Fanale D, Margarese N, Santini D, Bazan V, Russo A. Analysis of molecular mechanisms and anti-tumoural effects of zoledronic acid in breast cancer cells. *J Cell Mol Med* 2012; 16(9): 2186-2195.
294. Ruf A, Schlenk RF, Maras A, Morgenstern E, Patscheke H. Contact-induced neutrophil activation by platelets in human cell suspensions and whole blood. *Blood* 1992; 80(5): 1238-46.
295. Yamamoto N, Sakai F, Kon S, Morimoto J, Kimura C, Yamazaki H, Okazaki I, Seki N, Fujii T, Uede T. Essential role of the cryptic epitope SLAYGLR within osteopontin in a murine model of rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 2003; 112(2): 181-188.
296. Shio K, Kobayashi H, Asano T, Saito R, Iwadate H, Watanabe H, Sakuma H, Segawa T, Maeda M, Ohira H. Thrombin-cleaved osteopontin is increased in urine of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2010; 37(4): 704-710.
297. Karkucak M, Capkin E, Akyuz A, Alver A, Kucukali Turkeyilmaz A, Nuhoglu İ, Civan N. Ankilozan spondilitli hastalarda plazma osteopontin düzeyleri. *FU Sag Bil Tıp Derg* 2010; 24(3): 161-165.
298. Choi ST, Kim JH, Kang EJ, Lee SW, Park MC, Park YB, Lee SK. Osteopontin might be involved in bone remodelling rather than in inflammation in ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47(12): 1775-1779.
299. Voskaridou E, Christoulas D, Xirakia C, Varvagiannis K, Boutsikas G, Bilalis A, Kastiris E, Papatheodorou A, Terpos E. Serum Dickkopf-1 is increased and correlates with reduced bone mineral density in patients with thalassemia-induced osteoporosis. Reduction post-zoledronic acid administration. *Haematologica*. 2009; 94(5): 725-728.
300. Reinholt FP, Hulthén K, Oldberg A, Heinegård D. Osteopontin--a possible anchor of osteoclasts to bone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990; 87(12): 4473-5.
301. Chellaiah MA, Kizer N, Biswas R, Alvarez U, Strauss-Schoenberger J, Rifas L, Rittling SR, Denhardt DT, Hruska KA. Osteopontin deficiency produces osteoclast dysfunction due to reduced CD44 surface expression. *Mol Biol Cell* 2003; 14(1): 173-89.
302. Giachelli CM, Bae N, Almeida M, Denhardt DT, Alpers CE, Schwartz SM. Osteopontin is elevated during neointima formation in rat arteries and is a novel component of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1993 Oct; 92(4): 1686-1696.
303. Wang L, Guan X, Tang R, Hoyer JR, Wierzbicki A, De Yoreo JJ, Nancollas GH. Phosphorylation of osteopontin is required for inhibition of calcium oxalate crystallization. *J Phys Chem B* 2008; 112(30): 9151-9157.
304. Liaw L, Birk DE, Ballas CB, Whitsitt JS, Davidson JM, Hogan BL. Altered wound healing in mice lacking a functional osteopontin gene (*spp1*). *J Clin Invest*. 1998; 101(7): 1468-1478.



305. O'Brien ER, Garvin MR, Stewart DK, Hinohara T, Simpson JB, Schwartz SM, Giachelli CM. Osteopontin is synthesized by macrophage, smooth muscle, and endothelial cells in primary and restenotic human coronary atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb*. 1994; 14(10): 1648-56.
306. Lund SA, Giachelli CM, Scatena M. The role of osteopontin in inflammatory processes. *J Cell Commun Signal*. 2009; 3(3-4): 311-322.
307. Chen Y, Bal BS, Gorski JP. Calcium and collagen binding properties of osteopontin, bone sialoprotein, and bone acidic glycoprotein-75 from bone. *J Biol Chem* 1992; 267(34): 24871-24878.
308. Butler WT. Structural and functional domains of osteopontin. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 760: 6-11.
309. Lenga Y, Koh A, Perera AS, McCulloch CA, Sodek J, Zohar R. Osteopontin expression is required for myofibroblast differentiation. *Circ Res*. 2008; 102(3): 319-27.
310. Frisch BJ, Ashton JM, Xing L, Becker MW, Jordan CT, Calvi LM. Functional inhibition of osteoblastic cells in an in vivo mouse model of myeloid leukemia. *Blood* 2012; 119(2): 540-550.
311. Tanaka Y, Abe M, Hiasa M, Oda A, Amou H, Nakano A, Takeuchi K, Kitazoe K, Kido S, Inoue D, Moriyama K, Hashimoto T, Ozaki S, Matsumoto T. Myeloma cell-osteoclast interaction enhances angiogenesis together with bone resorption: a role for vascular endothelial cell growth factor and osteopontin. *Clin Cancer Res* 2007; 13(3): 816-823.
312. Dass CR, Choong PF. Zoledronic acid inhibits osteosarcoma growth in an orthotopic model. *Mol Cancer Ther*. 2007; 6(12): 3263-3270.
313. Eastell R, Blumsohn A. The value of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *J Rheumatol* 1997; 24(6): 1215-1217.
314. Calvo MS, Eyre DR, Gundberg CM. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endocr Rev* 1996; 17 (4): 333-368.
315. Cairns JR, Price PA. Direct demonstration that the vitamin K-dependent bone Gla protein is incompletely gamma-carboxylated in humans. *J Bone Miner Res* 1994; 9(12): 1989-1997.
316. Khasla S, Kleerekoper M. Biochemical markers of bone turnover. In Favus MJ (ed). *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. Fourth edition, Lippincott Williams Wilkins, 1999: 128-134.
317. Kanzaki S, Hosoda K, Moriwake T, Tanaka H, Kubo T, Inoue M, Higuchi J, Yamaji T, Seino Y. Serum propeptide and intact molecular osteocalcin in normal children with growth hormone (GH) deficiency: a potential marker of bone formation and response to GH therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1104-1109.
318. Johansen JS, Giwercman A, Hartwell D, Nielsen CT, Price PA, Christiansen C, Skakkebaek NE. Serum bone Gla-protein as a marker of bone growth in children and adolescents: correlation with age, height, serum insulin-like growth factor I, and serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 273-278.

319. Seibel MJ. Biochemical markers of bone remodeling. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2003; 82: 83-113.
320. Farrugia W, Yates NA, Fortune CL, McDougall JG, Scoggins BA, Wark JD. The effect of uninephrectomy on osteocalcin metabolism in sheep: a direct evaluation of renal osteocalcin clearance. *J Endocrinol* 1991; 130: 213-221.
321. Friedman AL, Heiliczer JD, Gundberg CM, Mak RH, Boineau FG, McEnery PT, Chan JC. Serum osteocalcin concentrations in children with chronic renal insufficiency who are not undergoing dialysis. *J Pediatr* 1990; 116(2): 55-59.
322. Boivin G, Morel G, Lian JB, Anthoine-Terrier C. Localization of endogenous osteocalcin in neonatal rat bone and its absence in articular cartilage: effect of warfarin treatment. *Virchows Arch* 1990; 417: 505-512.
323. Kruse K, Kracht U, Wohlfahrt K, Kruse U. Biochemical markers of bone turnover, intact serum parathyroid hormone renal calcium excretion in patients with pseudo-hypoparathyroidism and hypoparathyroidism before and during vitamin D treatment *Eur J Pediatr* 1989; 148: 553-559.
324. Takami H, Shikata JI. Serum Gla-protein as indicator of parathyroidectomy in patients with secondary hyperparathyroidism. *World J Surg* 1990; 14: 431-435.
325. Gundberg CM, Looker AC, Nieman SD, Calvo MS. Patterns of osteocalcin and bone specific alkaline phosphatase by age, gender, and race or ethnicity. *Bone* 2002; 31(6): 703-708.
326. Bolland MJ, Grey AB, Horne AM, Briggs SE, Thomas MG, Ellis-Pegler RB, Callon KE, Gamble GD, Reid IR. Effects of intravenous zoledronate on bone turnover and BMD persist for at least 24 months. *J Bone Miner Res* 2008; 23(8): 1304-1308.
327. Gasser JA, Ingold P, Venturiere A, Shen V, Green JR. Long-term protective effects of zoledronic acid on cancellous and cortical bone in the ovariectomized rat. *J Bone Miner Res* 2008; 23(4): 544-551.
328. Basso FG, Silveira Turrioni AP, Hebling J, de Souza Costa CA. Zoledronic acid inhibits human osteoblast activities. *Gerontology* 2013; 59(6): 534-541. doi:10.1159/000351194.
329. Turgut B, Güler M, Demir T, Türkçüoğlu P, Çeliker Ü. Oküler Anjiyogenezde Vasküler Endotelial Büyüme Faktörünün Rolü. *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol* 2007; 16(1): 38-46.
330. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219(4587): 983-985.
331. Brown LF, Yeo KT, Berse B, Yeo TK, Senger DR, Dvorak HF, van de Water L. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) by epidermal keratinocytes during wound healing. *J Exp Med* 1992; 176(5): 1375-1379.
332. Frank S, Hübner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing. *J Biol Chem* 1995; 270(21): 12607-12613.

- 333.Lauer G, Sollberg S, Cole M, Flamme I, Stürzebecher J, Mann K, Krieg T, Eming SA. Expression and proteolysis of vascular endothelial growth factor is increased in chronic wounds. *J Invest Dermatol* 2000; 115(1): 12-18.
- 334.Peters KG, De Vries C, Williams LT. Vascular endothelial growth factor receptor expression during embryogenesis and tissue repair suggests a role in endothelial differentiation and blood vessel growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(19): 8915-8919.
- 335.Swift ME, Kleinman HK, DiPietro LA. Impaired wound repair and delayed angiogenesis in aged mice. *Lab Invest.* 1999; 79(12): 1479-1487.
- 336.Howdieshell TR, Callaway D, Webb WL, Gaines MD, Procter CD Jr, Sathyanarayana, Pollock JS, Brock TL, McNeil PL. Antibody neutralization of vascular endothelial growth factor inhibits wound granulation tissue formation. *J Surg Res* 2001; 96(2): 173-182.
- 337.Basso FG, Turrioni AP, Hebling J, de Souza Costa CA. Zoledronic acid decreases gene expression of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor by human epithelial cells. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2013; 51(8): 971-973.
- 338.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(5): 1351-1357.
- 339.Ishtiaq S, Edwards S, Sankaralingam A, Evans BA, Elford C, Frost ML, Fogelman I, Hampson G. The effect of nitrogen containing bisphosphonates, zoledronate and alendronate, on the production of pro-angiogenic factors by osteoblastic cells. *Cytokine* 2015; 71(2): 154-160.

## **BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK**

### **BEYAN**

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

Tezi Hazırlayan

Dt.Burak ÖNER

İmza

Danışman

Prof. Dr. Timuçin BAYKUL

İmza

## **EKLER**

EK-1: SDÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Kararı

EK-2: Tubitak 214S658 Nolu Proje Sözleşmesi

Ek-3: Özgeçmiş



Ek-1



T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : 21438139 - 361  
KONU: Etik Kurul Kararı

06/11/2014

SAYIN  
Prof. Dr. Timuçin BAYKUL  
(SDÜ Diş Hekimliği Fak. Ağız, Diş, Çene Cerrahisi A.D.)

İlgi: 05.11.2014 tarih ve 361 sayılı dilekçenize istinaden, 28.05.2013 tarih ve 03 sayılı düzeltme kararına ek olarak;

**“Bifosfonat verilen ratlarda diş çekimi sonrasında iloprostun yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi”** konulu projeniz için vermiş olduğumuz dilekçe; Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından **06 KASIM 2014** tarih ve **11** sayılı kararı ile uygun bulunmuştur. Kararın bir örneği ekte sunulmuştur. Bilgilerinize rica ederim.

Doc. Dr. İlker UZ  
SDÜ HADYEK Başkanı

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
06.11.2014	26	11






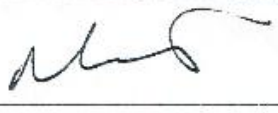
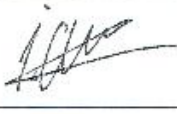
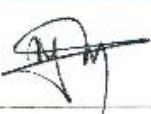

İlgi: 05.11.2014 tarih ve 361 sayılı dilekçenize istinaden, 28.05.2013 tarih ve 03 sayılı düzeltme kararına ek olarak;

Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 06 KASIM 2014 tarihinde Saat 13:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Cerrahisi A.D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. Timuçin BAYKUL'un yürütücüsü olduğu Prof. Dr. Özlem ÖZMEN, Doç. Dr. Gülperi KOÇER, Yrd. Doç. Dr. Özgür KOŞKAN, Doktora Öğrencisi Burak ÖNER'in yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Bifosfonat verilen ratlarda diş çekimi sonrasında iloprostun yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi" başlıklı çalışma;

Deney Hayvanının Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
Sıçan (Sprague Dawley)	Erkek	88	12 hafta / ortalama 300 gr

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

Doç. Dr. Efsan UZ BAŞKAN	Prof. Dr. Münire ÇAKIR BAŞKAN YARDIMCISI	Doç. Dr. İ. Metin ÇIRIŞ ÜYE
		
Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Gülnur ÖZGÜNER ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY ÜYE
		
Öğr. Gör. İbrahim ONARAN ÜYE	Ver. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE
		

Not: Rehabilitasyon için şekerli sonrası jel yem kullanılmaktadır.

Doç. Dr. Efsan UZ  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu  
(SDÜ-HADYER) Başkanı

SDÜ-HADYER Sekreteri: Murat ÖZKAN 0246 211 8770, Faks: 0246 237 1164, E - mail: hadyer@sdue.edu.tr  
Adres: SDÜ Tıp Fak. Morfoloji Binası Zemin Kat (Hastane karşısı) 32260 Çumrular / ISPARTA

## Ek-2

### HARCAMALARI PROJENİN YÜRÜTÜLDÜĞÜ KAMU KURUM veya ÜNİVERSİTE TARAFINDAN GERÇEKLEŞTİRİLECEK HIZLI DESTEK PROGRAMI KAPSAMINDA DESTEKLENEN ARAŞTIRMA PROJELERİNE AİT SÖZLEŞME

#### 1- SÖZLEŞMENİN AMACI VE KAPSAMI

Bu sözleşme, TÜBİTAK tarafından desteklenmesi kabul edilen ve aşağıda bilgileri verilen projenin konusunu, amacını, çalışma programını, bütçe planı ile TÜBİTAK kaynağı kullanılarak yapılacak harcamaların gerçekleştirilmesinde uyulacak kuralları, sözleşmenin idari ve mali diğer hükümlerini ve proje yürütücüsü ile diğer tarafların hak ve sorumluluklarını belirler.

**Proje Numarası** : 214S658  
**Proje Başlığı** : Bifosfonat Verilen Ratlarda Diş Çekimi Sonrasında İlioprostun Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi  
**Program Kodu ve Adı** : 1002 - TÜBİTAK - Hızlı Destek Programı

#### 2- SÖZLEŞMENİN TARAFLARI

Bu sözleşme; projenin yürütüldüğü kurum/kuruluş, projenin fiilen yürütüldüğü birim ve proje yürütücüsü ile projeyi destekleyen kurum olarak Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) arasında aşağıda belirtilen şartlar dahilinde akdedilmiştir.

#### 3- TARAFLARA İLİŞKİN BİLGİLER

##### a) Projenin Yürütüldüğü Kurum/Kuruluş

**Adı** : Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Adresi** : İSPARTA

##### b) Projenin Yürütüldüğü Birim

**Adı** : Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş Ve Çene Hastalıkları Cerrahisi  
**Adresi** : İSPARTA

##### c) Proje Yürütücüsü

**Adı Soyadı** : Prof. Dr. TİMUÇİN BAYKUL  
**Yazışma Adresi** : Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş Ve Çene Hastalıkları Cerrahisi, Isparta

**TC Kimlik Numarası** : 36793605740

**E-posta** : timucinbaykul@yahoo.com

**Tel** : 246-2113251/8848

**Faks** :

**GSM** :

##### d) Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu

Atatürk Bulvarı No:221 06100 Kavaklıdere / ANKARA

#### 4- PROJENİN SÜRESİ VE TOPLAM BÜTÇESİ

**Projenin Başlama Tarihi** : 01/07/2015  
**Projenin Bitiş Tarihi** : 01/07/2016  
**Proje Süresi (ay)** : 12  
**Proje Bütçesi** : 29.000,00 -TL (Yirmidokuzbin TL)

Proje bütçesi, ödeme planı çerçevesinde "Esaslar"a uygun olarak Kurum tarafından açılarak TÜBİTAK'a bildirilen proje özel hesabına transfer edilir.

28



## 5. BİLGİLERDE DEĞİŞİKLİK OLMASI İLE BİLDİRİMLERİN YAPILMASI

5.1. Taraflar yukarıda belirtilen bilgilerde değişiklik olması halinde değişikliği derhal diğer taraflara bildirmeyi taahhüt ederler. Adres bilgilerindeki değişiklikler, onbeş gün içerisinde diğer tarafa bildirilmediği takdirde, eski adrese yapılacak tebligatlar ilgili tarafa yapılmış sayılır.

5.2. Taraflarca gönderilen bildirimler, teslim alındıkları tarihten itibaren geçerli olur. Asıl belgenin on gün içerisinde diğer tarafa ulaşmasını sağlayacak şekilde gönderilmesi kaydıyla, bildirimler faks veya elektronik posta ile de yapılabilir.

## 6. TANIMLAR

6.1. Bu sözleşmede geçen kavramların tanımlanması ve yorumlanmasında, sözleşme eki metinler ile diğer TÜBİTAK mevzuatında yer alan diğer tanımlar kullanılır.

6.2. Bu sözleşmede geçen;

**Projenin Yürütüldüğü Kurum/Kuruluş (Kurum):** TÜBİTAK tarafından desteklenmesi kabul edilen proje karşılığı hesaplarına para aktarılan ve projelerin fiilen yürütüldüğü, genel bütçe kapsamındaki idareleri ve özel bütçeli idareleri,

**Projenin Yürütüldüğü Birim (Birim) :** Proje yürüten, projenin sözleşme ve eklerinde öngörülen plan, takvim ve sözleşme ile ilgili mevzuatta belirtilen kurallara uygun olarak yürütülmesinden sorumlu olan Kurum bünyesindeki birimi (Bölüm, Anabilim Dalı, Enstitü vb.),

**Proje Yürütücüsü:** Bu sözleşmeye taraf olan ve proje yazma, yürütme beceri ve deneyimine sahip, projenin bilimsel, teknik, idari, mali ve hukuki her türlü sorumluluğunu taşıyan ve yazışmaları yapan araştırmacıyı,

**Araştırmacı:** İlgili bilim ve/veya teknoloji alanında gerekli uzmanlığa sahip, projenin bilimsel ve teknik sorumluluğunu paylaşan, sonuç raporunda adı geçecek olan proje yürütücüsü dışındaki araştırmacıları,

**Yardımcı Personel:** Proje yürütücüsünün veya araştırmacıların gözetimi altında, projenin yürütülmesinde tam veya kısmi zamanlı, proje süresiyle sınırlı olarak ve işvereni kurum olmak üzere istihdam edilen, sonuç raporunda adı geçmeyen uzman, teknik eleman, teknisyen, laborant, işçi ve benzeri personeli,

**Bursiyer:** Tatbikat amacıyla projede yer alan, Türkiye’de kurulu yüksek öğretim kurumlarında lisansüstü eğitimlerini yapan öğrenciler ile doktora kişileri,

**Danışman :** Gerek duyulan hallerde, projenin özel uzmanlık gerektiren tali konularından birinde bilgisinden yararlanan araştırmacı veya uzmanı,

**Proje Ekibi:** Proje Yürütücüsü, Araştırmacı, Bursiyer, Yardımcı Personel ve Danışmanlardan oluşan ekibi,

**Gelişme Raporu:** Proje sözleşmesinde belirtilen tarihte TÜBİTAK tarafından belirlenmiş olan format ve usullere uygun olarak sunulan, bilimsel ve mali izleme amacıyla kullanılan rapor,

**Sonuç Raporu:** Proje sözleşmesinde belirtilen bitiş tarihini takiben, TÜBİTAK tarafından istenen format ve usullere uygun olarak sunulan rapor,

**İhale Yetkilisi:** Proje yürütücüsünü,


**Harcama Yetkilisi:** Proje yürütücüsünü,

**Gerçekleştirme Görevlisi:** Proje yürütücüsü tarafından öncelikle proje personeli arasından, olmadığı takdirde ise, Birim veya projenin idari ve mali işlemlerini yürüten birimin personeli arasından görevlendirilen kişi veya kişileri,

**Muhasebe Yetkilisi:** Kurumun muhasebe yetkilisini,

**Özel Hesap:** Kurum tarafından proje adına kamu bankalarından birinde açılan banka hesabını,

**Ekonomik Sınıflandırma Kodları (Harcama Fasılları) :** Proje öneri formunda yer alan ve TÜBİTAK tarafından kabul edilen proje bütçesinde yapılacak harcamaların nitelikleri itibariyle analitik kodlama sistemine uygun olarak gösterildiği bölümleri,

21 

**TÜBİTAK Mevzuatı** : 278 sayılı Kanun ile bu Kanun uyarınca TÜBİTAK yetkili organlarınca usulüne uygun olarak çıkarılmış TÜBİTAK iş ve işlemlerini düzenleyen hukuki metinleri,

**Esaslar**: “TÜBİTAK Kaynaklarından Genel Bütçe Kapsamındaki Kamu İdareleri İle Özel Bütçeli İdarelere Proje Karşılığı Aktarılacak Tutarların Harcanması ve TÜBİTAK Tarafından Yürütülen Dış Destekli Projelerin Harcamalarının Gerçekleştirilmesine İlişkin Esas ve Usuller” ve “Hızlı Destek Programı Esasları” nı,

**Fikri Ürün**: Burada sayılanlarla sınırlı olmamak üzere; projenin yürütülmesi esnasında veya sonucunda ortaya çıkan; patent, faydalı model, endüstriyel tasarım, entegre devre topografyası, yeni bitki ve hayvan türleri ve bunların ıslah yöntemleri, bilgisayar programları ve bunların kaynak kodları ile fikri mülkiyet haklarının konusunu oluşturabilecek nitelikteki her türlü fikri yaratımı,

**Fikri Hak Sahipleri** : Fikri Haklar Esasları uyarınca hak sahibi olarak kabul edilen proje ekibini,

**Fikri Haklar Esasları**: Bu sözleşmenin konusunu teşkil eden projelere yönelik Fikri Haklara ilişkin, TÜBİTAK Mevzuatında yer alan Esaslar”ı ifade eder.

## 7. PROJENİN KAPSAMI, SÜRESİ VE BÜTÇE DEĞİŞİKLİKLERİ

İş bu sözleşmesinin eki niteliğinde olan ve TÜBİTAK tarafından kabul edilen öneri formunda yer alan harcamaların gerçekleştirilmesi esastır. Ancak proje izleme sürecinde, aşağıdaki hususlar çerçevesinde, projenin kapsam, süre ve bütçesinde değişiklikler olabilir.

7.1. TÜBİTAK tarafından verilmesi öngörülen destek miktarı TÜBİTAK’a tahsis edilen bütçe ve nakit imkanları dahilinde geçerli olup, meydana gelebilecek değişikliklerde bu sözleşmenin 11 nci maddesi uygulanır.

7.2. Projenin yürütülmesi sırasında proje konusu, amacı veya yöntemi ile ilgili yeni durum veya gerekliliklerin saptanması halinde, proje yürütücüsünün bu hususlara ilişkin gerekçeli değişiklik talebi TÜBİTAK tarafından karara bağlanır. Bu durumun gerektirdiği ek ödenek ve/veya ek sürenin verilmesi, proje yürütücüsünün belgeleri ve gerekçeleri içeren taleplerinin TÜBİTAK tarafından kabul edilmesi halinde mümkündür. Verilecek ek süre ile birlikte toplam proje süresi en fazla bir yıl olabilir. Ek ödenek ise sadece, proje bütçesinde yer alıp kur artışı nedeniyle alınması mümkün olmayan makine-teçhizat için, proje yürütücüsünün gerekçeli başvurusu, ilgili Grup Yürütme Komitesi Sekreterliğinin olumlu görüşü ile Başkanlıkça kararı ile verilebilir. Ancak, ek ödenek ile birlikte toplam proje bütçesi, proje önerisinin yapıldığı yıl için Bilim Kurulu kararı gereğince bir projeye verilebilen destek üst limitini aşamaz.

7.3. Projelerde öngörülen malzeme veya hizmetin tür ve niceliğinin değiştirilmemesi esas olmakla birlikte, projelerde öngörülen malzeme veya hizmetin tür ve niceliğinin değiştirilmesinin zorunlu olması halinde, buna ilişkin gerekçeli başvuru TÜBİTAK’ın onayı ile karara bağlanır. Bu karar, TÜBİTAK tarafından ilgililere bildirilir.

7.4. Projelerde öngörülen malzeme veya hizmetin tür ve niceliğinin değiştirilmemesi kaydıyla; Proje bütçesinde yer alan ekonomik sınıflandırma kodlarında öngörülen ödeneğin yetersiz kalması durumunda; ekonomik sınıflandırmanın ikinci düzey toplamlarının aynı kalması şartıyla, üçüncü ve dördüncü düzey ekonomik kodlar arasındaki aktarmalar proje yürütücüsü tarafından gerçekleştirilir. Yapılan bu aktarmalara ve gerekçelerine gelişme raporlarında yer verilir.

Ekonomik sınıflandırmanın ikinci düzeyleri arasında aktarma yapılması durumunda ekleme yapılacak ekonomik sınıflandırma kodunda yer alan ödenek toplamının %20’sine kadar yapılacak aktarma proje yürütücüsü tarafından yapılır. Aktarma işleminin veri tabanına işlenmesi için TÜBİTAK’a bilgi verilir. Aktarma oranının %20’yi aşması durumunda, yapılan gerekçeli başvuru TÜBİTAK’ın onayı ile karara bağlanır. Bu değişiklik TÜBİTAK tarafından ilgililere bildirilir.

7.5. Proje süresi ve bütçesinde yapılacak değişikliklerle ilgili olarak burada belirtilmeyen hususlarda, işbu sözleşmenin eki “Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu Araştırma Destek Programları Başkanlığı Tarafından Yürütülen Programlara İlişkin Yönetmelik” ve “Esaslar” çerçevesinde işlem yapılır.

7.6. Sözleşme tarafları, projeye ek ödenek ve ek süre verilmesiyle oluşan yeni durumda işbu sözleşme hükümlerinin uygulanacağını kabul ederler.

22

## 8. MAKİNE VE TEÇHİZAT

8.1. TÜBİTAK kaynakları kullanılarak proje kapsamında makine ve teçhizatın satın alınması; bu makine ve teçhizatın Birim ayniyatında kayıtlı bulunmaması veya Birim ayniyatında mevcut olmakla birlikte bu proje kapsamında kullanılmaması ilkesi doğrultusunda gerçekleştirilir.

8.2. Satın alınan mal ve hizmete ilişkin olarak düzenlenen fatura ve benzeri belgeler, proje numarası belirtilerek, ilgili Kurum adına düzenlenir. Söz konusu makine ve teçhizatın Taşınır Mal Yönetmeliğinde "dayanıklı taşınır" olarak tanımlanan malzeme olması halinde, Kurumun ilgili mevzuat hükümleri çerçevesinde muayene ve kabulü yapılarak Kurum ayniyatına kaydedilir.

8.3. Proje izleme sürecinde, TÜBİTAK söz konusu teçhizatın, diğer araştırmalarda farklı kişilere kullanılmasını talep etmek yetkisine sahiptir. Bu yetki projenin yürütülmesini etkilemeyecek şekilde kullanılır ve proje yürütücüsü ile projenin yürütüldüğü Kurum, TÜBİTAK'ın talebi doğrultusunda işlem yapmayı kabul eder.

## 9. KURUM ve SORUMLULUKLARI

9.1. Kurum, "Esaslar"da kendisine verilen görev çerçevesinde projenin; etkin, sözleşmeye uygun yürütülmesinden ve TÜBİTAK'a gerekli bilgi akışının sağlanmasından; giderlerin kanıtlayıcı belgelerle dayanakları doğru şekilde muhasebeleştirilmesi, evrakların denetime sunulmak üzere saklanması ve raporlanması sorumludur. Ayrıca, iş bu sözleşmenin eki olan "Proje Öneri Formu"nda yer alan "Kabul ve Taahhüt Beyanları (Kurum/Kuruluşlar)" kısmında yer alan hususları kabul ve taahhüt eder.

9.2. Proje personelinin işvereni Kurumdur. Kurum, 4857 sayılı Kanun ve bağlı mevzuatı ile getirilmiş yükümlülüklerle uygun hareket etmekten ve her türlü tedbiri almaktan sorumludur.

9.3. Kurum, tüm proje personelinin çalışma takviminde belirlenmiş olan zamanını projeye ayırabilmesini sağlamakla yükümlüdür.

9.4. Kurum, proje ve projenin çıktılarıyla ilgili olarak basına yapılan açıklama ve kamuoyuna yönelik duyurularda TÜBİTAK'ın desteğini belirtmek zorundadır. Yapılacak hiçbir yayın, iş ve işlemde TÜBİTAK logosu kullanılamaz. TÜBİTAK adına hareket edildiği izlenimini yaratacak hal ve hareketlerde bulunulamaz.

## 10. PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ VE SORUMLULUKLARI

### 10.1. Proje yürütücüsü;

- Projenin bu sözleşme ve eklerinde yer alan hususlara uygun olarak yürütülmesi, geliştirilmesi ve sonuçlandırılmasını sağlayacaktır. Ayrıca bu sözleşmenin eki olan "Proje Öneri Formu"nda yer alan "Kabul ve Taahhüt Beyanları (Proje Ekibi)" kısmında yer alan hususları kabul ve taahhüt eder.
- Bu sözleşme eki proje önerisinde, öngörülen zaman ile katkıyı projeye verecektir. Tüm proje personelinin çalışma takviminde belirlenmiş olan zamanı projeye ayırmasını sağlayacak ve katkılarını takip edecektir.
- Projede iş sağlığı ve güvenliğinin sağlanması için ilgili mevzuatta belirlenmiş her türlü tedbiri almak ve alınmasını sağlamaktan Kurumla birlikte sorumludur.
- Proje ve projenin çıktılarıyla ilgili olarak basına yapılan açıklama ve kamuoyuna yönelik duyurularda TÜBİTAK'ın desteğini belirtmek zorundadır. Yapılacak hiçbir yayın, iş ve işlemde TÜBİTAK logosu kullanılamaz. TÜBİTAK adına hareket edildiği izlenimini yaratacak hal ve hareketlerde bulunamaz. Proje Yürütücüsü, Proje personelinin de bu hükme uygun hareket etmesinden sorumludur.
- Projeye ilgili olarak elde edilecek bilgilerin gizliliğinin sağlanmasını ve korunmasını sağlayacaktır. Proje personelinin gizliliği ihlal eden fiil ve davranışlarından sorumludur.
- Projenin, bilimsel, teknik, idari, hukuki ve mali bakımlardan, bu sözleşme ve TÜBİTAK mevzuatına uygun bir şekilde yürütülmesi ve bu işlemler sırasındaki her türlü kusur ve ihmalden sorumludur.
- İnsan (insana ait biyolojik meteryal ve veriler dahil) ve hayvanların deneysel ya da diğer bilimsel amaçlarla kullanılmasında, ulusal ve uluslararası etik ilkelerine uyulması açısından sorumludur.
- Proje kapsamındaki faaliyetleri Türkiye'de yürürlükte olan mevzuata uygun bir şekilde yürütmek, bu çerçevede ilgili mevzuat kapsamında gereken izinleri almak, bildirimleri yapmak ve elde edilecek verileri iletilmesi gereken kamu kurum ve kuruluşlarına iletmekle yükümlüdür.

24

10.2. Proje önerisinde yer alan araştırmacı ve danışmanlarda değişiklik yapılması, proje yürütücüsünün gerekçeli önerisi ve TÜBİTAK'ın onayı ile mümkündür. Ancak, son gelişme raporu verildikten sonra araştırmacılarda haklı bir neden olmaksızın değişiklik yapılamaz. Projede görev yapan yardımcı personel değişikliklerinin TÜBİTAK'a gelişme raporları ile bildirilmesi yeterlidir.

10.3. Proje yürütücüsü proje ile ilgili olarak TÜBİTAK'a verdiği tüm belgelerde gerçeğe uygun bilgi vereceğini kabul ve taahhüt eder.

10.4. Proje Yürütücüsü proje ile ilgili olarak, TÜBİTAK'a verilen tüm raporların (Gelişme ve Sonuç raporları dahil) içeriğinin doğru olduğunu, raporların içeriğinden dolayı TÜBİTAK'ın sorumlu tutulamayacağını kabul ve taahhüt eder.

## 11. MÜCBİR SEBEPLER

11.1. Doğal afetler, kanuni grev, genel salgın hastalık, kısmi veya genel seferberlik ilanı ile TÜBİTAK tarafından taahhüdün yerine getirilmesine engel olduğu kabul edilen benzeri zorunlu haller mücbir sebep olarak kabul edilebilir. Proje yürütücüsünün kusurundan ileri gelmemiş olmakla birlikte, projenin devamına engel nitelikte bir mücbir sebep meydana geldiği ve tarafların bu durumu ortadan kaldırmaya gücünün yetmediği durumlarda, proje yürütücüsü ve/veya Kurumun söz konusu durumun ortaya çıktığı tarihi izleyen yirmi (20) gün içinde TÜBİTAK'a, durumu belgeleri ve gerekçeleriyle bildirmesi üzerine TÜBİTAK tarafından durum değerlendirilerek mücbir sebebin kabulüne ya da reddine karar verilir.

11.2. Mücbir sebebin TÜBİTAK tarafından kabulü durumunda proje, sebep ortadan kalkana kadar durdurulur. Mücbir sebep ortadan kalkınca TÜBİTAK tarafından projenin devamına karar verilir ve projenin durdurulduğu süre proje süresine ilave edilir. Mücbir sebep projenin sonuçlanmasına engel nitelikte ise bu durumda proje yürürlükten kaldırılır.

11.3. Bu sözleşmenin 7.1 inci maddesinde belirtilen haller mücbir sebep olup; TÜBİTAK'ın, sözleşmenin ifasına ilişkin olarak bu sözleşmede yer alan yükümlülüklerini proje yürütücüsünün ve Kurumun kusuru olmaksızın öngörülen süreler içinde yerine getirememesi ve bu durumun süreklilik arz etmesinin TÜBİTAK tarafından anlaşılması üzerine bu sözleşme hükümlerine göre işlem yapılır.

## 12. GELİŞME RAPORU VE PROJENİN İZLENMESİ

12.1. Gelişme Raporu, proje yürütücüsü tarafından bu sözleşmenin 4. maddesinde belirtilen tarihte, TÜBİTAK tarafından hazırlanmış olan format ve usullere uygun olarak gönderilir. Gelişme Raporunun sözleşmede belirtilen tarihte gönderilmemesi, TÜBİTAK tarafından kabul edilen bir gerekçe bildirilmemesi halinde ve uyarı yazısına rağmen gelişme raporunun gönderilmediği hallerde, projenin iptaline ilişkin hükümler uygulanır.

12.2. TÜBİTAK gerekli gördüğü hallerde projenin gelişimini bilimsel, teknik, idari ve mali açılardan izlemek ve denetlemek üzere yerinde inceleme yapabileceği gibi proje izleyicisi de görevlendirilebilir. Ayrıca, proje ekibini bilgi vermek üzere davet edebilir.

## 13. FİKRİ ve SİNAİ MÜLKİYET HAKLARI

13.1. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından desteklenen projelerin yürütülmesi esnasında veya sonucunda ortaya çıkan fikri ürünler üzerindeki haklar, konuyu düzenleyen "Fikri Haklar Esasları ile belirlenir.

13.2. Hakların Proje Ekibine ait olduğunun ilgili esaslar uyarınca düzenlenmesi halinde, Proje Yürütücüsü, yukarıda belirtilen düzenleme uyarınca fikri ürünler üzerinde hak sahibi olacak kişilerin, fikri mülkiyet hakları üzerinde TÜBİTAK'ın talebi üzerine TÜBİTAK lehine ücretsiz, geri alınamaz (gayrikabili rücu), inhisari olmayan ve fikri mülkiyet hakkının bahşettiği tüm hakları kapsayan bir lisans hakkını vermesini ve tescil şartı bulunan hallerde ilgili sicilde bu lisans hakkının tescilini sağlamakla yükümlüdür.

13.3. Projenin sonucunda 5/12/1951 tarihli ve 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu kapsamında bir eserin ortaya çıkması durumunda ise hak sahipliği bu Kanuna göre düzenlenir. Ancak proje yürütücüsü, fikri hak sahiplerinin TÜBİTAK'a, 5846 sayılı Kanunda düzenlenen bütün mali hakları (işleme, çoğaltma, temsil, basım, yayım, dağıtım) kapsayan basit ruhsat vermesini ve yayımlanmak üzere kabul edilen makaleler, sunulan tebliğler, basılan kitaplar, elektronik yayınlar vb. türündeki her türlü eserin bir örneğinin ilgili Gruba gönderilmesini sağlamakla yükümlüdür. Bilgisayar programları ve bunların kaynak kodları bakımından ise 13.1. ve 13.2. maddede düzenlenen hükümler uygulanır.

13.4. Güvenlik ve ticari çıkar gibi gizlilik gerektiren durumlarda, gizlilik gereklerine uyulması, yayın yapanların veya bu sonuçları uygulamaya aktaranların sorumluluğundadır.

22

13.5. "Fikri Haklar Esasları" bu sözleşmenin ayrılmaz parçası olup proje yürütücüsü bu sözleşmeyi imzalamakla esaslarda yer alan düzenlemelere uygun davranacağını kabul ve diğer fikri hak sahiplerinin de bu Esaslara uygun davranmasını sağlayacağını taahhüt eder. Lisans ve Ruhsat sağlamaya ilişkin olarak taahhütleri içeren bu sözleşmeye ekli taahhütler ise 13.1. madde uyarınca hak sahibi olabilecek kişiler tarafından imzalanır.

#### 14. PROJE YÜRÜTÜCÜSÜNÜN KURUM DEĞİŞTİRMESİ

14.1. Proje yürütücüsünün kurum değiştirmesi halinde; proje yürütücüsü, kurum değişikliğini, projenin yeni Kurumda yürütülebileceğine dair yeni Kurum yetkilisinden aldığı "projenin kurumunda yürütülmesine izin verdiğine; Kurum sıfatı ile projeye gerekli desteği vereceğine; proje sözleşmesi hüküm ve şartlarını bildiğine ve bu hüküm ve şartlara uymayı kabul ve taahhüt ettiğine" dair yazıyı TÜBİTAK'a iletir. Bu husustaki talep, TÜBİTAK tarafından karara bağlanır.

14.2. Talebin uygun bulunması halinde, proje kapsamında daha önce alınan teçhizat ve niteliğine bağlı olarak kalan sarf malzemeleri, proje sonuçlandırıldığında iade edilmek üzere, projenin yürütüleceği kuruma proje yürütücüsü tarafından zimmetli olarak götürülebilir. Bu husustaki talep, proje yürütücüsünün gerekçeli başvurusu üzerine TÜBİTAK tarafından karara bağlanır.

#### 15. DURDURMA, YÜRÜRLÜKTEN KALDIRMA VE İPTAL

15.1. Sözleşmede belirtilen tarihlerde, kabul edilebilir mazeret bildirmeksizin gelişme raporları gönderilmeyen projeler, inceleme sonucunda öngörülen amaç ve çalışma programına uygun biçimde yürütülmediği anlaşılan projeler, mücbir sebeplerle yürütülmeleri geçici olarak olanaksız hale gelen projeler, kurumun ve/veya proje yürütücüsünün başvurusu üzerine veya ilgili grubun gerek görmesi halinde, grup kararı ile geçici olarak durdurulabilir.

15.2. Proje yürütücüsünün başvurusu ve/veya grup tarafından yapılan inceleme sonucu, durdurma gerekçelerinin ortadan kalkması halinde ilgili grubun kararı ile proje yeniden başlatılır ve durdurma süresi proje süresine ilave edilir.

15.3. Durdurma sonrasında, proje yürütücüsünün başvurusu ve/veya grup tarafından yapılan inceleme sonucu mücbir sebeplerle yürütülmeleri olanaksız hale gelen projeler, grubun önerisi ve Başkanlığın kararı ile yürürlükten kaldırılır.

15.4. Durdurma sonrasında proje yürütücüsünün kusur veya ihmali sonucunda yürütülemeyeceği anlaşılan projeler grubun önerisi ve Bilim Kurulunun kararı ile iptal edilir.

15.5. TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Çalışma Esaslarında yer alan hükümler doğrultusunda etiğe aykırı davrandıkları tespit edilen ve TÜBİTAK destekli projelerde görevi olan yürütücü ve/veya araştırmacıların değiştirilmesi sonucunda projenin yürütülüp yürütülemeyeceği ve etik ihlalin proje üzerindeki etkisi hususları ilgili grup tarafından değerlendirilir. Bu yolla yürütülmeleri mümkün görülmemeyen projelerin durumları proje ekibine uygulanacak yaptırımın mahiyetine ve etik ihlalin niteliğine bağlı olarak grubun önerisi üzerine Bilim Kurulu tarafından karara bağlanır.

15.6. İlgili grubun gerek görmesi halinde, proje durdurulmadan da yürürlükten kaldırma veya iptal süreci başlatılabilir.

15.7. Projenin yürürlükten kaldırılması veya iptal edilmesi durumunda; "Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu Araştırma Destek Programları Başkanlığı Tarafından Yürütülen Programlara İlişkin Yönetmelik", "Esaslar" ve işbu sözleşmenin ilgili maddelerine uygun işlem yapılır

#### 16. SONUÇ RAPORU

16.1. Projenin bitiş tarihini izleyen en çok iki ay içinde, projenin bilimsel ve teknik tüm gelişimleri ile sonuçlarını kapsayan sonuç raporu, proje yürütücüsünce, TÜBİTAK tarafından hazırlanmış format ve usullere uygun olarak teslim edilir. TÜBİTAK gerekli gördüğü takdirde, raporun revize edilmesini isteme hakkına sahiptir.

16.2. Rapor TÜBİTAK tarafından kabul edildiği takdirde proje başarıyla sonuçlanmış sayılarak sözleşmenin 17 nci maddesi; raporun reddi halinde ise proje iptal edilerek sözleşmenin 15 inci maddesi hükmü uygulanır.

28

**17 - SÖZLEŞMENİN SONA ERMESİ**

İşbu sözleşmenin 14. maddesinde düzenlenen hükümler saklı kalmak kaydıyla, bu sözleşme, projenin ekte yer alan proje önerisine uygun tamamlanarak, sonuç raporunun TÜBİTAK tarafından kabulü ile sona erer. Proje özel hesabında kalan bakiyenin iadesi hakkında "Esaslar" ve "Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu Araştırma Destek Programları Başkanlığı Tarafından Yürütülen Programlara İlişkin Yönetmelik" hükümleri doğrultusunda işlem yapılır.

**18 - SÖZLEŞMEDEN SONRA YÜRÜRLÜĞE GİRECEK HÜKÜMLERİN BAĞLAYICILIĞI**

**18.1.** İşbu sözleşmenin imza tarihinden sonra gerek TÜBİTAK mevzuatında gerekse diğer mevzuatta yapılacak değişiklikler ve/veya getirilecek yeni düzenlemelerde projenin uygulamasına, değerlendirilmesine ve sonuçlandırılmasına yönelik olarak farklı hükümlerin ihdas edilmesi halinde, sonradan yürürlüğe girecek bu hükümler taraflar yönünden bağlayıcı olacaktır.

**18.2.** Bu değişiklikler, sözleşmenin uygulanmasına esas olmak üzere, uygun vasıtalarla (web sayfası vb) taraflara bildirilir.

**19 - HÜKÜM BULUNMAYAN HALLER**

İşbu sözleşmede hüküm olmayan hallerde, sözleşmenin eki "Esaslar" ile "Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu Araştırma Destek Programları Başkanlığı Tarafından Yürütülen Programlara İlişkin Yönetmelik" hükümleri uygulanır. Anılan


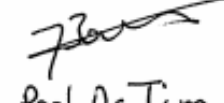


**20 - EKLER**

1. Proje Öneri Formu,
2. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu Araştırma Destek Programları Başkanlığı Tarafından Yürütülen Programlara İlişkin Yönetmelik,
3. Hızlı Destek Programı Esasları,
4. TÜBİTAK Kaynaklarından Genel Bütçe Kapsamındaki Kamu İdareleri ile Özel Bütçeli İdarelere Proje Karşılığı Aktarılarak Tutarların Harcanması ve TÜBİTAK Tarafından Yürütülen Dış Destekli Projelerin Harcamalarının Gerçekleştirilmesine İlişkin Esas ve Usuller,
5. Araştırma Projelerinde Uygulanacak İdari ve Mali Esaslar,
6. Gelişme ve Sonuç Raporu Formatı,
7. Desteklenen Projelerde Uygulanacak Fikri Haklara İlişkin Esaslar,
8. Taahhüt Sözleşmesi,
9. Sözleşme imza ve beyan taahhütnamesi

**21 - İHTİLAFLAR**

Sözleşmenin yorum ve icrasından doğacak anlaşmazlıklar karşılıklı müzakereler ile halledilmeye çalışılacak, bu suretle giderilemeyen bütün uyuşmazlıkların halinde ise T.C. Ankara Mahkemeleri ve İcra Daireleri yetkili olacaktır.

İşbu sözleşme, (21) madde ve (7) sayfadan ibaret olup, aşağıdaki imza sahiplerince tam olarak okunup anlaşıldıktan sonra (1) asıl nüsha olarak imzalanarak TÜBİTAK'ta kalacaktır. Asılma uygunluğu TÜBİTAK tarafından onaylanmış sureti ise Proje Yürütücüsüne verilecektir.

<b>Proje Yürütücüsü</b>	<b>Projenin Yürütüleceği Birim Yöneticisi (*)</b>
İmza 	İmza 
Prof. Dr. TİMUÇİN BAYKUL	Adı Soyadı Prof. Dr. Timuçin Baykul Görevi Dekan, Anabilim Dalı, Bölüm Başkanı
<b>Projenin Yürütüleceği Kurumun Üst Düzey Yöneticisi (**)</b>	
İmza 	Başkan a. Prof. Dr. Erol ARCAKLIOĞLU TÜBİTAK Başkan Yardımcısı V.
Adı Soyadı Prof. Dr. Murat Ali DULUPÇU Görevi Rektör a. Rektör Yardımcısı	16.06.2015

(\*) : Bölüm Başkanı, Anabilim Dalı Başkanı (Tıp Fakülteleri veya Sağlık Bilimleri için), Enstitüsü Müdürü vb.

(\*\*) : Üniversite Rektörü/Rektör Yardımcısı, Genel Müdür vb.

Not:

- 1) Yukarıda belirtilen birimlerin bulunmadığı hallerde, gerekli alan bir üst yöneticisi tarafından imzalanacaktır.
- 2) Proje yürütücülüğü ve/veya birim yöneticiliklerinin aynı kişi tarafından yürütülmesi halinde, söz konusu alanlar aynı kişi tarafından imzalanacaktır.

Sayfa 7/7

28

TÜBİTAK ADINA	HAK SAHİPLERİ	PROJE ÖNERİSİNDE FİKRİ HAKKI
Adı Soyadı: Prof. Dr. Erol ARCAKLIOĞLU TÜBİTAK Başkan Yardımcısı V. İmza : 	Adı Soyadı : Prof. Dr. TİMUÇİN BAYKUL TC Kimlik No : 36793605740 İmza : 	VAR
	Adı Soyadı : Doktora Öğrencisi BURAK ÖNER TC Kimlik No : 29926285216 İmza : 	YOK

Tarih :

27

**TÜBİTAK**  
**PROJE DESTEKLEME SÖZLEŞMESİNİ KARŞI TARAFIN**  
**İMZALANMASINA İLİŞKİN KABUL ve BEYAN TAAHHÜTNAMESİ**

İşbu taahhütnamede geçen "Sözleşme", 214S658 nolu projenin "Proje Destekleme Sözleşmesi"ni ifade eder.

İşbu taahhütname ile;



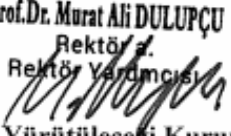
a) Sözleşmenin, 6098 sayılı Türk Borçlar Kanunu'nun 20 ila 25 inci maddeleri çerçevesinde genel işlem koşulları içerdiğini,

b) Sözleşme ekindeki mevcut mevzuatın sözleşmenin ayrılmaz parçası olduğu, sözleşmenin uygulanmasının söz konusu mevzuat kapsamında gerçekleştirileceği ve bahsi geçen mevzuata "<http://www.tubitak.gov.tr/tr/kurumsal/hakkimizda/icerik-mevzuat>" web adresinden erişim sağlanabileceğini,

c) Söz konusu sözleşmenin imzalanmasından önce, anlaşılmayan ve tereddüt duyulan sözleşme ve atıf yapılan mevzuat hükümlerinin içeriği hakkında, tarafımıza bildirilen irtibat noktası ile bağlantıya geçilerek bilgi edinilmesinin mümkün olduğunu,

d) Bu şartlarda sözleşmenin uygun bulunmaması durumunda sözleşmenin imzalanmaması, imzalanmama halinde herhangi bir yükümlülüğün doğmayacağını ve herhangi bir yaptırımla karşılaşmayacağımızı,

ve sözleşme ile ekli mevzuatın içeriğini okuyarak anladığımızı, kabul ettiğimizi taahhüt ederiz.

 <b>Proje Yürütücüsü</b> Prof. Dr. Timuçin BAYKUL	 <b>Projenin Yürütüleceği</b> <b>Birim Yöneticisinin (*)</b> Adı Soyadı
<b>Prof. Dr. Murat Ali DULUPÇU</b> Rektör / Rektör Yardımcısı  <b>Projenin Yürütüleceği Kurumun</b> <b>Üst Düzey Yöneticisinin (**)</b> Adı Soyadı	

(\*) : Bölüm Başkanı, Anabilim Dalı Başkanı (Tıp Fakülteleri veya Sağlık Bilimleri için), Enstitüsü Müdürü vb.

(\*\*) : Üniversite Rektörü/Rektör Yardımcısı, Genel Müdür vb.

Not:

- 1) Yukarıda belirtilen birimlerin bulunmadığı hallerde, gerekli alan bir üst birim yöneticisi tarafından imzalanacaktır.
- 2) Proje yürütücülüğü ve/veya birim yöneticiliklerinin aynı kişi tarafından yürütülmesi halinde, söz konusu alanlar aynı kişi tarafından imzalanacaktır.

22



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı:	Burak	Soyadı:	ÖNER
Doğ. Yeri:	Gölcük	Doğ. Tar:	10.11.1985
Uyruğu:	TC		
Email:	<a href="mailto:burakoner92@hotmail.com">burakoner92@hotmail.com</a>		

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Old. Kurum	Mezuniyet Yılı
Doktora	Süleyman Demirel Üniversitesi Ağız Diş Çene Cerrahisi	2016
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi	2008
Lise	Çanakkale Fen Lisesi	2003
Ortaöğretim	Çanakkale Anadolu Lisesi	2000
İlköğretim	Çanakkale Cumhuriyet İlkokulu	1996

### İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre(yıl-yıl)
Dişhekimisi	Özel Esenyurt Polikliniği(İstanbul)	2008-2009
Diş hekimisi	İzmit Devlet Hastanesi	2009-2010

Yabancı Dilleri	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	80	