

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

**BİFOSFONAT UYGULANAN RATLARDA FİBROBLAST
BÜYÜME FAKTÖRÜ'NÜN DİŞ ÇEKİMİ SONRASI MUKOZA
ANJİOGENEZİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

LEVENT ÖNAL

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Gülperi Koçer

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi tarafından 3198-D2-12 Proje numarası ile desteklenmiştir
Tez. No:93**

2013-İSPARTA

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

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

Tez Savunma Tarihi : 01 / 11 / 2013

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Gülperi KOÇER
Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Samimi DEMİRALP
Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Özlem ÖZMEN
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı Başkanı

Üye : Prof. Dr. Timuçin BAYKUL
Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul Doğuç
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

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

Doç. Dr. Nejdet ADANIR
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca yakın ilgi ve desteğini hissettiğim, doktora tezimin her aşamasında bilgisini ve emeğini esirgemeyen danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Gülperi Koçer'e;

Eğitimime tecrübe ve bilgileriyle pek çok katkıları bulunan hocalarım Prof. Dr. Şenol Tüzüm, Prof. Dr. Timuçin Baykul, Doç. Dr. Nurgül Kömerik, Yrd. Doç. Dr. Bilge Çadır, Yrd. Doç. Dr. Müge Çına Aksoy, Yrd. Doç. Dr. Yavuz Fındık'a

Araştırma verilerimin histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmesini planlayan ve gerçekleştiren Prof. Dr. Özlem Özmen ve Doç. Dr. Mehmet Halıgür'e;

Araştırma verilerimin Biyokimyasal değerlendirmesini planlayan ve gerçekleştiren Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul Doğuç'a;

Araştırmamın 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;

Doktora tezimi destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine;

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

Tez sürecinde bana manevi desteğiyle katkıda bulunan Tuğçe Nalbant' a;

Eğitim sürecim boyunca ve hayatımın her aşamasında bana her bakımdan destek olan sevgili annem Nurcan ÖNAL ve babam Aziz ÖNAL'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay Sayfası	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Önsöz	ii
İçindekiler	v
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	viii
Şekiller Dizini	x
Resimler Dizini	xiii
Tablolar Dizini	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bisfosfonatlar	3
2.1.1. Bisfosfonatların Kimyasal Yapısı	4
2.1.2. Bisfosfonatların Etki Mekanizması	5
2.1.3. Farmakodinamik Özellikleri	7
2.1.4. Farmakokinetik Özellikleri	8
2.1.5. Kullanım alanları	8
2.1.6. Bisfosfonatların Yan Etkileri	11
2.2. Bisfosfonatla İlişkili Çene Osteonekrozu (BİÇO)	13
2.2.1. BİÇO Kliniği ve Derecelendirilmesi	14
2.2.2. BİÇO Risk Faktörleri	16
2.2.3. BİÇO'nun Radyolojik Olarak Değerlendirilmesi	19
2.2.4. BİÇO ve Serum Belirteçleri	21
2.2.5. Ayırıcı Tanı	21
2.2.6. BİÇO'da Tedavi Seçenekleri	22
2.3. Diş Çekim Yarasının İyileşmesi	29
2.3.1. Primer İyileşme	30
2.3.2. Sekonder iyileşme	31
2.4. Damar Gelişimi	32

2.4.1. Vaskülogenezis	32
2.4.2. Anjiogenezis	33
2.5. Fibroblast Büyüme Faktörü	37
2.5.1. Biyolojik Aktiviteleri	37
2.5.2. Formülasyonları	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Deney Hayvanları	40
3.2. Çalışma Grupları	40
3.3. İlaçların Hazırlanması ve Uygulanması	41
3.4. Cerrahi Girişim	42
3.5. Biyopsi Alımı	43
3.6. Operasyon Sonrası Bakım	44
3.7. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme	46
3.8. Biyokimyasal İnceleme	48
3.9. İstatistik	48
4. BULGULAR	50
4.1. Klinik Bulgular	50
4.1.1. Canlı Ağırlık Bulguları	50
4.1.2. Çalışmaya Dahil Edilen Hayvan Sayıları	50
4.2. Biyokimyasal Bulgular	52
4.3. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular	53
5. TARTIŞMA	80
5.1. Deney Hayvanı	80
5.2. Diş çekimi	81
5.3. Biyopsi Zamanı	82
5.4. Deney Sırasında Görülen Komplikasyonlar	82
5.5. ZA Uygulaması	83
5.5.1. Uygulama Şekli	83
5.5.2. Dozu ve Uygulama Zaman Aralığı	83
5.6. bFGF Uygulaması	84
5.7. ZA'nın bFGF Seviyesine Etkisi	84
5.8. Histopatoloji ve İmmünohistokimya	85

5.8.1. Anjiogenezis	85
5.8.2. Epitelizasyon	86
5.8.3. Bağ doku	87
5.8.4. İnfiltrasyon	87
5.8.5. Bifosfonat Uygulaması Sonrası Diş Çekimi Yara İyileşmesine Genel Bakış	88
5.8.6. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)	89
5.8.7. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)	89
5.8.8. Angiogenin	90
5.8.9. İnterökin 8 (IL-8)	91
5.8.1. İnterlökin 3 (IL-3)	91
5.8.2. Trombosit Kaynaklı Endotelyal Hücre Büyüme Faktörü (PD-ECGF)	92
5.8.3. Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör (GCSF)	93
5.8.4. Dönüştürücü Büyüme Faktörü Alfa (TGF- Alfa)	93
5.8.5. Asidik Fibroblast Büyüme Faktörü(aFGF)	94
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	96
ÖZET	97
ABSTRACT	98
KAYNAKLAR	99
EKLER	119
EK 1: SDÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Kararı	119
EK 2: SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Destekleme Protokolü	120
ÖZGEÇMİŞ	121

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAOMS	: Amerika Çene Cerrahları Birliği
aFGF	: Asidik Fibroblast Büyüme Faktörü
ATP	: Adenozin Trifosfat
bFGF	: Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü
BİÇO	: Bifosfonatla İlişkili Çene Osteonekrozu
CTx	: Karboksi Terminal Telopektid
DAP	: Diaminobenzidin
ECM	: Ekstraselüler Matriks
FDA	: Food and Drug Administration
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
FPP	: Farnesil Difosfat
GCSF	: Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör
GGPP	: Geranilgeranil Difosfat
GTPaz	: Glutamil Trans Peptidaz
HCl	: Hidro Klorik Asit
HE	: Hematoksilen Eozin
IL-8	: İnterlökin-8
IL-3	: interlökin-3
IM	: İntramuskuler
IP	: İnterperitoneal
IV	: İntravenöz
KBE	: Kan Beyin Engeli
kDa	: Kilo Dalton, Atomik kütle birimi
kg	: Kilogram
ml	: Mililitre
MMP	: Metalloproteinaz
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
ng	: Nanogram
NTx	: Amino Terminal Telopektit

PBS	: Fosfat Tampon Solüsyon
PD- ECGF	: Platelet Kaynaklı Endotelyal Hücre Büyüme Faktörü
pg	: Pikogram
PP	: Pirofosfat
PDGF	: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PTH	: Paratroid Hormon
Tc99m MDP	: Teknesyum 99m Metilen Difosfoat
TGF-Alfa	: Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa
TGF-Beta	: Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta
TZP	: Trombositten Zengin Plazma
VEGF	: Vaskuler Endotelyal Büyüme Faktörü
ZA	: Zoledronik Asit
>	: Büyüktür
<	: Küçüktür

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1: Bifosfonatların kimyasal formülü. 5
- Şekil 2: ZA uygulama zamanları. 41
- Şekil 3: İlk ZA uygulaması sonrası 3, 14, 21. günlerde bFGF'nin serumdaki miktar değişimleri. 52
- Şekil 4: Birinci grup, birinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi, HE, Bar= 200 µm; B) angiogenin reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) IL-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm. 54
- Şekil 5: Birinci grup, ikinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve yangısal hücre infiltrasyonları, HE, Bar= 200 µm; B) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) ECGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm. 55
- Şekil 6: İkinci grup, birinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve infiltrasyonlar, HE, Bar= 200 µm; B) angiogenin reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; C) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; D) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm. 56
- Şekil 7: İkinci grup, ikinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve epitelizasyon, HE, Bar= 200 µm; B) GCSF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm. 57
- Şekil 8: Üçüncü grup, birinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve şiddetli yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) Angiogenin reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) IL-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; D) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm. 58

Şekil 9: Üçüncü grup, ikinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve şiddetli yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; C) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm. 59

Şekil 10: Dördüncü grup, birinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu; Bar= 100 µm B) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) ECGFb reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar=100µm. 60

Şekil 11: Dördüncü grup, ikinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve epitelizasyon, HE, Bar= 200 µm; B) Angiogenin reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm. 61

Şekil 12: Beşinci grup, birinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) IL-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm. 62

Şekil 13: Beşinci grup, ikinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve hafif yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) Angiogenin reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; C) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm. 63

Şekil 14: Altıncı grup, birinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi, azalmış ve yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) Şiddetli IL-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) Şiddetli ECGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; D) Yoğun TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm. 64

Şekil 15: Altıncı grup, ikinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Epitelizasyon ve yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) ECGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; C) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) IL-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm. 65

Şekil 16: Yedinci grup, birinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve şiddetli yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) Azalmış TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; C) Azalmış GCSF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; D) Azalmış IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm. 66

Şekil 17: Yedinci grup, ikinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve şiddetli yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) Azalmış IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; C) Azalmış VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; D) Azalmış ECGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm. 67

Şekil 18: Sekizinci grup, birinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; D) GCSF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm. 68

Şekil 19: Sekizinci grup, ikinci biyopsi, dış çekim bölgesi. A) Bağ doku gelişimi ve yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; C) aFGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; D) GCSF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar=200 µm. 69

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Bifosfonatla ilişkili çene osteonekrozu (Yrd. Doç. Dr. Gülperi Koçer).	11
Resim 2: BİÇO vakasında ekstraoral fistül (Yrd. Doç. Dr. Gülperi Koçer).	15
Resim 3: BİÇO vakasında görülen patolojik kırık.	15
Resim 4: Panaromik radyografide yaygın sklerozis ve kortikomedüller farklılaşmanın kaybı ile birlikte kortikal kalınlaşma (oklarla işaretli) görülmektedir (Morag et al., 2009).	20
Resim 5: Cerrahi kemik rezeksiyonu.	26
Resim 6: ZA ve bFGF uygulamaları.	42
Resim 7: Diş çekim safhaları.	43
Resim 8: İyileşmiş olan dişetinden biyopsi alınması.	44
Resim 9: Antibiyotik ve ağrı kesici.	45
Resim 10: Diş çekimi sonrası bakım aşaması.	45
Resim 11: Histopatoloji prosedürü.	46

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: R2 zincir yapısındaki farklılığa göre bifosfonatların sınıflandırılması.	4
Tablo 2: Bifosfonatların kullanım alanları, içerikleri, dozajları, kullanım yolları ve FDA onayları.	10
Tablo 3: CTx Serum seviyelerine göre BİÇO riski	21
Tablo 4: AAOMS'un 2009'da önerdiği evreleme ve tedavi protokolü (Khosla et al, 2007, Ruggiero et al, 2009, Allam et al., 2011)	23
Tablo 4: AAOMS'un 2009'da önerdiği evreleme ve tedavi protokolü (Khosla et al, 2007, Ruggiero et al, 2009, Allam et al., 2011) (Devamı)	24
Tablo 5: Bazı anjiogenik faktörler ve etki mekanizmaları	35
Tablo 5: Bazı anjiogenik faktörler ve etki mekanizmaları (Devamı)	36
Tablo 6: Farklı organ sistemleri üzerinde bFGF'nin fonksiyonları (Okada-Ban et al., 2000).	38
Tablo 7: Deney hayvanlarının gruplandırılması.	40
Tablo 8: Birinci biyopsiye dahil edilen sıçan sayısının gruplara göre dağılımı.	51
Tablo 9: İkinci biyopsiye dahil edilen sıçan sayısının gruplara göre dağılımı.	51
Tablo 10: İlk ZA uygulaması sonrası 3, 14, 21. günlerde bFGF'nin serumdaki miktar değişimleri.	52
Tablo 11: Histopatolojik lezyon skorlamaları.	53
Tablo 12: Bütün bFGF dozlarında ZA'nın tüm özelliklere etkisi.	72
Tablo 12: Bütün bFGF dozlarında ZA'nın tüm özelliklere etkisi (Devamı).	73
Tablo 13: ZA uygulaması yapıldığı ve yapılmadığında bütün bFGF dozlarının tüm özelliklere etkisi.	74
Tablo 13: ZA uygulaması yapıldığı ve yapılmadığında bütün bFGF dozlarının tüm özelliklere etkisi (Devamı)	75
Tablo 14: Tüm gruplarda 1. ve 2. biyopsiler arasındaki farklar.	77
Tablo 14: Tüm gruplarda 1. ve 2. biyopsiler arasındaki farklar (devamı).	78

1. GİRİŞ

Bifosfonatlar malignitelere bağlı kemik metastazlarının önlenmesi ve metabolik kemik hastalıklarının tedavisi için yaygın olarak kullanılan ilaçlardır (Tanvetyanon and Stiff 2006). Nitrojen içeren bifosfonatlar, maligniteye bağlı hiperkalsemi, multipl myelomda görülen osteolitik lezyonlar, göğüs ve prostat kanserinde görülen solid tümörlerin kemik metastazları gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Fleisch 1998, Marx et al., 2005, Reid et al., 2007, Scoletta et al., 2010). Kanıtlanmış tedavi etkilerinin yanında bifosfonatlar, bifosfonatla ilişkili çene osteonekrozu (BİÇÖ) olarak bilinen bir komplikasyona neden olmaktadır (Ruggiero and Drew 2007). Klinik olarak BİÇÖ'nun en karakteristik özelliği, bifosfonat kullanan hastalarda baş-boyun bölgesine radyoterapi uygulanmamış hastalarda mukoza ile örtülü olmayan ve 8 haftadır iyileşmeyen nekrotik kemik varlığıdır (Ruggiero and Mehrotra, 2009; Ruggiero et al., 2009; Fedele et al., 2010, Ruggiero 2011). Bifosfonat kullanımının yaygınlaşması nedeniyle BİÇÖ, onkologlar, diş hekimleri, çene cerrahları tarafından ilgi odağı haline gelmiştir. Diş çekimi, bifosfonatla ilgili BİÇÖ oluşmasında en önemli etken olmakla beraber (Kyrgidis et al., 2008), hareketli protez kullanımı, periodontal enfeksiyon ve dental travmaların da BİÇÖ riskini arttırdığı belirtilmiştir (Marx et al., 2005). Bununla birlikte herhangi bir dental hikaye olmaksızın da meydana gelen BİÇÖ vakalarına rastlanabilmektedir (Woo et al., 2006).

BİÇÖ'nun etyopatolojisi henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. BİÇÖ'nun, bifosfonatların anti-anjiogenezis etkisine bağlı olarak sert ve yumuşak dokularda beslenme ve iyileşme bozuklukları meydana gelmesi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir (Marx et al., 2005, Reid et al., 2007). Günümüzde BİÇÖ'nun kemikten mi yoksa yumuşak dokudan mı köken aldığı bilinmemektedir. Bifosfonatların oral mukoza benzeri diğer epitelyal hücrelerdeki etkisi araştırılmamıştır (Landesberg et al., 2008). Yayınlanan bir vaka raporunda alendronat tabletlerini protez altında tutan hastalarda palatal mukozada bifosfonatların toksik etkisine bağlı gastrointestinal çalışmalarda görülene benzer palatal ülserasyon görüldüğu kaydedilmiştir (De Groen 1996, Landesberg et al., 2008). Büyüme faktörleri ve sitokinlerin yara iyileşmesi ve anjiogenezis üzerine

düzenleyici etkileri bulunmaktadır (Sabolinski et al., 1996). Büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımına ait değişiklikler, bifosfonatlar tarafından baskılanmış kemiğin üstündeki yumuşak doku iyileşmesini etkileyebilir(Sabolinski et al., 1996). Angiogenin, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), asidik fibroblast büyüme faktörü (aFGF), transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF-Alfa), platelet kaynaklı endotelial hücre büyüme faktörü (PD- ECGF), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), granülosit koloni uyarıcı faktör (GCSF) gibi büyüme faktörlerinin ve interlökin-8 (IL-8), interlökin-3 (IL-3) sitokinlerinin anjiogenezis ve yara iyileşmesi üzerinde önemli rolleri bulunmaktadır (Wang et al., 1996, Bochsler and Slauson 2002, Li et al., 2003, Zhang et al., 2004, Takagi et al., 2005, Gao and Xu 2008, Pabst et al., 2011, Dominijanni et al., 2012). Nitrojen içeren ve en potent bifosfonat olan Zoledronik asit (ZA)'in belirtilen büyüme faktörleri ve sitokinler içerisinde sadece VEGF üzerindeki etkilerini araştıran çalışma mevcuttur (Mozzati et al., 2013).

Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF)'nün fonksiyonları, endotel hücre çoğalması, hücre göçü ve yeni kan damarı oluşumunun uyarılmasıdır (Bikfalvi et al., 1997, Claus et al., 2004). Miller et al. (2000) ve Okada- Ban et al. (2000), bFGF'nin yara iyileşmesinde önemli görevleri olduğunu belirtmiştir. Bifosfonatların bFGF'nin düzenlediği anjiogenezis üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu yapılan sınırlı sayıda çalışmada belirtilmiştir (Wood et al., 2002, Ribatti et al, 2008). bFGF'nin angiogenin, VEGF, IL-8, aFGF ile sinerjik ilişkide olduğu yapılan çalışmalarda vurgulanmıştır (Pepper et al., 1992, Wang et al., 1996, Kishimoto et al., 2005, Källicke et al., 2007). bFGF'nin IL-3, TGF-Alfa, PD-ECGF, PDGF, GCSF ilişkisini konu alan çalışmaya rastlanmamıştır.

İlerleyen zamanda yapılacak çalışmalara temel oluşturacak bu çalışmanın amaçlarından biri ZA'nın dış çekimi sonrası sekonder iyileşen yumuşak dokuda anjiogenezis, yara iyileşmesi, büyüme faktörleri ve sitokinler üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Çalışmanın diğer bir amacı yumuşak doku iyileşmesi üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinen bFGF'nin, ZA'nın anjiogenezis, yara iyileşmesi, büyüme faktörleri ve sitokinler üzerindeki olumsuz etkilerini tedavi etme konusundaki etkinliğini değerlendirmektir. Bu tezin en önemli amacı BİÇO'ya sebep olduğu düşünülen ZA'nın bu etkisini nasıl gerçekleştirdiğini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bisfosfonatlar

Bifosfonatların ilk sentezi 1865 yılında Almanya'da gerçekleştirilmiştir (Fleisch 1998). Tekstilde ve endüstri alanında anti-koroziv ajan olarak kullanılan bifosfonatlar (Rodan and Fleisch 1996), ayrıca su yumuşatıcısı olarak yağ endüstrisinde ve endüstrinin birçok alanında sıkça kullanılmaktadır (Russell et al., 2007).

Bifosfonatlar, kemik rezorbsiyon inhibitörleri olarak kullanılmaya başlanmadan önce, ilk olarak kalsifikasyon inhibitörleri olarak keşfedilmiştir. Bu konuda yapılan ilk çalışmalar bifosfonatların, pirofosfatlar gibi hidroksi apatit kristallerine bağlandığını ve kristal gelişimini inhibe ettiğini göstermiştir (Russell et al., 2007).

Bifosfonatlar, eski adıyla difosfonatlar, diş macunları içindeki anti-tartar ajanlarda kullanılmaktadır. Bifosfonatların tıpta ilk kullanım alanı da tanı amaçlı kemik görüntüleme sistemleri olmuştur. Sintigrafik tetkiklerde radyoaktif madde olan teknesyum 99m metilen difosfatın (Tc99m MDP) kemiğe taşınmasında bu molekülden yararlanılmaktadır. Bu bileşikler, aktif yapım-yıkımın (turnover) artmış olduğu tümör bölgelerinde, gelişim plaklarında ve kemik greftlerinde yoğun olarak tutulur. Ayrıca Tc99m MDP ile yapılan kemik taramalarında da yapım ve yıkım olaylarının fazla olduğu mandibula ve maksillada yoğun infiltrasyon gösterdikleri bilinmektedir (Marx 2007).

Bu bileşiklerin tıpta yaygın kullanımı ise ancak 1960'lı yıllarda başlamıştır (Russell 2006).

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 (Marx 2007).

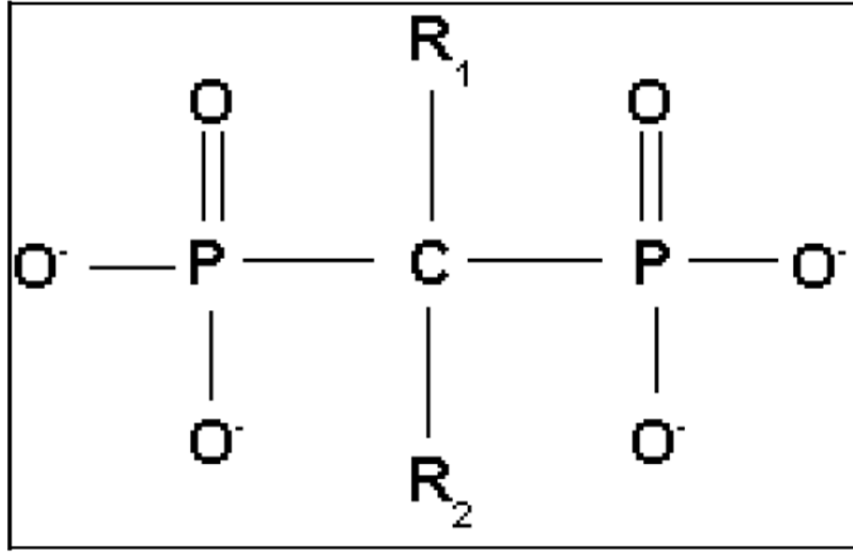
Bifosfonatlar, 1990'lı yılların başında yapılan sınıflamaya göre başlıca 3 gruba ayrılmaktadır. Birinci kuşağı, alkil türevleri olan etidronatın temsil ettiği grup, ikinci kuşağı ise alendronat, ibandronat ve pamidronat gibi terminal gruba sahip aminobifosfonatların temsil ettiği grup oluşturur. Üçüncü kuşağı ise, ZA, risedronat, gibi nitrojen içerikli bifosfonatlardan oluşmaktadır (Tablo 1, Perez- Lopez 2004).

Tablo 1: R2 zincir yapısındaki farklılığa göre bifosfonatların sınıflandırılması.

1. Kuşak Bifosfonatlar	2. Kuşak Bifosfonatlar	3. Kuşak Bifosfonatlar
Etidronat	Pamidronat	Zoledronat
Klodronat	Alendronat	Risedronat
Tiludronat	İbandronat	

2.1.1. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı

Bifosfonatlar, kemik mineralizasyonunun endojen düzenleyicileri olan inorganik pirofosfatlar ile benzer kimyasal yapıda olan bileşiklerdir. Fosfoanhidrid bağları ile bağlı iki fosfat grubundan oluşan pirofosfatlardan (P-O-P) farklı olarak bifosfonatlarda bulunan iki fosfat grubu, oksijen atomu yerine karbon atomuna, fosfo-eter bağları ile bağlanmıştır (P-C-P). Bu yapı, bifosfonatların hidrolize karşı dirençli olmasını, böylelikle klinik kullanıma da uygunluğunu sağlamıştır (Cheng et al., 2005). Ayrıca bifosfonatlar molekül yapılarında pirofosfatlarda bulunmayan R1 ve R2 gruplarını içermektedir. Bu iki grup, molekülün merkezindeki karbon atomuna bağlanmıştır. R1 ile birlikte bulunan fosfonat gruplarının, bifosfonatların kemiğe tutunmalarından sorumlu olduğu, biyoaktif R2 yapının ise bifosfonatların kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkisinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Papapoulos 2006, Şekil 1).



Şekil 1: Bifosfonatların kimyasal formülü.

http://content.answers.com/main/content/wp/en/d/d2/Bisphosphonate_basic_structur_e.png

Bifosfonatların biyolojik ve klinik etkileri, yapılarındaki varyasyonlara bağlı olarak değişmektedir. Özellikle R2 yan zincirindeki nitrojen atomu varlığı önemlidir; en etkili bifosfonatlar, nitrojen içerikli olanlardır (Dimitrakopoulos et al., 2006). Nitrojen içerikli bifosfonatlar, hidrolize karşı oldukça dirençlidir ve yarılanma ömürleri uzundur. Kemik rezorpsiyonunda sıklıkla kullanılan nitrojen içerikli bifosfonatlar alendronat, risedronat, pamidronat, ibandronat ve ZA, içermeyenler ise etidronat, klodronat ve tiludronattır (Cheng et al., 2005, Tablo 2).

2.1.2. Bifosfonatların Etki Mekanizması

Bifosfonatların etki mekanizması “osteoklastlara etki ederek kemik rezorpsiyonunun azaltılması” olarak özetlenebilir. Bifosfonatlar, fizyolojik dozlarda verildiğinde, kemiğe yüksek afiniteleri nedeniyle kemik matriksine kolaylıkla bağlanır (Cheng et al., 2005, Migliorati et al., 2005). Osteoklastik aktivitenin potansiyel inhibitörleridir (Migliorati et al., 2005). Kemik metabolizmasına, osteoklastların hem aktivitesini hem de sayısını azaltarak etki etmektedir (Migliorati

et al., 2005). Bifosfonatların kemikteki etkileri doku, hücrel ve moleküler düzeylerde incelenebilir (Rodan and Fleisch 1996).

Moleküler düzeyde, alkil zincirlerindeki nitrojen atomu, osteoklastlar üzerinde toksik etki yaratır veya osteoklastlardaki spesifik hücre içi mekanizmalara zarar verir (Van Beek et al., 2002). Klodronat ve etidronat gibi nitrojen içermeyen bifosfonatlar, osteoklastlar tarafından metabolize edilerek nonhidrolize adenzin trifosfat (ATP) analoglarına dönüşür. Sitotoksik olan bu metabolitlerin hücre içinde birikimi sonucunda osteoklast fonksiyonu inhibe edilir ve osteoklast apoptozisi gerçekleşir (Van Beek et al., 1999).

Pamidronat, alendronat ve risedronat gibi nitrojen içeren bifosfonatlar ise, nitrojen içermeyen bifosfonatların aksine metabolize edilemez. Nitrojen içeren bifosfonatlar, kolesterol ve izopentenildifosfat, farnesildifosfat (FPP), ve geranilgeranildifosfat (GGPP) gibi izoprenoid lipidlerin sentezinden sorumlu olan, dolayısıyla osteoklast fonksiyonunda önemli olan mevalonat mekanizmasını inhibe ederek etki gösterirler (Fisher et al., 1999, Russell and Rogers 1999). Osteoklastlar, ara ürünlerden farnesil pirofosfat (FPP) ve bundan oluşan geranilgeranil pirofosfatları (geranil PP), ana intraselüler proteinlerden glutamiltranspeptidazları (GTPaz) modifiye ve aktive etmek için kullanırlar. Bu olay prenilasyon olarak adlandırılır. FPP ve GGPP, osteoklast fonksiyonundaki düzenleyici proteinler olan Ras, Rho ve Rac gibi proteinlerin (guanosen trifosfat-bağlayıcı proteinler) prenilasyonu için gerekmektedir. Nitrojen içeren bifosfonatların mevalonat mekanizmasındaki inhibisyonu sonucu hücre proliferasyonu, hayatta kalma süresi ve iskeletsel organizasyondan sorumlu olan bu sinyal moleküllerin prenilasyonu gerçekleşmediğinden osteoklast fonksiyonu engellenmekte ve osteoklastların apoptozu (hücre ölümü) meydana gelmektedir (Fisher et al., 1999, Green 2004).

Doku düzeyinde, tüm aktif bifosfonatların, kemik yapım-yıkımında azalmaya yol açtığı gözlenmiştir. Hücrel düzeyde de, bifosfonatların hedef hücrelerinin 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,
- Kemik mineralinin çözünüm hızını azaltarak engeller, kemikte kalsiyum-fosfor kristallerine bağlanır ve minerallerin fazla çözünmesini engelleyerek kemik rezorpsiyonunu inhibe eder. (Rodan and Fleisch 1996, Meunier et al., 1999, Brown et al., 2002).

Bisfosfonatlar, kemik dokusunda hidroksiapatite etkin bir şekilde bağlanır ve osteoklastların bisfosfonat içeren hidroksiapatit kristallerini fagosite etmesi ile olgun osteoklastlar üzerinde metabolik zarara neden olur. Söz konusu etkiler, bisfosfonat kaplı kemik partiküllerinde de gözlenen dejeneratif morfolojiyle de uyumludur (Sahni et al., 1993). Bisfosfonatlar, osteoklastların sadece etkinliklerinde değil, sayılarında da azalmaya neden olur. Osteoblastlar osteoklastları rezorpsiyon alanına çeken ve osteoklastların ömrünü uzatan faktörler salgırlar. Bisfosfonatlar bu faktörlerin salınımını inhibe etmektedir (Kayaalp 2000).

Bisfosfonatların, anti-anjiogenik ve anti-neoplastik etkileri ile tümör hücrelerinin apoptozisine neden olduğu, özellikle pamidronat ve ZA gibi nitrojen içerikli bisfosfonatların ise, tümör hücrelerinin kemik matriksine adhezyonunu engellediği in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (Merigo et al., 2005, Ruggiero et al., 2006a).

2.1.3. Farmakodinamik Özellikleri

Bisfosfonatlar hem oral hem de intravenöz (IV) olarak alınabilir. Emilimleri ince bağırsaktan olur. Oral yolla alındıklarında çok azı emilebilen bisfosfonat dozunun sadece %1'i bile etkindir. Bu yüzden yemeklerden 2 saat önce alınmaları daha uygundur (Marx 2007). Vucütte kan ile dağılır, kemiklerde depo edilir ve böbreklerden hiçbir değişime uğramadan atılırlar. Başka farmakolojik ajanlarla etkileşimleri gözlenmemiştir. Bu bileşiklerin farmakodinamiğini gastrointestinal yol, kan, kemik ve böbrekler belirler (Bartl et al., 2006).

2.1.4. Farmakokinetik Özellikleri

In vitro ve in vivo çalışmalar, bifosfonatların gastrointestinal kanaldan parasellüler geçiş ile emildiğini göstermektedir (Lin 1996); ancak bu emilimin zayıf olduğu bildirilmiştir (Fleisch 1998, Russell and Rogers 1999). İlacın emilimi beslenmeyle birlikte, özellikle kalsiyum ve demir varlığında belirgin olarak azalır. Plazmadaki ömrü 0,5-2 saat olan bifosfonatlar, plazmadan hızlı bir şekilde geçer ve büyük bir kısmı kemik tarafından depolanır. Bu durum bifosfonatların hidroksiapatit kristallerine karşı gösterdiği afinite ile açıklanabilir (Fleisch 1998). Kalan kısım ise, böbrekler tarafından atılır (Lin 1996). Düşük dozlarda verildiğinde osteoklastlarda depo edilen bifosfonatlar, yüksek dozlarda uygulandığında ise rezorpsiyon ve apozisyon alanlarında depo edilir (Fleisch 1998). Kemikte depolanmış olan bifosfonatlar rezorpsiyon aşamasında yeniden salınarak etki gösterir. Bu nedenle, bifosfonatların kemikteki yarılanma ömürleri 1-10 yıl arasında oldukça uzundur. Bazı bifosfonatlar hayat boyu kemikte kalabilmektedir (Lin 1996).

2.1.5. Kullanım alanları

Bifosfonatlar başlıca, kemik metastazlarının önlenmesi ve tedavisinde, orta ve şiddetli malign hastalıklara bağlı artmış kan kalsiyum seviyesinin düzenlenmesinde, kemik kanserlerinde ağrının azaltılmasında, multipl miyeloma olgularında, Paget hastalığı ile osteoporoz tedavisinde kullanılmaktadır (Russell and Rogers 1999, Sevcik et al., 2004, Cheng et al., 2005, Hino et al., 2005, Dimitrakopoulos et al., 2006, Ruggiero et al., 2006a).

Osteoklastlarda apoptoza yol açan bifosfonatların tümör hücreleri üzerine de direkt apoptotik etkileri bulunmaktadır. Oral klodronat, IV pamidronat ve ZA, kemik metastazlarında sıklıkla kullanılan bifosfonatlardır (Mystakidou et al., 2005).

Günümüzde en sık kullanılan bifosfonat çeşitleri ve kullanım alanları tablo 2'de belirtilmiştir.

ZA, günümüzde bilinen en güçlü bifosfonattır. Maligniteye bağlı hiperkalsemiden, solid tümörlerin iskeletsel komplikasyonlarını önlemeye kadar en geniş kullanım alanı bulan ve günümüzdeki en etkili bifosfonat olarak bildirilmiştir (Berenson and Hirschberg 2004, Amanat et al., 2007). 3-4 haftada 1 defa 15 dakikalık infüzyon şeklinde 4mg/kg olarak uygulanır (Novartis 2004, tablo 2). Yarılanma ömrü pamidronat gibi 10 yıldan fazla, hatta ömür boyudur. ZA, 4mg dozları, etidronattan 10.000 kat daha etkili bulunmuştur (Marx 2007, Tablo 2). ZA, üçüncü kuşak imidazol halka içeren bir bifosfonattır (Tablo 1). Hayvan çalışmalarında ZA'nın pamidronattan 850 kat daha güçlü olduğu görülmüştür (Ardan - Cordone et al., 1997). Renal tolerans ise pamidronattan üç kat daha iyidir (Ardan - Cordone et al., 1997). ZA'da pamidronate göre daha hızlı etki, kalsiyumu daha çabuk normalleştirme, daha uzun süreli relapssız dönem görülmektedir (Ardan - Cordone et al., 1997).

Tablo 2: Bifosfonatların kullanım alanları, içerikleri, dozajları, kullanım yolları ve FDA onayları.

Bifosfonat	Primer Endikasyon	Nitrojen varlığı	Uygulama Şekli	Doz	FDA Onayı	Potens
Etidronat (Didronat®)	Paget, Osteoporoz	Yok	Oral	300-750 mg, günlük	1977	X1
Tiludronat (Skelid®)	Paget, Osteoporoz	Yok	Oral	400 mg, günlük	1997	X10
Klodronat (Bonfos®)	Osteoporoz, Metastatik Kemik Hastalığı, Multipl Myelom	Yok	Oral, nadiren IV. İnfüzyon (2-4 saat)	Oral: 1600 mg, günlük IV.: 900 mg, aylık	2004	X10
Pamidronat (Aredia®)	Metastatik Kemik Hastalığı, Multipl Myelom	Var	IV. İnfüzyon (En az 2 saat)	90 mg, aylık	1991	X100
Aledronat (Fosamax®)	Osteoporoz, Metastatik Kemik Hastalığı, Multipl Myelom	Var	Oral	10 mg, günlük	1995	X1000
İbandronat (Bonviva®)	Osteoporoz, Metastatik Kemik Hastalığı, Multipl Myelom	Var	Oral veya IV. İnfüzyon (15-60 dk.)	Oral: 150 mg, Aylık, IV.: 3mg, 3 aylık	2005, 2006	X5000
Risedronat (Actonel®)	Osteoporoz, Metastatik Kemik Hastalığı, Multipl Myelom	Var	Oral	5 mg, günlük	1998	X5000
Zoledronik Asit (Zomebon®)	Metastatik Kemik Hastalığı, Multipl Myelom	Var	IV. İnfüzyon (En az 15 dk.)	4 mg, aylık	2001	X10000

2.1.6. Bifosfonatların Yan Etkileri

Genel olarak bifosfonatların yan etkileri minimal olarak bilinmektedir ancak, uzun süre IV bifosfonat kullanımının, akut sistemik inflamatuvar reaksiyonlar, oküler şikayetler, akut ve kronik böbrek yetmezliği, nefrotik sendrom, elektrolit dengesizlikler, maksilla ve mandibulada osteonekroz gibi komplikasyonlara yol açabildiği bilinmektedir (Resim1, Tanvetyanon and Stiff 2006). Özellikle BİÇO, günümüzde giderek büyüyen ve diş hekimlerinin sıkça karşılaşmaya başladıkları majör sorunlardan biridir (Marx 2007).



Resim 1: Bifosfonatla ilişkili çene osteonekrozu (Yrd. Doç. Dr. Gülperi Koçer).

Etidronat, tiludronat, risedronat, klodronat ve alendronat gibi oral bifosfonatların üst gastrointestinal problemlere yol açtığı bildirilmiştir (Cryer and Bauer 2002). Gastrointestinal yan etkilerden korunmak için, ilacın bol su ile alınması

ve ilk öğünler sonrasında da en az 30 dakika oturur pozisyonda durulması gerektiği önerilmektedir.

2.1.6.1. Bifosfonatların Anti-anjiogenezis Yan Etkisi

Anjiogenezis veya olgunlaşmamış kapiller oluşumunun, yara iyileşmesi ve kanser hücrelerinin normal dokulara invazyonu açısından önemli bir aşama olduğu bilinmektedir (Liekens et al., 2001). Ayrıca normal vaskülarizasyon, doku metabolizma dengesi, bölgesel immünizasyon, yeterli rejenerasyon, vücudun bütün canlı hücrelerinin tamiri açısından önemli bir gereksinimdir. Wehrhan et al. (2011b), mukoperiostal doku örneklerinde vaskülarizasyonu değerlendirmek amacıyla, mikrodamarları içeren vaskülarizasyonun bir belirteci olarak kabul edilen CD31'i ve tümör veya yara iyileşmesi kaynaklı yeni kapiller oluşumu sırasında salgılanan CD105'i analiz etmişlerdir. Bütün gruplar arasında vaskülarizasyon açısından bir fark bulunamamasına rağmen bifosfonatın CD105 pozitif damarlarda önemli oranda düşüşe neden olduğu rapor edilmiştir. Bu değerler, BİÇO vakalarında anjiogenezisin baskılandığını göstermiştir.

Bifosfonatların, VEGF, bFGF ve İnterlökin -17 gibi anjiogenezis üzerinde etkin ajanların salınımında önemli düşürlere neden olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Ribatti et al., 2008, Oteri et al., 2008, Di Salvatore et al., 2011). Bifosfonatlar, uygulamadan sonraki 24 saatte VEGF'nin etkili bir düşüşüne sebep olduğu önemle vurgulanması gereken bir noktadır. VEGF düşüşü, pamidronat uygulanmasından sonraki 7. güne kadar; ZA uygulanmasından sonraki 21. güne kadar devam ettiği belirtilmektedir (Ferretti et al., 2005, Oteri et al., 2008). In vitro ve in vivo çalışmalarda klodronatın etkili bir anti-anjiogenezis ajanı olduğu ve bu etkisini endotel hücre çoğalma aktivitesini direk baskılayarak gerçekleştirdiği rapor edilmiştir. Ayrıca bu etkisini bFGF vasıtasıyla gerçekleştirdiği de belirtilmiştir (Ribatti et al., 2008).

2.2. Bifosfonatla İlişkili Çene Osteonekrozu (BİÇO)

Bifosfonatla ilişkili çene kemiği osteonekrozunu ilk tanımlayan 2003 yılında Robert E. Marx oldu. Marx (2003), çeşitli endikasyonlarla ZA kullanan 36 hastada görülen çene kemiği osteonekrozunu yayınladı.

BİÇO'nun en karakteristik özelliği mukoza ile örtülü olmayan nekrotik kemik varlığıdır. Oral lezyonlar bifosfonat tedavisinden sonra 4 ay gibi bir sürede gelişebilmektedir. (Marx et al., 2005, Bamias et al., 2005, Melo et al., 2005). Osteonekroz tablosunun neden çenelerde görüldüğü sorusuna henüz net bir bilimsel cevap verilememektedir. Ancak bir kaç olası neden üzerinde durulmaktadır. Kemik dokusunun bifosfonatı tutması, kemik döngüsünün lokal hızıyla doğru orantılıdır ve yüksek döngü kapasitesine sahip olan alveol kemikleri, diğer iskeletsel alanlara göre çok daha fazla bifosfonat depolayabilir (Capsoni et al., 2006). Reid et al. (2007), osteonekrozda primer olarak kemiğin etkilendiğini ve bifosfonatın oral epitele toksik etki oluşturarak yumuşak doku kaybına neden olduğu fikrini ortaya atmıştır. Bu paradoks hakkında olası bir açıklama, "bifosfonat biriken kemiğin oral epitel üzerine toksik etki göstermesi ile birlikte invaziv dental işlemler ya da protez vuruğu gibi travmaya bağlı olarak gelişen yumuşak doku lezyonlarının iyileşmemesi" şeklinde yapılabilir (Baloş 2007, Reid et al., 2007, Sarasquete et al., 2008). Diş çekimi ya da diğer dental travmalar sonrası kemik yapım-yıkım döngüsünün hızlanması bifosfonatın lokal olarak salınımına neden olmakta ve komşu epitel hücrelerinin proliferasyonunu engelleyerek, mukoza iyileşmesini yavaşlatmaktadır. Buna ilacın kanlanmayı azaltıcı etkisi de eklendiğinde kemikteki mikro hasarlar onarılamaz ve nekroz tablosu gelişir. Tüm iskelet sisteminden farklı olarak çene kemikleri dişler aracılığı ile sürekli dış çevreyle ilişkidir (Lehrer et al., 2009). Ağız mikro florasının zenginliği, periodontal cepler, periapikal enfeksiyonlar ve en önemlisi diş çekimleri nekrotik kemiğin kolaylıkla enfekte olmasına zemin hazırlamaktadır (Capsoni et al., 2006).

2.2.1. BİÇO Kliniği ve Derecelendirilmesi

Olgularla ilgili tipik semptomlar ağrı, yumuşak dokuda ödem, enfeksiyon, dişlerde hareketlilik, halitozis, pürülan akıntı, sinüs perforasyonu ve ağız ortamına açık olan nekrotik kemik varlığıdır. Semptomlar spontan olarak gelişebildiği gibi sıklıkla bir dental travma sonrası görülür. Bazen semptomlar dental veya periodontal hastalığı da taklit edebilmektedir (American Dental Association Council on Scientific Affairs, 2006).

BİÇO'nun tanısı için en güncel kriterler,

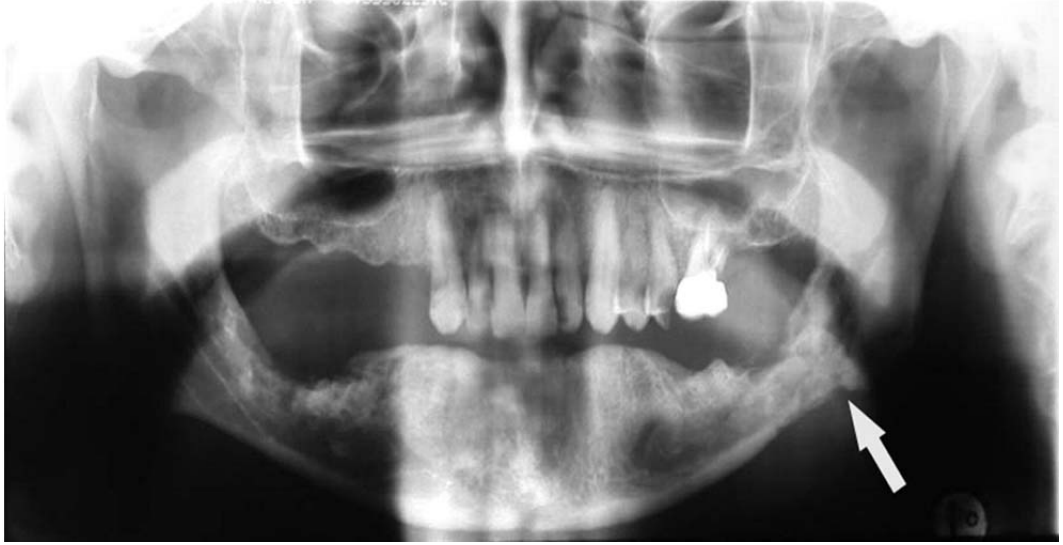
- a. Güncel bifosfonat kullanımı,
- b. 8 haftadan fazladır var olan mukoza ile örtülü olmayan kemik varlığı,
- c. Baş boyun bölgesinden radyoterapi almamış olmaktır (Ruggiero and Mehrotra 2009, Fedele et al., 2010, Ruggiero 2011).

BİÇO lezyonları 4 aşamada derecelendirilir,

- a. Evre 0, nekrotik kemiğin klinik bulgusu yoktur ancak belirsiz ve tanımlanamayan klinik bulgular ve semptomlar olabilir.
- b. Evre 1'de, mukoza ile örtülü olmayan kemik mevcut olmakla birlikte yumuşak doku enfeksiyonu bulunmamaktadır.
- c. Evre 2'de, mukoza ile örtülü olmayan kemiğe enfeksiyon bulguları eşlik eder.
- d. Evre 3'te ise alveoler kemik sınırına (sinüs, inferior border, ramus, zigoma) kadar uzanmış nekrotik alan, patolojik kırık, ekstraoral fistül (resim 3), oral-antral, oral-nazal ilişki ve ciddi enfeksiyon tablosu söz konusudur (Khan et al., 2008, Ruggiero and Mehrotra 2009, Ruggiero et al., 2009, Yoneda et al., 2010, Ruggiero 2011, Tablo 5)



Resim 2: BİÇO vakasında ekstraoral fistül (Yrd. Doç. Dr. Gülperi Koçer)



Resim 3: BİÇO vakasında görülen patolojik kırık.

(<http://www.ajnr.org/content/28/6/1139/F9.large.jpg>)

2.2.2. BİÇO Risk Faktörleri

2.2.2.1. İlaça Bağlı Risk Faktörleri

2.2.2.1.1 Bifosfonatın Tipi ve Potensi

En potent bifosfonat ZA'dır, pamidronat ve oral bifosfonatlar onu takip eder. IV uygulama, oral kullanıma göre; nitrojen içeren bifosfonatlar içermeyenlere göre daha fazla kemik nekrozuna neden olur (Durie et al., 2005, Bamias et al., 2005, Ruggiero et al., 2006b, Badros et al., 2006).

Osteonekroz insidansı, ZA ile tedavide ilk 1 yılda % 3, 3. yılda % 10 olarak pamidronatla tedavide ise 1. yılda % 1, 3. yılda % 4 olarak rapor edilmiştir (Durie et al., 2005).

2.2.2.1.2 Tedavi Süresi

Tedavi süresinin uzun olması BİÇO riskini arttırır. Bu konuda yapılan çalışmalarda 4–12 ay süreyle IV bifosfonat kullanan hasta grubunda BİÇO oluşma insidansı %1,5 iken 37–48 ay kullanan grupta bu oranın %7,7'ye yükseldiği rapor edilmiştir (Bamias et al.,2005, Ruggiero et al., 2006b).

2.2.2.2. Lokal Risk Faktörleri

Dental komorbiteler tüm vakaların yaklaşık % 30'unda görülmektedir ve korunma için önemli hedeflerdir. Marx et al. (2005), BİÇO vakalarında periodontitis (%84), çürük (% 29), dental apse (% 13), önceden yapılmış kanal tedavisi (% 11) veya mandibular torus gibi anatomik varyasyonlar rapor etmiştir.

2.2.2.2.1 Dentoalveolar Cerrahi

- Diş çekimi
- Dental implant uygulaması
- Periapikal cerrahi
- Periodontal cerrahi (Durie et al., 2005, Ruggiero et al., 2006b, Badros et al., 2006).

İntravenöz bifosfonat kullanan hastalarda, dentoalveolar cerrahi uygulananlar, uygulanmayanlara göre 7 kat daha fazla risk altındadırlar (Badros et al., 2006).

2.2.2.2.2 Lokal Anatomi

- Mandibula
 - Lingual torus
 - Milohyoid sırt
- Maksilla
 - Palatal torus

Mandibulada BİÇO görülme sıklığı maksillaya göre iki kat fazladır. İnce mukozayla örtülü alanlarda osteonekroza daha sık rastlanır (Ruggiero et al., 2004, Marx et al., 2005).

Olguların yaklaşık %65'inde lezyonların sadece mandibulada (sıklıkla mandibula korpusunun lingual yüzeyinde), %26'sında sadece maksillada ve %9'unda her iki çene kemiğini de ihtiva edecek şekilde meydana geldiği belirtilmektedir (Woo et al., 2006).

2.2.2.2.3 Eşlik Eden Oral Hastalıklar

Periodontal veya dental apse varlığında osteonekroz riski 7 kat artar (Ruggiero et al., 2006b).

2.2.2.3. Demografik ve Sistemik Risk Faktörleri

- Yaş, beyaz ırk (Badros et al. 2006), osteoporozla birlikte konulmuş kanser tanısı, diyaliz, düşük hemoglobin, obezite.
- Malignensi tipi ile osteonekroz oluşumu arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Ruggiero et al., 2006b).

Multiple myeloma hastaları protrombotik hastalardır ve bifosfonat tedavisinin yanında glukokortikoidler, talidomid gibi diğer anti-anjiyojenik ajanlarla ve bortezomib gibi yeni proteazom inhibitörleriyle tedavi görmektedirler (Drexler et al. 2000, Rajkumar et al., 2002). Bu ajanların osteonekroz gelişimi bakımından risk faktörü oluşturup oluşturmadığıyla ilgili çelişkiler vardır. Kortikosteroid ve talidomidin osteonekroz için risk faktörü oluşturmadığını savunan makaleler mevcutken (Bamias at al., 2005, Durie et al., 2005); multiple myeloma hastalarında kullanılan dekzametazonun osteonekroza sebep olduğunu ve anjiyogenezis inhibitörü olan talidomidin osteonekroz açısından potansiyel bir risk faktörü oluşturduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Zervas et al. 2006, Mehrotra and Ruggiero 2006).

2.2.2.4. Genetik faktörler

İlaç metabolize eden enzimde tek nükleotid polimorfizmi osteonekroz riskini artırır (Sarasquete et al., 2008).

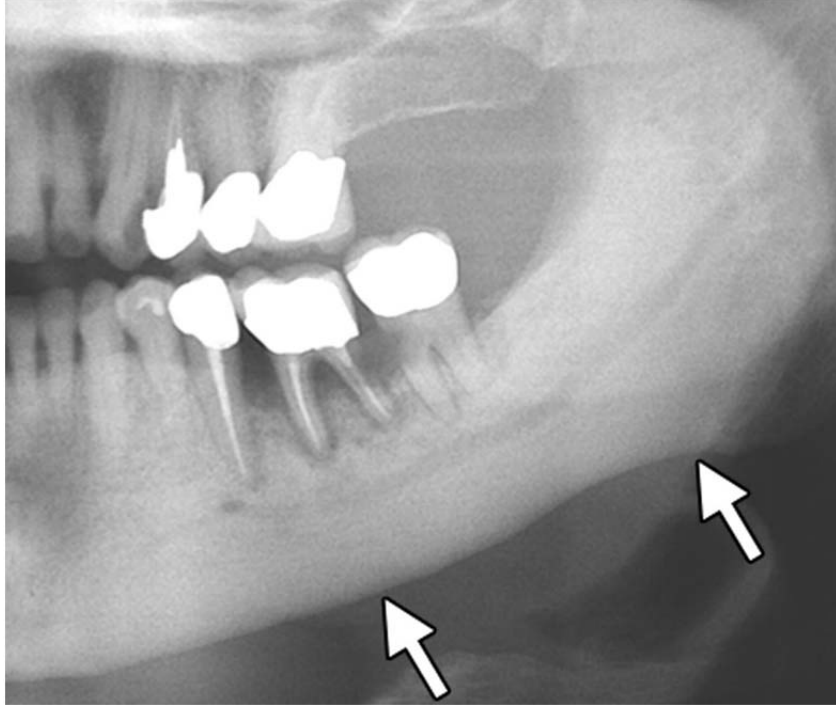
2.2.2.5. Koruyucu Faktörler

Hastalar bifosfonat kullanmaya başlamadan önce dental muayeneden geçmelidir ve gerekli tedaviler yapılmalıdır.

Bunların yanında kortikosteroid kullanımı, diyabet, sigara, alkol, kötü ağız hijyeni, kemoterapi de olası risk faktörleri arasındadır.

2.2.3. BİÇO'nun Radyolojik Olarak Değerlendirilmesi

Konvansiyonel dental radyografiler osteosklerotik, osteolitik, reaktif periostlu miks lezyonların, patolojik fraktürlerin saptanmasında yardımcı olur. Kemik sintigrafileri ve manyetik rezonans görüntüleme yöntemleri BİÇO için en iyi tarama yöntemleridir. Radyo nükleotid kemik taramaları kemikteki vaskülarizasyon değişikliklerini en iyi görüntüleyen tekniklerdir (O'Ryan et al., 2009). BİÇO'nun radyografik erken tanısında çoklu detektörlü bilgisayarlı tomografi kullanımı mümkündür. Bu taramalar osteonekrozun erken tanısında yardımcı olabilir (Ruggiero and Drew, 2007). Bunun yanı sıra Tc-99 ile yapılan kemik sintigrafisinin mandibuladaki nekrotik lezyonların görüntülenmesinde etkili bir araç olduğu belirtilmektedir (Abu-Id et al., 2008). Sonuç olarak, tetkiklerin iyi irdelenmesi gerekmektedir. Bu tür görüntüleme yöntemlerinin sonuçları nekrotik kemiğin rezeke edileceği olgularda sınırların belirlenmesi açısından da önemlidir (O'Ryan et al., 2009).



Resim 4: Panoramik radyografide yaygın sklerozis ve kortikomedüller farklılaşmanın kaybı ile birlikte kortikal kalınlaşma (oklarla işaretli) görülmektedir (Morag et al., 2009).

Radyografik değerlendirmede erken dönemde bir değişiklik görülmeyebilir, fakat bazı araştırmacılar periodontal ligamanların genişlemesi gibi kronik periodontal enfeksiyondan ayırt edilemeyen, ilk bakışta görülmesi zor olan değişiklikler rapor etmişlerdir (Marx et al., 2005, Woo et al., 2006). Radyografik görünümü vakadan vakaya değişiklik göstermekle birlikte radyolüsent ya da radyopak sklerotik kemik görünümünde olabilmektedir. Bazı vakalarda çekim soketinin iyileşmediği görülür (Groetz and Al-Nawas 2006, Abu-Id et al., 2008). Daha ileri vakalarda güve yeniği görüntüsü radyopak sekestr içeren veya içermeyen kötü sınırlı radyolüsensiler görülebilir. Lezyon ilerledikçe geniş radyolüsent alanlar görülür ve bazen çene kemiği fraktürleri ile sonuçlanabilir (Resim 3). Yapılan çalışmalarda Trabeküler yapının genişlik, mineral densitesi, lakünleri, trabekül formasyonunda değişiklikler meydana geldiği görülmüştür (Ruggiero et al. 2004, Morag et al., 2009). Kortikal kemikte erozyon oluşur (Resim 4). Aynı anda periosteal yeni kemik oluşumu ve sekestr oluşumu gözlenir.

2.2.4. BİÇO ve Serum Belirteçleri

Amerika Çene Cerrahları Birliği (AAOMS) tarafından belirlenen kemik metabolizması ile ilişkili serum belirteçleri kalsitonin, tiroid uyarıcı hormon, T3, T4, N-Telopeptid (NTx), C-Telopeptid (CTx), Hidroksi vitamin-D, kemiğe özgü alkalin fosfotaz, osteokalsin, paratiroid hormondur. Bifosfonat kullanan hastalarda kemikte remodelasyon ve rezorptif aktiviteyle ilgili bu belirteçlerin önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir (Lehrer et al., 2009).

Marx et al. (2007), BİÇO riskinin kemik döngüsü belirteçleri kullanılarak tahmin edilmesine yönelik yaptığı çalışmada oral bifosfonat kullanan ve BİÇO gelişen 30 hastayı değerlendirmiştir. Çalışmada hastaların serum CTx (Tip I kollagen C-terminal Telopeptid) seviyeleri takibe alınmış ve BİÇO semptomları ve hikayesi ile ilişkisi incelenmiştir. Yazar çalışmanın sonucu olarak CTx seviyesinin 100 pg/ml. altına düştüğünde yüksek risk, 100–150 pg/ml seviyesinin orta derecede risk ve 150 pg/ml. üzerinde düşük BİÇO riskine sahip olduğunu belirtmiştir (Marx et al., 2007, Tablo 3).

Tablo 3: CTx Serum seviyelerine göre BİÇO riski

Serum seviyesi	BİÇO Riski
<100 pg / ml	Yüksek
100–150 pg / ml	Orta
>150 pg / ml	Düşük

2.2.5. Ayırıcı Tanı

BİÇO'nun ayırıcı tanısında periodontal hastalıklar, gingivitis, mukozitis, enfeksiyöz osteomyelit, temporomandibular eklem hastalıkları, çürüklerin oluşturduğu periapikal patoloji, osteoradyonekroz, nevralji ile görülen kavitsiyonel osteonekroz ve kemik tümörleri veya metastazları göz önünde bulundurulmalıdır (Khosla et al.,2007).

Çene kemiği metastazlarında klinik tablo bifosfonata bağlı oluşan osteonekrozla karışabilir. Bifosfonata bağlı osteonekroz olduğu düşünülen klinik tablo kemikteki metastazı gizleyebilir ya da hem osteonekroz hem metastaz bir arada görülebilir (Bedogni et al., 2007).

BİÇO vakalarında iyonize radyasyon tedavisi sonrası görülen osteoradyonekroza benzer tablolar görülebilir ve osteoradyonekroz da sıklıkla diş çekimi sonrası görülür. Osteoradyonekrozun maksillada görülme sıklığı çok azdır ve erkekler kadınlara göre daha fazla etkilenir (Marx 1983, Reuther et al., 2003).

2.2.6. BİÇO'da Tedavi Seçenekleri

Bifosfonat kullanımına bağlı olarak gelişen osteonekrozun tedavisi ile ilgili net bir görüş mevcut değildir. AAOMS, bu konuyla ilgili temel tedavi prensiplerini ortaya koyan bir tedavi sınıflandırması belirlemiştir (Ruggiero et al., 2009). Güncel tedavi yöntemleri BİÇO'nun hangi evresi olduğuna bağlıdır ve konservatif tedaviden (anti-mikrobiyal yıkama ve antibiyotik), radikal cerrahiye kadar çeşitlilik gösterir. AAOMS, evre 0'ın sadece takip ve semptomatik tedavi gerektirdiğini belirtmiştir. Evre 1'de anti-bakteriyel gargara kullanımı, 3 aylık periyotlarda klinik takip, hasta eğitimi ve bifosfonat tedavisi endikasyonunun yeniden değerlendirilmesi önerilir. Evre 2'de oral veya IV antibiyotik kullanımı, yüzeysel debridman ve anti-mikrobiyal gargara önerilir. Oral veya IV antibiyotikler ve gargalar ile desteklenen debridman ve cerrahi rezeksiyon işlemleri evre 3'te de fayda sağlamaktadır (Ruggiero et al., 2009). Bütün vakalarda eğer hareketli nekroz kemik mevcutsa, kemik mutlaka çıkartılmalıdır (Mehrotra and Ruggiero 2006, Ruggiero and Mehrotra 2009, Ruggiero 2011, Tablo 4).

Tablo 4: AAOMS'un 2009'da önerdiği evreleme ve tedavi protokolü (Khosla et al, 2007, Ruggiero et al, 2009, Allam et al., 2011)

Risk kategorisi	Tedavi
Oral veya IV bifosfonat kullanan hastalar.	<ul style="list-style-type: none">▪ Tedaviye gerek yoktur.Oral hijyen eğitimi verilir
Evre 0	
Klinik olarak nekrotik kemik gözlenmez, Ancak non-spesifik semptomlar veya kliniksel veya radyografik bulgular vardır.	
Bu semptomlar;	
<ul style="list-style-type: none">• Dişten kaynaklanmayan diş ağrıları,<ul style="list-style-type: none">• Künt ve ağır kemik ağrısı,<ul style="list-style-type: none">• Sinüs ağrısı,• Sinirsel algının hassaslaşması.	
Klinik bulgular;	
<ul style="list-style-type: none">• Periodontal kaynaklı olmayan diş kayıpları,• Nekrotik pulpa olmaksızın oluşan periodontal ve/veya periapikal fistül,	
Radyografik bulgular;	
<ul style="list-style-type: none">• Periodontal kaynaklı olmayan alveolar kemik kaybı/rezorpsiyonu,• Çekim soketinde silinmeyen lamina dura,<ul style="list-style-type: none">• Kalınlaşmış periodontal ligament,• Daralmış mandibular kanal.	
Evre 1	
Asemptomatik , Enfeksiyon bulguları olmayan açıkta ve nekrotik kemik vardır.	
<ul style="list-style-type: none">▪ Anti-bakteriyel gargaraKlinik takip Hasta eğitimi ve bifosfonat tedavisi▪ Endikasyonunun yeniden değerlendirilmesi	

Tablo 5: AAOMS'un 2009'da önerdiği evreleme ve tedavi protokolü (Khosla et al, 2007, Ruggiero et al, 2009, Allam et al., 2011) (Devamı)

<p style="text-align: center;">Evre 2</p> <p>Enfeksiyon bulguları ve ağrıyla birlikte mukoza ile örtülü olmayan nekrotik kemik vardır. Pü drenajı eşlik edebilir.</p>	<ul style="list-style-type: none">▪ Anti-bakteriyel gargara<ul style="list-style-type: none">▪ Ağrı kesiciler ile semptomatik tedavi;▪ Yumuşak doku irritasyonunu engellemek için yüzeyden debridman
<p style="text-align: center;">Evre 3</p> <p>Ağrı, enfeksiyon ve aşağıdakilerin biri veya daha fazlasıyla birlikte mukoza ile örtülü olmayan nekrotik kemik; Alveoler kemik sınırına (sinüs, inferior border, ramus, zigoma) kadar uzanmış nekrotik alan, patolojik kırık, ekstraoral fistül, oro-antral, oro-nazal ilişki</p>	<ul style="list-style-type: none">▪ Anti-biyotik tedavisi ve ağrı kesicilerle semptomatik tedavi;▪ Anti-bakteriyel gargara▪ Cerrahi debridman/ rezeksiyon

Günümüzde standart tedavi ve bu tedavilerin muhtemel sonuçları konusunda otoriteler arasında kesin bir görüş birliği yoktur. Bu nedenle otoriteler farklı tedavi seçenekleri önerebilmektedir. BİÇO tablosunun evresine göre planlanan tedavi sistemi, nekroz kemiğin klinik belirtileri ve enfeksiyon derecesi baz alınarak uygulanmaktadır. Baz alınan bu kriterler hastanın subjektif bulgularına göre değerlendirildiği için hekimler tarafından farklı tedavi kararları verilebilmektedir.

AAOMS'un 2009 yılında belirlediği osteonekrozun evrelerine göre tedavi protokolü tablo halinde gösterilmiştir (tablo 4, Ruggiero et al., 2009) bunlara ek olarak;

-Mobil sekestr var ise BİÇO evresine bakılmaksızın uzaklaştırılmalıdır.

-Nekrotik kemikteki mobil dişlerin çekimi nekrozu arttırabileceği için iyi değerlendirilmelidir.

-İlaca kısa süreli ara verilmesi fayda sağlamaz. Uzun süreli molalar BİÇO riskini önlemede ve klinik durumun stabilizasyonunda yararlıdır.

-Oral bifosfonatlara 6-12 ay ara verilmesi spontan sekestr atımını sağlayabilir ve cerrahi debridman tedavisine gerek duyulmayabilir (Migliorati et al., 2005).

2.2.6.1. Antibiyoterapi

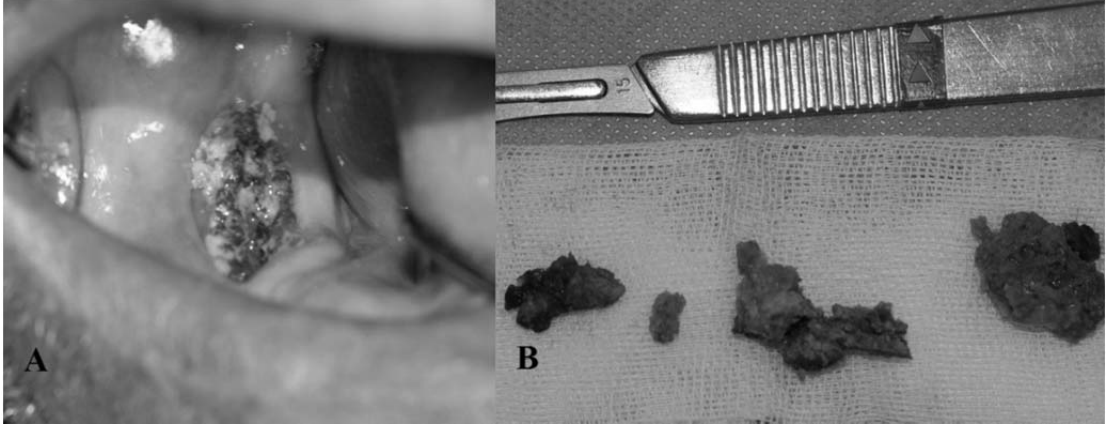
Oluşumunu takiben etkin bir tedavi protokolü olmayan bu vakalarda önleyici tedaviler önem kazanır. Sistemik uzun süreli antibiyotik kullanımı, antiseptik oral gargaralar ile semptomlar hafifletilmeye çalışılır. Penisilin ilk tercih edilen antibiyotiktir; klindamisin eikinella ve moraxella'ya karşı etkisiz, aktinomyces'lere karşı da zayıf etkilili olduğundan tercih edilmez (Marx 2007).

BİÇO hastalarında uzun süreli düşük doz (altı ay ve daha uzun süre) ve kısa süreli yüksek doz olmak üzere iki farklı antibiyotik rejimi vardır. Penisilin, metronidazol, spiramisin, klaritromisin, eritromisin gibi geniş spektrumlu antibiyotikler, oral, IV, intramusküler veya rektal yolla verilebilir. Birinci ve ikinci evre BİÇO hastalarında enfeksiyon varlığında, ikinci ve üçüncü evre BİÇO hastalarında inatçı osteonekrozlar varlığında uzun dönem antibiyotik tedavisi önerilmektedir (Ruggiero et al., 2009).

2.2.6.2. Cerrahi Tedavi Yaklaşımları

İnvaziv cerrahi girişimler durumun daha da kötüleşmesine yol açabilir. Cerrahi tedavinin başarılı olduğunu gösteren yeterince çalışma yoktur, bu konuda çalışmalar devam etmektedir. Tedavide asıl amaç, palyasyon ve sekonder enfeksiyon kontrolüdür. Antibiyotik ve gargara uygulamasıyla birlikte periyodik minör debridman ve yara yerinin düzenli lavajı, cerrahi tedavinin temelini oluşturmaktadır (Cheng et al., 2005).

Osteomyelit ve patolojik kırıklara neden olan ilerlemiş vakalarda uygun antibiyotik tedavisi ile birlikte uygulanan cerrahi debridman, rezeksiyon ve vaskularize flep ile rekonstrüksiyon gerekebilmektedir. Ancak kemik bütününe etkilenmiş olması durumunda bu uygulamaların başarısız olabileceği göz ardı edilmemelidir (Ruggiero et al., 2009).



Resim 5: Cerrahi kemik rezeksiyonu.

A: BİÇO lezyonu, B: Rezeke edilen nekroze kemikler (Yrd.Doç. Dr. Gülperi KOÇER).

2.2.6.3. Diğer Tedavi Yaklaşımları

2.2.6.3.1 Bisfosfonat Endikasyonunun Değerlendirilmesi ve Bisfosfonat Tedavisine Ara Verilmesi

Bazı uzmanlar BİÇO teşhisi konulmuş vakalarda IV bisfosfonat tedavisini durdurmayı önermektedirler. Bisfosfonat tedavisini durdurmanın BİÇO'nun tedavisi olacağını bildiren veri bulunmamaktadır. Bu durumda uygulanacak prosedürü hasta bazında değerlendirmek gerekir. Hastanın bisfosfonat tedavisini hangi endikasyonla kullandığı dikkatle incelenmelidir. Eğer hasta agresif iskeletsel metastatik hastalığa bağlı olarak bisfosfonat kullanıyorsa tedaviye devam etmelidir fakat iskeletsel

hastalık ılımlı seyrediyorsa veya hasta bisfosfonat tedavisini metastaz gelişimini önlemek için görüyorsa tedaviye ara verilebilir. Oral bifosfonat kullanımının 3. yılından sonra BİÇO riskinin arttığı, 3 yılın altında oral bifosfonat tedavisi görenlerde elektif oral cerrahi müdahalelerin güvenle yapılabileceği belirtilmektedir. Üçüncü yıldan sonra gerekli müdahaleler öncesinde oral bifosfonatın 3 ay önce kesilmesi ve postoperatif dönemde 3 ay ara verilmesinin BİÇO riskini azalttığı düşünülmektedir (Marx 2007). Oral bifosfonat tedavisi sonucu görülen nekrotik lezyonların ilaç kullanımına ara verilmesini takiben kendiliğinden iyileşebileceği belirtilmektedir (Woo et al., 2006, Sawatari and Marx 2007, Marx 2007). Hoff et al. (2008), uzun süreli IV ZA kullanan hasta grubunda yaptığı araştırmada 1 hastada ZA uygulamasına 10 ay verildikten sonra, diğer bir hastada IV ZA'dan oral aledronata geçildikten 9 ay sonra, bir hastada ise ZA dozunun 3'te 1'e düşürüldükten 3 ay sonra BİÇO lezyonlarının tamamen iyileştiğini rapor etmiştir.

2.2.6.3.2 Lazerlerle Tedavi Yaklaşımı

BİÇO tedavisinde sert ve yumuşak doku lazerleri kullanılmaktadır. Lazerin anti-bakteriyel ve biostimülan etkisinin tedavinin başarısında etkili olduğu farklı çalışmalarla ortaya konulmuştur (Rugani et al., 2010, Kan ve ark., 2011).

2.2.6.3.3 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 (Albanese et al., 2013).

2.2.6.3.4 Paratiroid Hormon (PTH) ile Tedavi Yaklaşımı

BİÇO tedavisinde kemikteki yapım - yıkım metabolizmasını arttıran PTH kullanılması tavsiye edilmektedir. Bisfosfonat terapisine ara vererek 6 ay boyunca PTH kullanılması kemikteki yapım - yıkım oranını gösteren osteokalsin değerinin % 74 artmasını sağlar. PTH osteoklastik aktivitede önemli bir değişiklik yaratmasa da osteonekrozun iyileşmesine katkı sağlar (Song et al., 2008).

BİÇO tedavisinde denenen hiperbarik oksijen uygulaması (Freiberger et al., 2007), otolog platelet kaynaklı büyüme faktörü ve ozon terapisi (Petrucci et al., 2007) metotları umut vermekle birlikte ileri klinik araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bifosfonatlarla ilgili yeni yapılan çalışmalarda;

- Bifosfonatların intraoral yumuşak doku iyileşmesine etkileri,
- Alveoler kemiğin kanlanmasına etkileri,
- Anjiyogenik özellikleri ve çene kemiğinin iyileşmesi üzerine etkileri,
- Farmakogenetik özellikleri,
- BİÇO risk değerlendirme yöntemleri ve daha pek çok konu araştırılmaktadır (Ruggiero et al., 2009).

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

2.3. Diş Çekim Yarasının İyileşmesi

Yara iyileşmesi, yaşayan organizmaya ait bir çok fenomenden en ilginç olanıdır. Dişleri çevreleyen mukoza çok katlı yassı epitelden oluşur. Diş çekimi sonrası epitelin bütünlüğü rezerv hücrelerin çoğalıp, kaybedilen üyelerin yerine geçmesiyle sağlanır. Epitel hücrelerinin kaybedildiği bir yaralanma sonucunda, kenarlarda korunmuş olan hücrelerin çoğalmasıyla neredeyse mükemmel bir rekonstrüksiyon sağlanır. Eğer defekt küçükse, epitel hücrelerinin tamir edici faaliyetleri oldukça hızlı gerçekleşir. Yaralanma, diş çekiminde olduğu gibi kemik defekti ve epitel içeriyorsa epitel rejenerasyonu ancak defekt doldurulduktan sonra tamamlanır (Shafer 2009).

Diş çekimi sonrası birbirini takip eden inflamasyon, epitelizasyon, fibroplazi ve remodelasyon aşamaları görülür. Diş çekim soketi sekonder iyileşir ve soketi dolduran kemiğin, soketi çevreleyen kemikten radyografik olarak ayırt edilmemesi için ayların geçmesi gerekmektedir(Shafer 2009).

Diş çekimi sonrası soket, kortikal kemik (lamina dura), yırtılmış periodontal ligamentler ve koronal seviyede soketi çevreleyen oral epitelden ibarettir. Soket pıhtılaşmış kan ile dolar ve bu pıhtı soketi ağız ortamından izole eder(Shafer 2009).

İnflamasyon aşaması iyileşmenin ilk haftasında meydana gelir. Beyaz kan hücreleri, soketi kontemine eden bakterileri, artık kemik parçaları ve yabancı cisim gibi hertürlü debris ortadan kaldırmak için sokete göç eder. Fibroplazi aşaması immatür fibroblast ve kapiller yığılımı ile birlikte ilk haftada başlar. Epitel, soketin içinde oluşan pıhtı üzerinden pıhtıyı tamamen örtene ve epitel hücrelerinin birbirine kontak haline gelene kadar ilerlemeye devam eder. İyileşmenin ilk haftasında, osteoklastlar kret tepesi hizasında birikirler.

İyileşmenin ikinci haftasında soketi dolduran pıhtı, fibroblast ve kapiller yığılımı ile granülasyon dokusuna dönüşür. Soketi çevreleyen alveolar kemik çevresinde osteoid birikimi başlar. Osteoid birikimi iyileşmenin 2. haftası başlar, 3. ve 4. haftasına kadar devam eder. Bu süreç sonunda genellikle epitalizasyonda tamamlanmış olur. Yeni trabükler kemik oluşumu ile birlikte soketini içini çevreleyen kortikal kemik rezorbe olmaya devam eder. Lamina duranın radyografik olarak silinmesi için 4-6 aylık bir zaman dilimine ihtiyaç vardır(Shafer 2009).

Yara iyileşmesi iki şekilde olur: eğer yara kenarları birbirine iyi adapte olmuşsa veya bir dikişle yanıştırılmışsa enfeksiyonda mevcut değilse yara sikatrizasyonu üç, beş günde olur ki buna primer yara iyileşmesi denir. Eğer yara dudakları birbirinden uzakta ise veya arada doku kaybı varsa enfeksiyonda mevcutsa iyileşme gecikir. Buna sekonder yara iyileşmesi denir.

2.3.1. Primer İyileşme

Primer iyileşmeye en basit örnek steril cerrahi insizyonun iyileşmesidir. Dokular, cerrahi dikişler veya yassı şeritler ile yaklaştırılır ve belirgin bir bakteriyel kontaminasyon olmadan minimum doku kaybıyla iyileşme gerçekleşir. İnsizyon, sınırlı sayıda epitel hücresi ile deri ekleri ve konnektif doku hücrelerinin ölümüne yol açar. İnsizyon aralığı dar olup kısa sürede pıhtı ile dolar. Pıhtı yüzeyinin dehidratasyonu ile kabuk oluşur (Robbins 1984).

24 saat içinde insizyon kenarlarındaki bağ dokusunda akut inflamatuvar cevabın karakteristik değişiklikleri ortaya çıkar. Çoğunu nötrofillerin oluşturduğu lökositler ortamda birikir (infiltrasyon). Bazal hücrelerdeki mitotik aktiviteden dolayı insizyon kenarlarında epidermis kalınlaşır. 24-43 saat içinde her iki kenardaki epitel hücreleri insizyon kenarlarından aşağı doğru ve yara kabuğunun altından büyüyerek ortada birleşirler. Böylece ince bir epitel tabakası oluşur (Robbins 1984).

Üçüncü günde nötrofillerin çoğu ortamdan uzaklaşarak yerlerini monositlere bırakırlar. Monositler, nekrotik artıkları, eritrositleri ve fibrini ortamdan uzaklaştırırlar. Fibroblastların çoğalıp, kapiller tomurcukların oluşmasıyla meydana gelen fibroblastik vasküler doku, insizyon aralığını doldurmaya başlar. Bu arada epitel hücrelerinin proliferasyonu ve diferansiyasyonu devam ederek, epidermal örtü kalınlaşır (Robbins 1984).

Beşinci günde insizyon aralığı gevşek vaskülarize fibroblastik bağ dokusu ile doldurulmuştur. Bu safhada vaskülarizasyon en üst seviyededir. Kollagen lifler sayıca artarak insizyon aralığında köprü oluşturmaya başlar. Bu beş günlük sürede epidermis genellikle normal kalınlığına erişir. Yüzey hücrelerinin

diferansiyasyonu ile olgun bir epidermal yapı ve yüzey keratinizasyonu oluşur (Robbins 1984).

İkinci haftada insizyon aralığındaki bağ dokusunda kollajen birikimi ve fibroblast proliferasyonu devam eder. Lökosit infiltrasyonu, ödem ve artmış vasküler yapılar büyük ölçüde kaybolur. Ortadaki bağ dokusu yeni oluşmuş ince duvarlı kapiller damarlara basınç yapmaya başlar. Yüzeydeki kabuk genellikle bu haftada düşer. Bundan sonra kollajen birikiminin arttığı ve dolayısıyla rengin soluklaştığı uzun bir aşama gelir. Bu olayı kontraksiyon ve vasküler yapıların kaybolması izler. Maksimum mekanik kuvvetini kazanması için aylar, hatta bir yıl gibi bir süre gereklidir. Primer iyileşmeye cerrahi insizyon, iyi redükte edilen kemik kırıkları ve taze sinir yaralanmalarının yeniden oluşturulan anatomik anastomozları örnek olarak verilebilir (Robbins 1984).

2.3.2. Sekonder iyileşme

Primer iyileşmenin tersine sekonder iyileşmede epitelin insizyonu, laserasyonu, kemik kırılması yada sinir kopması sonrası dokuların arasında madde kaybı bulunmaktadır. Bu madde kaybı yara dudaklarının yakınlaştırılmasını önlemektedir. Bu durum iyileşme boyunca geniş miktarda epitel migrasyonu, kollojen birikimi, kontraksiyon ve remodelasyona neden olmaktadır. İyileşme, primer iyileşmeye kıyasla daha uzun sürer ve daha fazla skar dokusu oluşur. Sekonder iyileşmeye örnek olarak, çekim socketinin iyileşmesi, iyi redükte edilemeyen kırıklar, derin ülserler gösterilebilir (Robbins 1984).

Hücre ve dokularda çok daha fazla kaybın olduğu enfarktüs, enflamatuar ülserasyonlar, abse oluşumu veya geniş defektler yaratan yüzey yaralanmaları olduğunda iyileşme çok daha karmaşıktır. Kenarlardan epitel hücrelerinin rejenerasyonu gerçekleşebilir, ancak stromal yapının yokluğunda orijinal yapı oluşturulamaz. Tamir işlemi için kenarlardan vaskülarize bağ dokusu büyümeye başlar. Bu tür geniş yaralarda inflamatuvar cevap oldukça şiddetlidir. Lökosit infiltrasyonu içeren genç vaskülarize bağ dokusuna granülasyon dokusu denir. Yara kenarlarının üzerinden ve aşağıya doğru epitelizasyon devam ederken granülasyon

dokusu zeminden ve kenarlardan yukarı doğru büyüyerek defekti doldurur (Robbins 1984).

2.4. Damar Gelişimi

Kan damarlarının gelişiminin uyarılması çeşitli kimyasal, metabolik ve mekanik faktörler aracılığıyla olmaktadır. Ayrıca kan akışı ve çevre dokuların büyümesindeki değişiklikler de damarlanmayı etkilemektedir (Hacıalıoğulları 2005). Damar gelişimi iki yolla olur. Bunlar vaskülogenezis ve anjiogenezisdir. Vaskülogenezis erken embriyonik dönemde meydana gelirken, anjiogenezis hem embriyoda hem de tüm yaşam boyunca devam eden bir süreç olarak tanımlanmıştır (Ülger 1997, Drake 2003). Vaskülogenezisde, anjioblast adı verilen endotel hücre öncüleri damar gelişimi ile ilişkilidir. Anjiogenezis ise mevcut damar yatağından tomurcuklanma ile yeni kan damarlarının oluşmasıdır. Hem anjiogenezis ve hem de vaskülogenezis yeniden modellenme sürecidir (Beck and D'Amore 1997).

2.4.1. Vaskülogenezis

Vaskülogenezis, embriyoda mezoderm kaynaklı anjioblastlar ile ilk kan damar ağının oluşmasıdır (Patan 2004). Kan damarlarının oluşacağı bölgelerde mezenşimal hücreler anjioblast adı verilen hücrelere dönüşürler. Vaskülogenezis, embriyonik dönemde gerçekleşir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, kemik iliğinden elde edilen öncü hücrelerin bir araya gelerek yeni kan damar ağı oluşturduğu ve vaskülogenezisin yetişkinlerde de görüldüğü tespit edilmiştir (Conti 2002). Böylelikle vaskülogenezisin erken embriyogenezle sınırlı olmadığı, sağlıklı ve hasta erişkinlerde, fizyolojik ve patolojik olaylarda da rolünün olabileceği belirtilmiştir.

2.4.2. Anjiogenezis

Anjiogenezis iki farklı mekanizma ile gerçekleşir. Bunlar, tomurcuklanma mekanizması ve damar içi doku yapılanmasıdır. Damar içi doku yapılanması, doku kıvrımlarının damar içine invazyonu sonucu damar lümeninin bölünmesi şeklinde tanımlanır. Tomurcuklanma mekanizması ise endotel hücre göçü ve çoğalması ve damar lümeni gelişimi gibi basamaklardan oluşur ve mevcut büyük damarlardan tomurcuklanma şeklinde küçük kan damarlarının oluşması olarak tanımlanır (Beck and D'amore 1997, Patan 2004). Anjiogenezis vücutta fizyolojik olarak, yara iyileşmesi, menstrüal siklus ve embriyogenezis gibi durumlarda görülürken, patolojik olarak ise başta tümörler olmak üzere romatoid artrit, retinopatiler ve psöriazis gibi hastalıklarda da görülür (Rosen 2000, Wickström et al., 2004). Bunlardan başka serebrovasküler malformasyonlarda da anjiogenik faktörlerin anormal şekilde üretildiği görülmektedir (Kılıç ve ark., 2005).

Anjiogenezis oluşurken birçok olay basamaklar şeklinde birbirini izler. İlk önce anjiogenezise neden olan bir uyarıcı (hipoksi ya da iskemi) oluşur. Daha sonra bu uyarıcıdan dolayı anjiogenik faktörlerin salınır ve bu faktörler bazal membranın parçalanmasına, endotel hücrelerinin aktivasyonuna, adezyonuna, göçüne, çoğalmasına ve tüp oluşumuna neden olur. Bunu takiben mevcut damar ağından yeni kan damarları oluşur. Böylece yeni oluşan tüp yapıda, bazal membranın oluşması ve buna perisitlerin de katılmasıyla yeni bir fonksiyonel kapiller oluşumu tamamlanır (Woodhouse 1997, Ünüvar 2005).

Hipoksi ve henüz tam olarak belirlenememiş bazı uyarıcılar, VEGF, bFGF, TGF-beta, PDGF gibi anjiogenik faktörlerinin salınmasına neden olurlar. Ekstraselüler matriks (ECM) ve matriksi çevreleyen hücrelerden, endotel hücrelerinden, tümör hücrelerinden salınan bu büyüme faktörleri, sitokinler ve bunların reseptörlerinin endotel hücrelerini uyarmaları sonucunda anjiogenezise neden olan metabolik süreç başlar (Nordgren et al., 1999). Daha sonra bu süreç damar endotelini döşeyen kollajen, laminin gibi glikoproteinlerden ve heparin sülfat gibi proteoglikanlardan oluşan bazal membranın proteolitik yıkımı ile devam eder. Mevcut damarları indüklemek için ekstraselüler matriksin ve bazal membranın parçalanması gerekir. Bu amaç için endotel hücrelerden, tümör hücrelerinden ve

inflatuar hücrelerden serin proteaz ve metalloproteinaz (MMP) gibi proteolitik enzimler salgılanır (Bloemendal et al., 1999, Özçelik ve ark., 2003, Hinsbergh and Koolwijk 2007). Büyüme faktörleri tarafından aktive edilen bu proteolitik enzimler, bazal membranın ve ekstraselüler matriks bileşenlerinin yıkımına neden olurlar (Bloemendal et al., 1999, Konukoğlu ve Turhan 2005). ECM'deki proteolitik yıkımı takiben endotel hücreleri yıkılan matriks içine göç etmeye başlar (Konukoğlu ve Turhan 2005). Normalde endotel hücreleri, yayılma etkisi göstermeyen tek bir tabaka oluştururlar. Ancak anjiogenezis sırasında çoğalıp yayılma gösterirler. Anjiogenezis sürecinde vasküler hücrelerin yüzeyinde bulunan avbeta3 ve avbeta5 gibi adezyon molekülleri, uyarılmış endotel hücreler tarafından indüklenir ve hücre-ECM ve hücre-hücre arasındaki etkileşimde önemli rol oynarlar. Çoğalan endotel hücreleri, integrinler aracılığıyla diğer endotel hücreler ile sıkı bağlantı kurarlar ve böylece tüp oluşumunu gerçekleştirirler (Pepper et al., 1997, Bloemendal et al., 1999). Daha sonra çoğalma durur, hücreler morfolojilerini değiştirerek bir lümen oluşturacak şekilde birbirlerine sıkıca tutunur. Çoğunlukla perisitlerin ve vasküler düz kas hücrelerinin endotele katılması ve yeni bazal membranın sentezlenmesi ile anjiogenezis tamamlanır (Kılıç ve ark., 2005). Kapiller filizlenme oluşuktan sonra yine bu filizlenmenin ucunda yeni oluşmuş ECM'de yıkılma ortaya çıkar ve bu sayede daha ileri yayılım mümkün olur. Damar olgunlaştıktan ve uygun anjiogenezis ortaya çıktıktan sonra anjiogenik faktörlerde azalma görülürken, anjiogenezis inhibitörlerinde artış gözlenir. Böylece endotel hücreleri sessiz bir hale bürünür ve damarlar kan akımını başlatmaya hazır hale gelmiş olur (Konukoğlu ve Turhan 2005). Anjiogenezis mekanizmasını anlayabilmek için bu sürecin indükleyicilerini (anjiogenik faktörler) ve inhibitörlerini (anti-anjiogenik faktörler) tanımak gerekir.

2.4.2.1. Anjiogenik Faktörler

Anjiogenezisin oluşmasında, ECM ve matriksi çevreleyen hücrelerden, tümör hücrelerinden, endotel hücrelerinden ve makrofajlardan salınan pek çok büyüme faktörü, sitokinler ve bunların reseptörleri temel rol oynar (Shimizu and Oku 2005). Anjiogenik faktörlerden ilk olarak keşfedilen ve yüksek birleşme eğilimi ile heparine

bağlanan anjiogenik faktör bFGF'dir. Anjiogenezis oluşumunda önemli rolleri olan büyüme faktörlerinden önce fibroblast büyüme faktörü (FGF), daha sonra VEGF 1980'li yıllarda izole edilmiştir (Deveci 2003). Ancak anjiogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulan VEGF'dir (Güllü 2004). Tablo 5'de bazı anjiogenik faktörler ve etki mekanizmaları verilmiştir.

Tablo 6: Bazı anjiogenik faktörler ve etki mekanizmaları

Anjiogenik Madde	Etki Mekanizması	Kaynak
Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü(Vascular Endothelial Growth Factor;VEGF)	Endotel hücre çoğalması Permeabilite indükleyici	Conti 2002, Hagedorn and Bikfalvi 2000
Asidik Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü (Acidic Basic Fibroblast Growth Factor; aFGF / FGF-1)	Endotel hücre çoğalması	Güllü 2004, Hagedorn and Bikfalvi 2000
İnterlökin-8 (İnterleukin-8; IL-8)	Endotel hücre çoğalması, Anjiogenezin dayanıklılığını artırır	Li et al., 2003, Koch et al., 1992
Angiogenin	Endotel hücre çoğalması Küçük kas hücresi indükleyici	Gao and Xu 2008
Dönüştürücü Büyüme Faktörü- Alfa (Transforming Growth Factor; TGF-Alpha)	Endotel ve epitel hücre çoğalması Anjiogenezi indükleyici	Talk and Harris 2000, Bochsler and Slauson 2002
Trombosit Kaynaklı Endotelial Hücre Büyüme Faktörü (Platelet Derived- Epithelial Cell Growth Factor; PD-ECGF)	Endotel hücre çoğalması Anjiogenezi indükleyici	Zhang et al., 2004, Talk and Harris 2000
Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (Platelet Derived Growth Factor;	Endotel hücre çoğalması Endotel hücre motilite faktörü	Talk and Harris 2000, Dominijanni et al., 2012

PDGF)	Anjiogenezisi indükleyici	
-------	---------------------------	--

Tablo 7: Bazı anjiogenik faktörler ve etki mekanizmaları (Devamı)

Granülosit Koloni Uyarıcı Faktörü (Granulocyte Colony Stimulating Factor; GCSF)	İskemik dokularda Anjiogenezis indükleyici Hücre ölümü azaltıcı	Crivellato et al., 2004, Takagi et al., 2005
İnterlökin-3 (İnterleukin-3; IL-3)	İmmün sistem destekleyici Kök hücre çoğalması indükleyici Yara iyileşmesini destekler	Ulich et al., 1991, Wagemaker et al., 1990

2.4.2.2. Anti-Anjiogenik Faktörler

Vücutta her sistemde olduğu gibi anjiogenezisin de inhibitörleri mevcuttur. Anjiogenezis, anjiogenik aktivatörlerin ve inhibitörlerin arasındaki dengeye bağlı olarak aktive veya inhibe olmaktadır. Anjiogenik faktörler ile anti-anjiogenik faktörler arasındaki bu denge, tümör dokusu gibi hızla çoğalan hücrelerin bulunduğu ortamda, hücrelerin çoğalması ve yaşam sürelerinin uzaması için temel unsur olan anjiogenezis lehine bozulmaktadır. Bu süreci anjiogenezis aleyhine çevirmek için değişik teoriler öne sürülmüştür (Güllü 2004, Eichhorn et al., 2004). Bunlar;

- Anjiogenik faktörlerin inhibisyonu,
- Doğal anti-anjiogenik faktörlerin uygulanması (Endostatin, Anjiostatin vb.),
- Endotel hücrelerinin inaktivasyonu,
- Yeni damarların hücre dışı matriks ile etkileşimini bozacak moleküller (matriks metalloproteinaz inhibitörleri) şeklinde özetlenebilir.

2.5. Fibroblast Büyüme Faktörü

Fibroblast büyüme faktörleri, polipeptid büyüme faktörlerinin büyük bir ailesini oluşturmaktadır. FGF, değişik organizmalarda (hematodlardan insanlara kadar geniş bir yelpazede) bulunmaktadır (Ornitz 2001).

FGF ailesinin, en az 9-22 tane yapısal ve biyolojik aktiviteleri açısından benzerlik gösteren, 17-34 kDa aralığında molekül ağırlığına sahip olan üyeleri mevcuttur; bununla birlikte *Drosophila* türünde FGF molekül ağırlığı 84 kDa'dır (Nimni 1997, Nugent 2000). Omurgalılarda gen yapısı ve aminoasit sırası (özellikle reseptöre bağlanma alanları) bakımından FGF yüksek oranda stabildir. FGF, çeşitli mezoderm ve nöroektoderm'den türeyen hücreler (fibroblastlar, osteoblastlar, düz kas hücreleri, endotel hücreler, kondrositler, melanositler gibi) için kuvvetli mitojenik aktivitesi, nörotropik özelliği ve heparin bağlama özelliği ile karakterize edilmiştir (Vemuri et al.,1994).

Çok bilinen iki FGF izoelektrik noktalarının (pI) farklı olması nedeni ile birbirinden ayırt edilmiştir. Asidik FGF (aFGF, FGF-1; 15 kDa)'nin pI'si 4.5-6, bazik FGF (bFGF, FGF-2)'nin ise 9.6-9.8'dir. Bu iki büyüme faktörü % 55 sıra benzerliğine sahiptir (Wang et al., 1996, Nugent 2000).

Gospodarowicz et al. (1986), beyin ve hipofiz ekstrelerinin FGF içerdiğini rapor etmiştir. Hipofiz mitojenik faktörlerin major sentez alanıdır. bFGF ilk defa sığır hipofiz ve daha sonra ise sığır beyin ekstrelerinden saflaştırılmıştır.

2.5.1. Biyolojik Aktiviteleri

FGF ailesi, çeşitli mezoderm ve nöroektoderm'den türeyen hücreler (fibroblastlar, osteoblastlar, düz kas hücreleri, endotel hücreler, kondrositler, melanositler gibi) için kuvvetli mitojenik aktiviteleri, nörotropik özellikleri ve heparin bağlama özellikleri ile karakterize edilmiştir (Vemuri et al.,1994). Endotel hücre çoğalması, hücre göçü ve yeni kan damarı oluşumunun uyarılması FGF'nin en iyi karakterize edilen fonksiyonlarıdır (Sperinde and Nugent 1998, Claus et al., 2004). bFGF'nin anjiogenezisi uyarıcı özelliği aFGF'ye göre daha fazladır

(Gospodarowicz et al., 1986). Endotelyal hücreler FGF'yi hem sentezler hem de ona yanıt verirler. bFGF, çok sayıda hücre, doku ve organ sistemlerinin fonksiyon ve gelişiminde etkili olan bir büyüme faktörüdür (Tablo 6, Okada-Ban et al., 2000).

Tablo 8: Farklı organ sistemleri üzerinde bFGF'nin fonksiyonları (Okada-Ban et al., 2000).

Organ	Fonksiyonları
Beyin	Sinir hücre farklılaşması ve yaşaması
Kan Damarı	Anjiogenezis, düs kas hücre çoğalması, kan basınç kontrolü
Kol ve bacaklar	Kol ve bacak gelişimi
Kas	Miyojenez
Kemik	Kemik iyileşmesi, kırıldak dokunun oluşumu
Akciğer	Hava yollarının morfojenезisi, fibrozit
Üreme sistemi	Spermatojenez
Hematopoez	Granülositlerin oluşum ve gelişimi, megakaryosit oluşumu ve kök hücre yaşamının uyarılması
Göz	Fotoreseptör yaşamı
Deri	Doku tamiri, keratinosit morfojenезi, melanojenез

bFGF dokuların rejenerasyonunda da etkilidir (Okada-Ban et al., 2000). bFGF, kollajen sentezini uyarır; yara kontraksiyonunu, epitelizasyonu, fibronektin ve proteoglikan sentezini uyarır (Gospodarowicz et al., 1986).

Kobay kulağındaki yaraya topikal uygulanması sonrası, bFGF'nin epitelizasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir. Kobaylara subkütan enjeksiyon ile hücre sayısı ve kollajen içeriği de artmıştır (Okada-Ban et al., 2000). Topikal bFGF, farelerde, enfeksiyon ve diabetin neden olabileceği yara iyileşmesi sorunlarına olumlu etki etmiştir (Okada-Ban et al., 2000).

bFGF'nin son zamanlarda nörodejeneratif hastalıkların tedavisi (Alzheimer, Parkinson, beyin iskemisi v.b.) üzerine etkisi yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. bFGF; nöronlar, hipokampus, striatum, spinal kord, serebellum ve parasempatik gangliyonlar üzerinde tropik etkiye sahiptir. Mitoz sonrası farklılaşmış nöronların yaşamını artırır (Ma et al., 2001). Nöronları serbest radikallere, nitrik okside,

hipoglisemiye, eksitator aminoasitlere (glutamik asit) ve oksijensizliğe karşı korur (Fisher et al., 1995). Serebrospinal sistem yaralanmaları sonrasında sistemin rejenerasyonunda bFGF önemli bir rol oynamaktadır (Bikfalvi et al., 1997). bFGF, beyni geçici ve devamlı iskemiye karşı korur. Deneysel beyin iskemisinde, Kan beyin engeli (KBE)'nde bir dağılma varlığında, orta beyin arter oklüzyonu (arterin tıkanması) modelinde sıçanlara IV olarak yüksek dozda (135 µg/kg) uygulandığında bFGF nöroprotektif etki göstermiştir (Claus et al., 2004).

2.5.2. Formülasyonları

bFGF'nin jel, toz, solüsyon formülasyonları hazırlanmıştır. Bu formülasyonlar genellikle topikal olarak deride damar gelişimini artırmak, dermal ve epidermal yara iyileşmesini kolaylaştırmak amacıyla kullanılmıştır (Wang et al., 1996, Babensee et al., 2000).

Büyüme faktörlerinin biyolojik yarı ömürleri çok kısadır (bFGF ve PDGF, < 2-3 dak. v.b.). Bu faktörler, enjekte edildiklerinde hızlı bir şekilde kandan uzaklaştırılır ve doku bariyerlerinden özellikle kapiler duvarlardan yavaş bir şekilde penetre olurlar (Haller and Saltzman 1998, Tabata et al., 1999). Bu nedenlerden dolayı, sistemik uygulama sırasında farmakolojik etkinin oluşabilmesi için yüksek dozda ilaç kullanılmakta ve sonuçta istenmeyen yan etkiler (hipotansiyon, taşikardi v.b.) ortaya çıkmaktadır (Deguchi et al., 2000). Büyüme faktörlerinin in vivo etkinliğini artırmanın ve istenmeyen etkilerinin ortadan kaldırılmasının bir yolu, biyoaktif molekülün bir polimerik taşıyıcı sistem içine hapsedilmesi ve belli bir zaman periyodu içinde uzun süreli salınmasının sağlanmasıdır (Haller and Saltzman 1998). Kontrollü salım sistemleri, mikrogram veya daha küçük miktarlarda etkinlik gösteren büyüme faktörlerinin taşınmasında uygun sistemlerdir. Büyüme faktörleri bu sistemler içine hapsedilerek yapı ve aktivitelerini korumaları sağlanmakta ve uzun süreli olarak aktif formları halinde salınmaları gerçekleştirilmektedir (Nimni 1997). Gelecekte yapılacak çalışmalar bu yönde olabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Proje kapsamındaki hayvan deneyleri için Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 08.05.2012 tarihinde 04 no'lu sayı ile gerekli izin alındı. Sunulan araştırma prospektif, rastgele ve tek kör olarak planlandı. Araştırmada SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen 64 adet Sprague Dawley, 12 haftalık yetişkin erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, her bir kafeste sekiz adet olmak üzere 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.

3.2. Çalışma Grupları

Tablo 9: Deney hayvanlarının gruplandırılması.

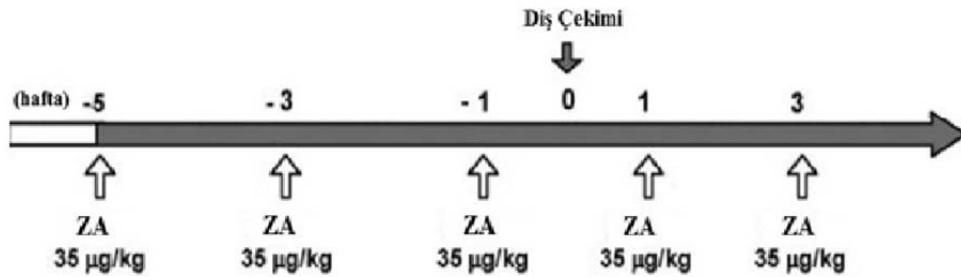
bFGF\ZA	ZA	ZA
	Uygulananı	Uygulanmayan
Düşük Doz bFGF(90 ng/kg)	8 (1.grup)	8 (2.grup)
Orta Doz bFGF(450 ng/kg)	8 (3.grup)	8 (4.grup)
Yüksek Doz bFGF(2275 ng/kg)	8 (5.grup)	8 (6.grup)
bFGF uygulanmayan	8 (7.grup)	8 (8.grup, Kontrol)

Deney hayvanları her grupta 8 sıçan olacak şekilde rastgele 8 gruba dağıtılarak çalışma grupları ve kontrol grubu oluşturuldu (Tablo 8). bFGF (Promega Corporation, USA), 4 farklı dozda (90 ng/kg, 450 ng/kg, 2275 ng/kg, uygulanmayan)

uygulanmakla birlikte ZA (Zomebon®, Koçak Farma, Türkiye) dozu (35 µg/kg) sabit olarak uygulandı. bFGF ve ZA dozlarının bütün kombinasyonlarını değerlendirme amacıyla, sıçanlar öncelikle ZA uygulanan ve uygulanmayan olarak 32'şer adet sıçandan oluşan 2 gruba ayrıldıktan sonra da her iki grup kendi içinde bFGF'nin 4 dozuna uygun olarak 4 alt gruba ayırdı. Böylece her grupta 8 sıçan olacak 8 grup oluşturuldu. Her grubun ortalama ağırlığının birbirine yakın değerlerde olmasına dikkat edildi.

3.3. İlaçların Hazırlanması ve Uygulanması

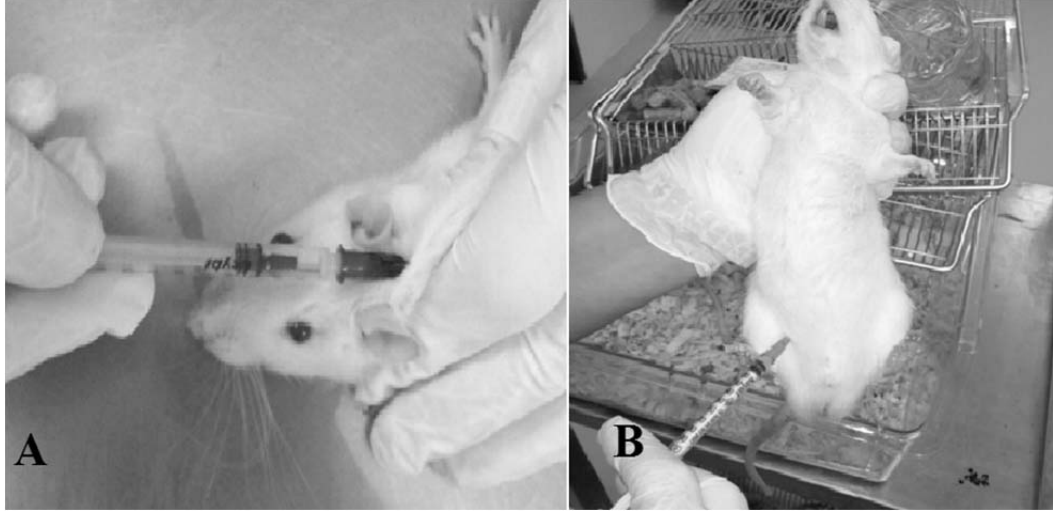
Deney öncesi sıçanlar tartılarak kiloları kaydedildi ve uygulanacak bütün ilaçların miktarları hesaplandı. ZA (Zomebon®, Koçak Farma, Türkiye) serum fizyolojik içerisinde seyreltilerek ve 35 µg/kg dozda iki haftada bir toplam 5 kez subkütan olarak uygulandı (Resim 6-A). Diş çekiminden 5 hafta önce ZA enjeksiyonuna başlanmış ve iki haftada bir olmak üzere çekimden önce 3 doz ZA uygulaması yapıldı. Sol alt ve üst çene büyük azı dişlerinin çekiminden sonra 3 haftada 2 kez daha ZA enjeksiyonuna devam edildi (Şekil 2).



Şekil 2: ZA uygulama zamanları.

Rat spesifik rekombinant bFGF (Promega Corporation, USA), distile suda seyreltilerek uygulandı. Düşük (90ng/kg), orta (450 ng/kg) ve yüksek (2275 ng/kg) dozlarda bFGF, 3 günde bir kez 30 gün süreyle intraperitoneal (IP) olarak uygulandı (Resim 11-B). Diş çekiminden bir gün önce bFGF uygulanmasına başlanarak diş

çekimi sırasında bFGF'nin dolaşımında hazır bulunması sağlandı. Kontrol grubuna diğer ratlara uygulanan her enjeksiyonda sadece serum fizyolojik uygulandı.



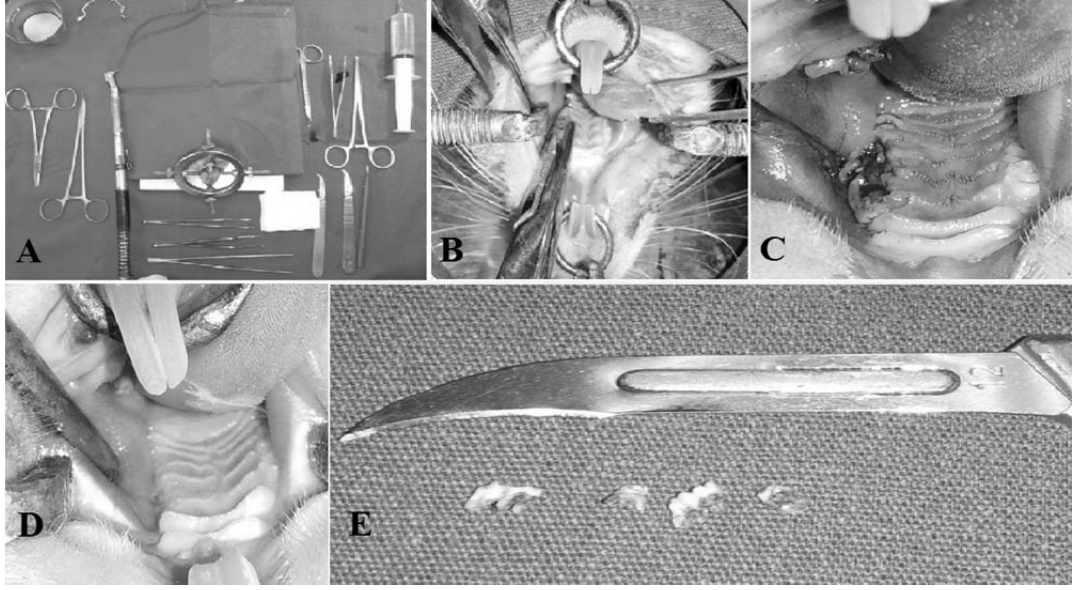
Resim 6: ZA ve bFGF uygulamaları.

A. Subkütan tekniğiyle ZA uygulaması. B. IP tekniğiyle bFGF enjeksiyonu.

3.4. Cerrahi Girişim

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

Bütün gruplardan sol taraftaki alt ve üst çene bütün azı dişleri genel anestezi altında çekildi (Resim 7-B). Bütün çekimler aynı cerrah tarafından aynı teknik ile gerçekleştirildi. Her sıçan supin pozisyonda konumlandırılarak (Resim 6-A) bistüri yardımıyla bukkal ve lingual taraflarda dişeti dekole edildikten sonra dişler klemp ile lükse edilip çekildi (Resim 7-B).

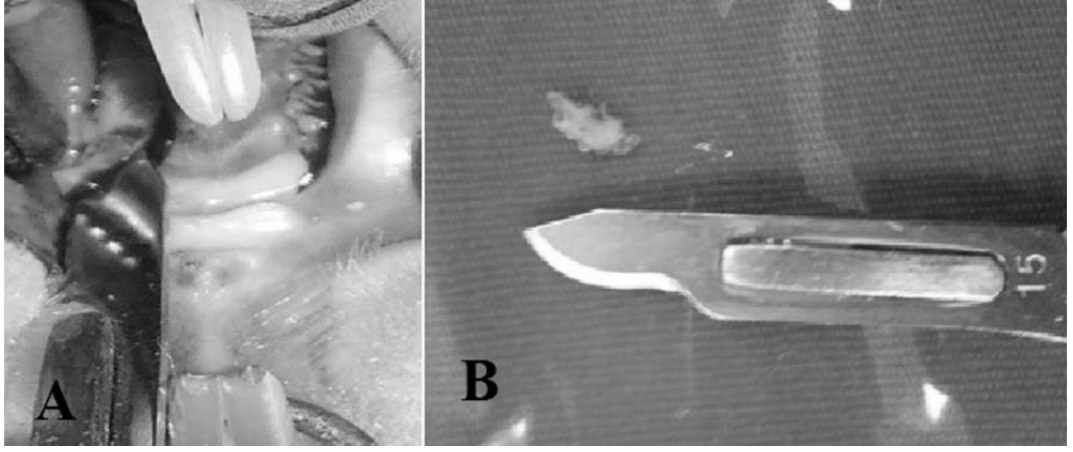


Resim 7: Diş çekim safhaları.

- A: Kullanılan aletler ve sıçanın pozisyonu. B: Klemple dişin lükse edilip, çekilmesi.
C: Çekimlerden sonra yaraların görünümü D: İyileşen çekim yaralarının görüntüsü.
E: Çekilen dişler.

3.5. Biyopsi Alımı

Diş çekiminden sonraki 45. gün üst çene çekim bölgesinden ve 60. gün alt çene çekim bölgesinden genel anestezi ile soket üzerinde oluşmaya başlayan epitelden biyopsi tarzı tam kalınlıklı kesitler alındı (Resim 8).



Resim 8: İyileşmiş olan dişetinden biyopsi alınması.

A. Bistüri ile diş etinden biyopsi alınması. B. Alınan dişeti biyopsisi.

3.6. Operasyon Sonrası Bakım

Diş çekiminden sonra sıçanların çekim bölgelerine reanimasyon sürecinin sonuna kadar soğuk uygulandı (Resim 10-A). 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 9: Antibiyotik ve ağrı kesici.

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 (resim 10-B). Hayvan ağırlıkları, deney sürecinin ilk gününden itibaren 2 haftada bir düzenli olarak ölçüldü.

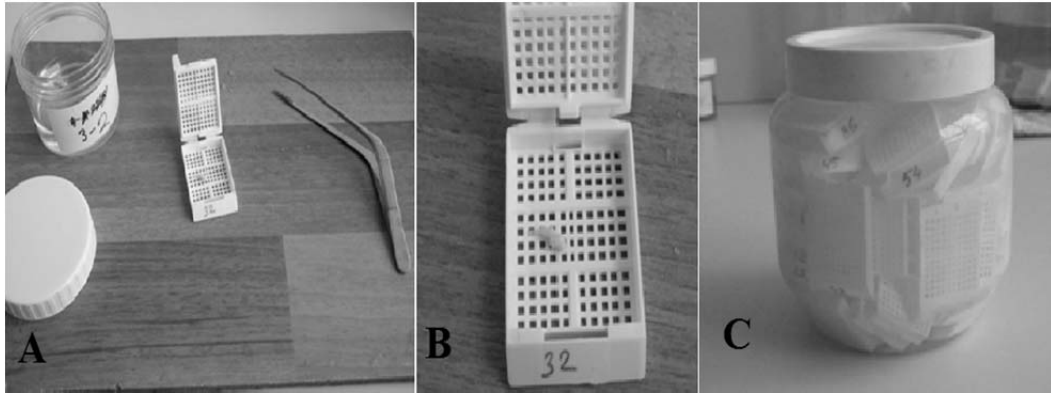


Resim 10: Diş çekimi sonrası bakım aşaması.

A. Çekim sonrası ilgili alana soğuk uygulaması ve steril kulak pamuğuyla çekim sonrası tampon uygulaması. B. Kulak pamuğuna gargara emdirilerek yapılan gargara uygulaması.

3.7. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme

Formaldehid içerisinde Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına getirilen biyopsi örnekleri ertesi gün takip prosedürüne alındı. Bu amaçla her bir biyopsi örneği ayrı ayrı takip kasetlerine konulup ve öğleden sonra saat 16.00'da akarsu altında yıkamaya alındı. Bir saatlik yıkamanın ardından kasetler doku takip cihazına takıldı ve gerekli ayarlamalar yapılarak dokuların gece boyunca düşük dereceli alkollerden yüksek dereceli alkollere (%70'den %100'e) geçirilerek sularının alınması, iki adet ksilolden geçirilerek yağının alınması ve sıcak parafine geçirilerek doku boşluklarına parafin dolması sağlandı. Ertesi gün sabah dokular parafine gömülerek blokajları sağlandı. Blokların 4-5 saat soğutulması ardından rotary mikrotomda 5 mikron kalınlığında kesitler alındı ve hematoxilen eozin ile boyandı.



Resim 11: Histopatoloji prosedürü.

A. Biyopsi materyallerinin doku takip kasetlerine alınması. B. Kasete alınmış dişeti dokusu. C. Rutin takip için hazırlanmış doku kasetleri.

İmmunoperoksidaz yöntem için streptoavidin-biotin kompleks peroksidaz yöntemi kullanıldı. İmmunhistokimyasal inceleme için PDGF (Anti-PDGF BB antibody (ab9704) Abcam, MA, USA, 1/50 dilüsyon); TGF (Anti-TGF alpha antibody [P/T1] (ab9578) Abcam, MA, USA 1/100 dilüsyon); aFGF (FGF-1(C-19):sc-1884; Santa Cruz Biotechnology, Inc., Texas, USA, 1/50 dilüsyon); GCSF

(Anti-G-CSF antibody (ab9691) Abcam, MA, USA, 1/50 dilüsyon); ECGF (PD-ECGF (PGF-44C:sc-47702); Santa Cruz Biotechnology, Inc., Texas, USA, 1/50 dilüsyon); VEGF (VEGF Antibody (2F7), NBP1-48050; Novus Biologicals, CO, USA, 1/50 dilüsyon); Angiogenin (Angiogenin Antibody (MM0044-7M15, NB110-93512; Novus Biologicals, CO, USA, 1/50 dilüsyon); IL-3 (IL-3 Antibody (3B11), NBP1-47806; Novus Biologicals, CO, USA, 1/50 dilüsyon) ve IL-8 (IL-8 Antibody, NBP1-19757; Novus Biologicals, CO, USA, 1/50 dilüsyon) kullanıldı. 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 PBS (Fosfat Tampon Solüsyon)'de yıkandı. Takiben mikrodalga fırında sitrat tampon solüsyonu (pH 6) ile 700'lük ayarda 5 dakika süreyle iki defa kaynatıldı. Dokular 10'ar dakika süreyle 2 defa PBS'de yıkandı. Daha sonra non spesifik boyamaları önlemek amacıyla normal serumda 45 dakika süreyle tutuldu. Bu aşamadan sonra yıkama yapılmadan primer serumlar ayrı ayrı (PDGF, TGF- α , aFGF, GCSF, PD- ECGF, VEGF, Angiogenin, IL-3 ve IL-8) uygulandı ve oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Ertesi gün 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 muamele edildi. Dokular aynı şekil ve süreyle yıkandı, hazırlanmış olan DAP (3,3 diaminobenzidin) kromojen ile boyandı. Karşıt boyama için Harris hematoksilen kullanılmış ve preparatlar ışık mikroskopunda incelendi. Immun histokimyasal inceleme sonuçları; negatif (0), hafif pozitif (1), orta şiddette pozitiflik (2) ve şiddetli pozitiflik (3) olarak skorlandı. Buna göre elde edilen puanlara istatistik inceleme yapılarak gruplar arası farklar belirlendi. Sonuçların fotoğraflanmasında Nikon E-600 model mikrofotografi ataçmanlı mikroskop kullanıldı.

3.8. Biyokimyasal İnceleme

Serumdaki bFGF miktar tayini ilk ZA enjeksiyonundan sonraki 3, 14 ve 21. günlerde bFGF verilmeyen 7 nolu grup ile kontrol grubunda bulunan sıçanların kuyruk veninden kan alınarak yapıldı. Rat bFGF, Cusabio (Cusabio Biotech Co., Ltd., Wuhan, China) marka ticari kit kullanılarak, sandwiç enzim immünassay tekniği ile çalışıldı. Yedi adet standart ve numuneler duplike çalışıldı. Kitin kalibrasyon aralığı 0-60 pg/ml ve sensitivite sınırı 0.23 pg/ml'dir. Standart-optik dansite grafiği çizilmiş ve numune konsantrasyonları bu grafiğe göre hesaplandı. ELISA okuyucu olarak Organon Teknika Reader 530 kullanıldı.

3.9. İstatistik

Araştırmada istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Science) 18.0 (Chicago, IL, 2010) yazılım paket programı kullanılarak yapıldı.

Biyokimya analizi bakımından elde edilen veriler, faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlü varyans analizi tekniğiyle analiz edildi. Denemede grup faktörünün ZA uygulanan ve uygulanmayan olarak olmak üzere iki seviyesi, zaman faktörünün de 3, 14, 21. günler olmak üzere 3 seviyesi mevcuttu. Denemede faktör seviye ortalamalarının arasındaki farklılıkların belirlenmesinde çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Tukey testi kullanıldı.

Histopatolojik ve immunohistokimyasal özellikler bakımından elde edilen veriler, 4'lü likert tipteki veriler parametrik olmayan test yöntemleriyle karşılaştırıldı. Bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında Mann - Whitney U testi (tablo 12), bağımsız ikiden fazla grubun olduğu durumda Kruskal - Wallis H testi (tablo 13), bağımlı iki grup olduğunda da (1. biyopsi - 2. biyopsi) Wilcoxon testi (tablo 14) uygulandı. Kruskal Wallis H testi sonucunda dozların rank ortalamaları arasında istatistik olarak önemli fark bulundu ise hangi dozların arasında fark olduğunun belirlenmesinde Bonferroni- Dunn testi kullanıldı.

Canlı ağırlık özelliği bakımından elde edilen veriler, faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlü varyans analizi tekniğiyle analiz edildi. Denemede doz

faktörünün bFGF verilmeyen, düşük doz, orta doz, yüksek doz olmak üzere 4 seviyesi, ZA uygulama faktörünün verilen ve verilmeyen olmak üzere iki seviyesi ve sonra zaman faktörünün 8 seviyesi mevcuttu. Denemede faktör seviye ortalamalarının arasındaki farklılıkların belirlenmesinde çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Tukey testi kullanıldı.

Yapılan güç analizi sonucunda tekkerrür sayısının 5 ten itibaren gücün %100'ü yakaladığı görüldü. Bu çalışmada tekkerrür sayısı 8 olduğundan çalışmanın sonuçlarının güç analizi bakımından güvenilir olduğu söylenebilir.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

4.1.1. Canlı Ağırlık Bulguları

Deney hayvanlarının tümünde ZA'nın uygulandığı deneyin ilk gününden itibaren dış çekimine kadar kilo artışı, dış çekiminden sonra ani kilo düşüşü olduğu görüldü. Dış çekiminden sonra 2, 3, 4, 6, 7 nolu gruplara ait kilo düşüşlerinin istatistik olarak önemli olduğu görüldü. Dış çekimini takiben görülen ani kilo düşüşlerinin ilerleyen haftalarda durduğu ve sıçanların kilo almaya başladığı görüldü. Sadece 7 nolu gruptaki kilo artışının istatistik olarak önemli olmadığı görüldü. bFGF ve ZA uygulamalarının kilo değişimine etkisinin istatistik olarak önemli olmadığı görüldü.

4.1.2. Çalışmaya Dahil Edilen Hayvan Sayıları

Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının 1 tanesi ilk ZA uygulama işlemi sonrası 21. günde yapılan 3. kan alma işlemi sırasında, 1 tanesi dış çekimi için anestezi verilmesinden hemen sonra, 7 tanesi dış çekiminden sonraki günlerde öldü. Birinci biyopsi işlemine toplam 55 sıçan dahil edildi (Tablo 8). En düşük sıçan sayısının bulunduğu grupta 5 adet sıçan bulunmaktaydı.

Tablo 10: Birinci biyopsiye dahil edilen sıçan sayısının gruplara göre dağılımı.

bFGF\ZA	ZA Uygulanan	ZA Uygulanmayan
Düşük Doz bFGF(90 ng/kg)	8 (1.grup)	8 (2.grup)
Orta Doz bFGF(450 ng/kg)	6 (3.grup)	7 (4.grup)
Yüksek Doz bFGF(2275 ng/k	5 (5.grup)	8 (6.grup)
bFGF uygulanmayan	6 (7.grup)	7 (8.grup)

5 adet sıçan 1. biyopsi işlemi için uygulanan anestezi sırasında öldü 2. Biyopsi alımında çalışmaya toplam 50 sıçan dahil edildi. En düşük sıçan sayısının bulunduğu grupta 4 adet sıçan bulunmaktaydı (Tablo 9). Yapılan fisher's exact testi sonucunda tüm gruplardaki ölüm oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmaların hiçbiri istatistik olarak önemli bulunmadı.

Tablo 11: İkinci biyopsiye dahil edilen sıçan sayısının gruplara göre dağılımı.

bFGF\ZA	ZA Uygulanan	ZA Uygulanmayan
Düşük Doz bFGF(90ng/kg)	8 (1.grup)	8 (2.grup)
Orta Doz bFGF(450 ng/kg)	5(3.grup)	6 (4.grup)
Yüksek Doz bFGF(2275 ng/k	4 (5.grup)	8 (6.grup)
bFGF Uygulanmayan	4 (7.grup)	7 (8.grup)

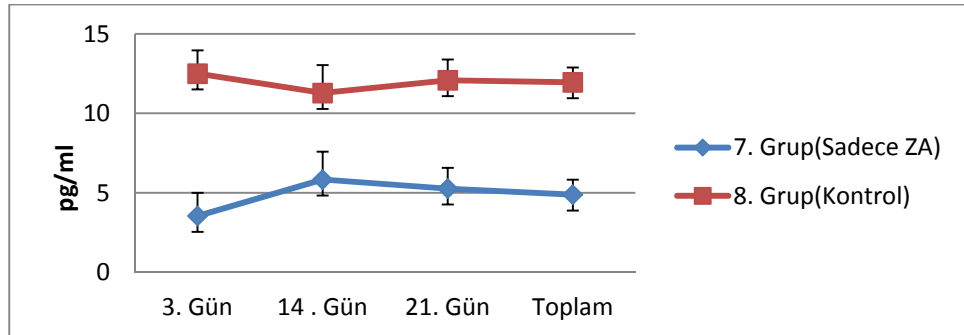
4.2. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 12: İlk ZA uygulaması sonrası 3, 14, 21. günlerde bFGF'nin serumdaki miktar değişimleri.

	3. Gün	14. Gün	21. Gün	Ortalama	P
7 nolu grup (sadece ZA)	3,54±1,46 ^b	5,83±1,76 ^b	5,26±1,31 ^b	4,88±0,94 ^b	<0,01*
8 nolu grup (Kontrol)	12,5±1,46 ^a	11,28±1,76 ^a	12,08±1,31 ^a	11,95±0,94 ^a	<0,01*
Ortalama	8,02±1,03	8,55±1,24	8,67±0,93		

*P<0,01 düzeyinde önemli. Tabloda harfler grupların kendi içerisinde zamanlar arasındaki farklılığı göstermektedir.

İlk ZA uygulamasından sonraki 3, 14 ve 21. günlerde sadece ZA uygulanan 7 nolu grupla kontrol grubunun serum bFGF seviyeleri ELİSA tekniğiyle incelendi. ZA uygulanmasını takiben 3, 14, 21. günlerde alınan serum örneklerinde ZA uygulanan grupta ZA uygulanmayan gruba kıyasla daha düşük miktarda bFGF değerine rastlandı. ZA'nın serumdaki bFGF seviyesini önemli derecede düşürdüğü görüldü (p<0,01). Ancak iki grubun da kendi içinde bFGF değeri bakımından günler arasında farklılık olmadığı görüldü. Yine zamanların ortalamaları arasındaki farklar da istatistik olarak önemli değildi (Tablo 10).



Şekil 3: İlk ZA uygulaması sonrası 3, 14, 21. günlerde bFGF'nin serumdaki miktar değişimleri.

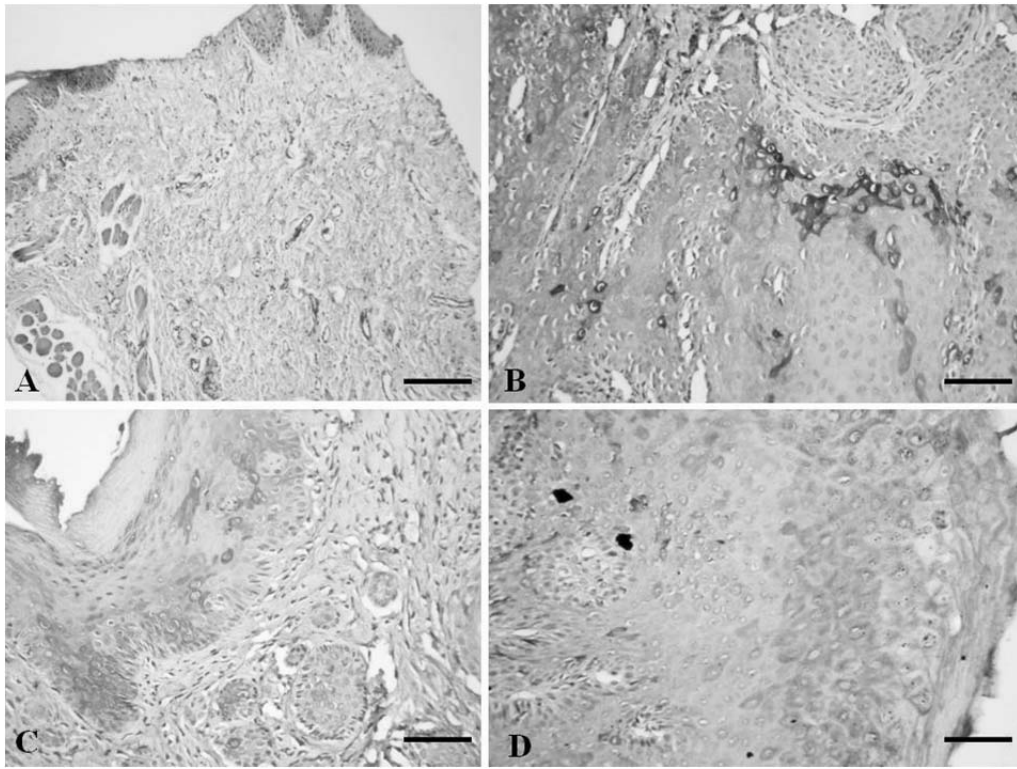
4.3. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Bulgular

Diş çekimi bölgelerindeki yumuşak doku reaksiyonu epitel ve altındaki ince bir submukoza bölümünde incelendi. Bu bölgedeki iyileşme histopatolojik olarak incelenirken epitelizasyon, bağdoku reaksiyonu, anjiogenezis ve yangısal hücre infiltrasyonları kriter olarak alındı. Skorlamalar lezyonların şiddetine göre tablo 11'deki gibi yapıldı.

Tablo 13: Histopatolojik lezyon skorlamaları.

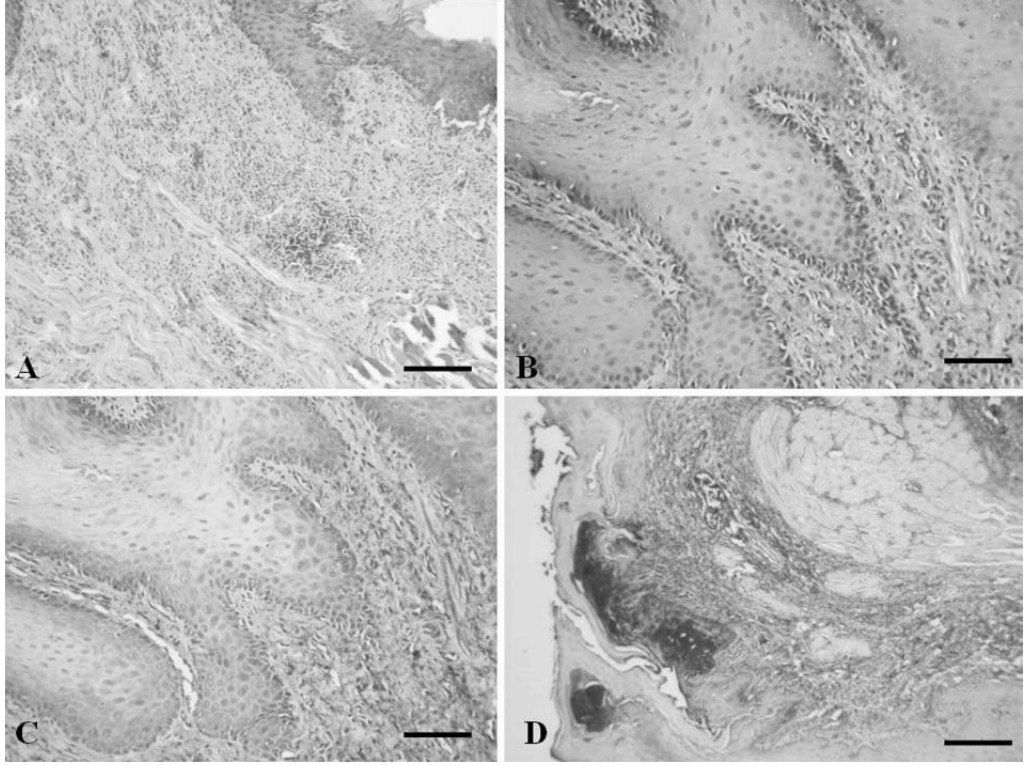
Skorlamalar	0	1	2	3
Epitelizasyon	Yok	İnce bir epitel tabakası ve keratinizasyon yok	Subkütan dokuya doğru yayılmış ve tabakaları net seçilebilen epitelizasyon	Keratinizasyon ve tüm tabakalar normal görünümde
Bağ Doku Oluşumu	Oluşum şekillenmemiş	Yeni şekillenmiş ve bol miktarda fibroblast içeren genç bağ doku	Fibroblastlarla beraber fibrositlerinde şekillendiği bol kollagen sentezi gözlenen bağ doku	Fibroblastların azaldığı yoğun fibrositlerin bulunduğu olgun bağ doku
Anjiogenezis	Yok	40'lık objektif alanında 10'dan az	40'lık objektif alanında 10-20 adet kılcıl damar	40'lık objektif alanında 20'den fazla kılcıl damar
İnfiltrasyon	Yok	Tek tük nötrofil infiltrasyonu	Orta şiddette nötrofil ve lenfosit infiltrasyonu	Şiddetli yangısal hücre reaksiyonu ve nekrozlar

Diş çekim bölgesinden alınan biyopsi materyallerinin tamamında epitelizasyon, anjiogenezis, bağ doku gelişimi ve infiltrasyona göre skorlamalar yapıldı. Buna göre her gruptaki hayvanın yara iyileşme puanları belirlendi. İmmünohistokimyasal incelemede aynı bölgelerdeki hücreler genellikle belirteçler yönünden benzer pozitifliğe sahiptiler. Yapılan istatistik analiz sonucunda 1. ve 2. biyopsi örneklerine ait histopatolojik ve immünohistokimyasal bulguların çoğunlukla benzer olduğu görüldü (Tablo 14). Bu yüzden 1. ve 2. biyopsi bulgularından istatistik olarak önemli olanlar değerlendirmeye katıldı.



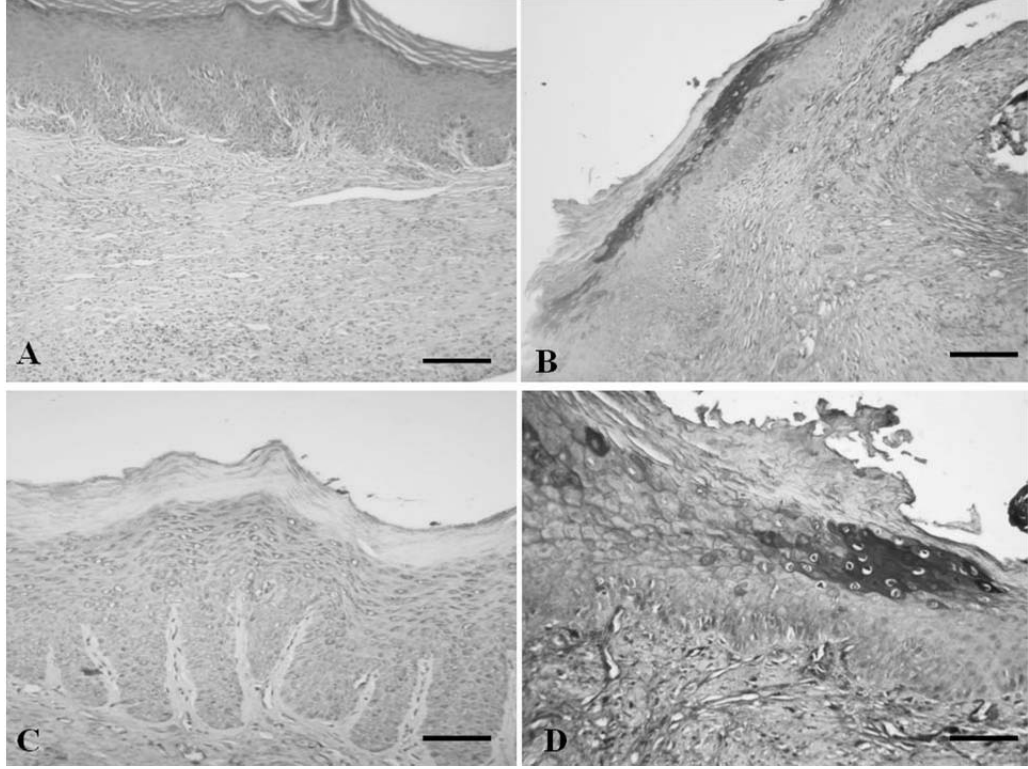
Şekil 4: Birinci grup, birinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi, HE, Bar= 200 µm; B) angiogenin reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) IL-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm.



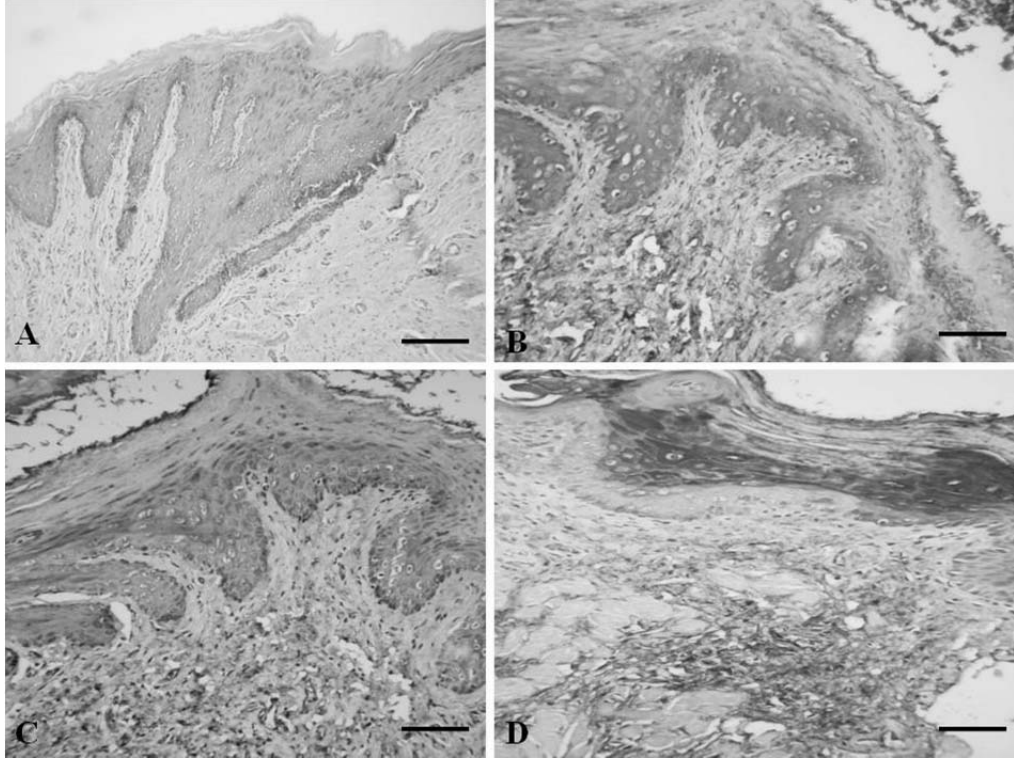
Şekil 5: Birinci grup, ikinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve yangısal hücre infiltrasyonları, HE, Bar= 200 μ m; B) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m; C) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m; D) ECGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 μ m.



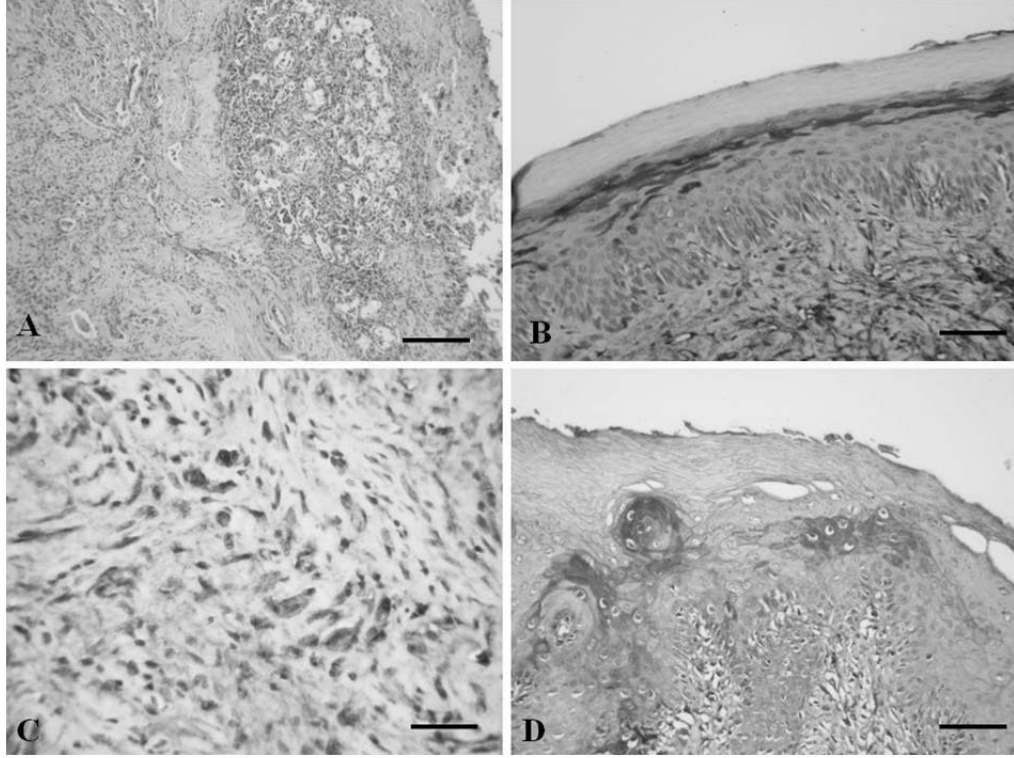
Şekil 6: İkinci grup, birinci biyopsi, dış çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve infiltrasyonlar, HE, Bar= 200 µm; B) angiogenin reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; C) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; D) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm.



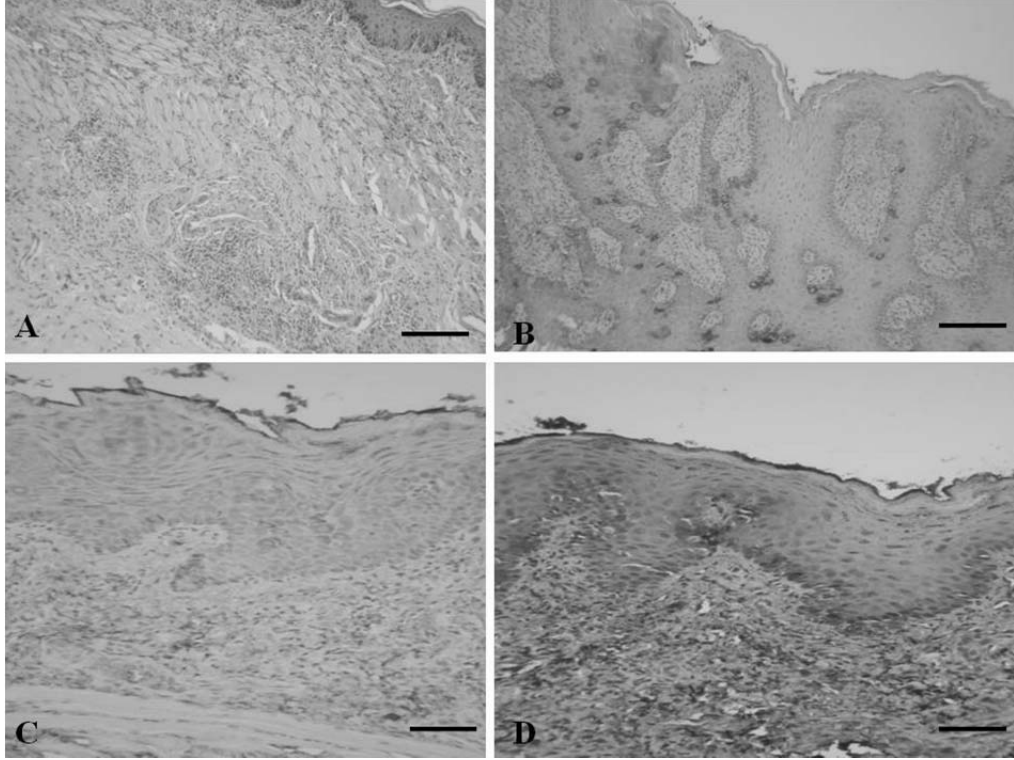
Şekil 7: İkinci grup, ikinci biyopsi, dış çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve epitelizasyon, HE, Bar= 200 µm; B) GCSF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm.



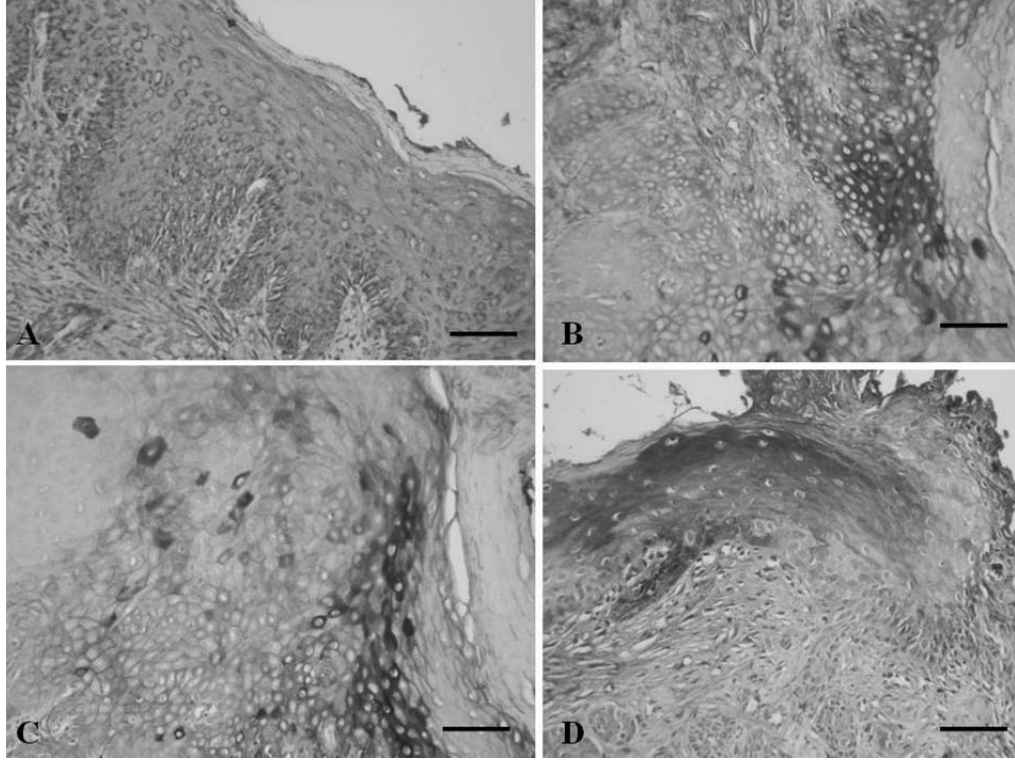
Şekil 8: Üçüncü grup, birinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

- A) Bağ doku gelişimi ve şiddetli yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) Angiogenin reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) IL-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; D) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm.



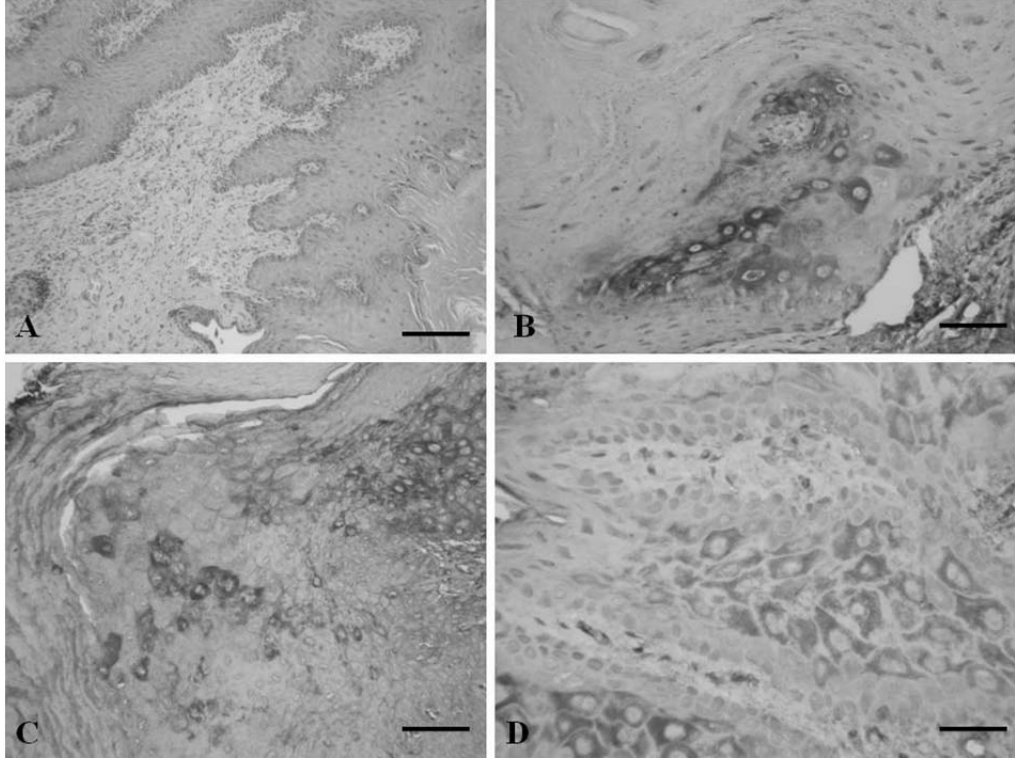
Şekil 9: Üçüncü grup, ikinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve şiddetli yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 μ m; B) TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 μ m; C) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m; D) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m.



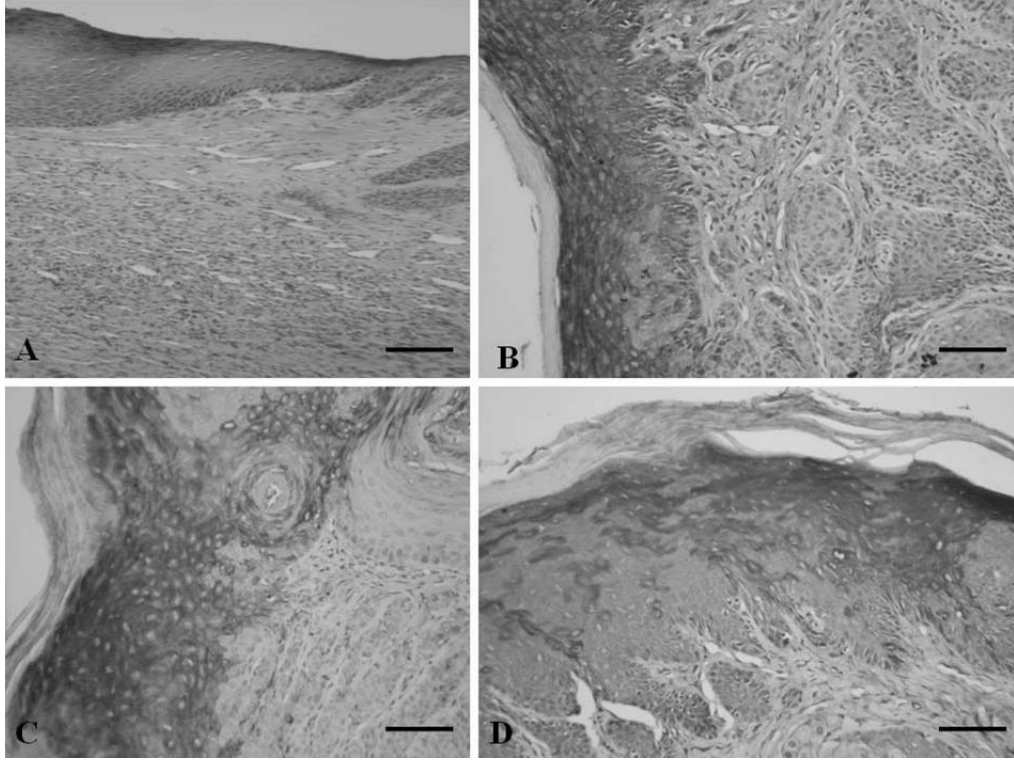
Şekil 10: Dördüncü grup, birinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu; Bar= 100 μ m B) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m; C) TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m; D) ECGFb reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar=100 μ m.



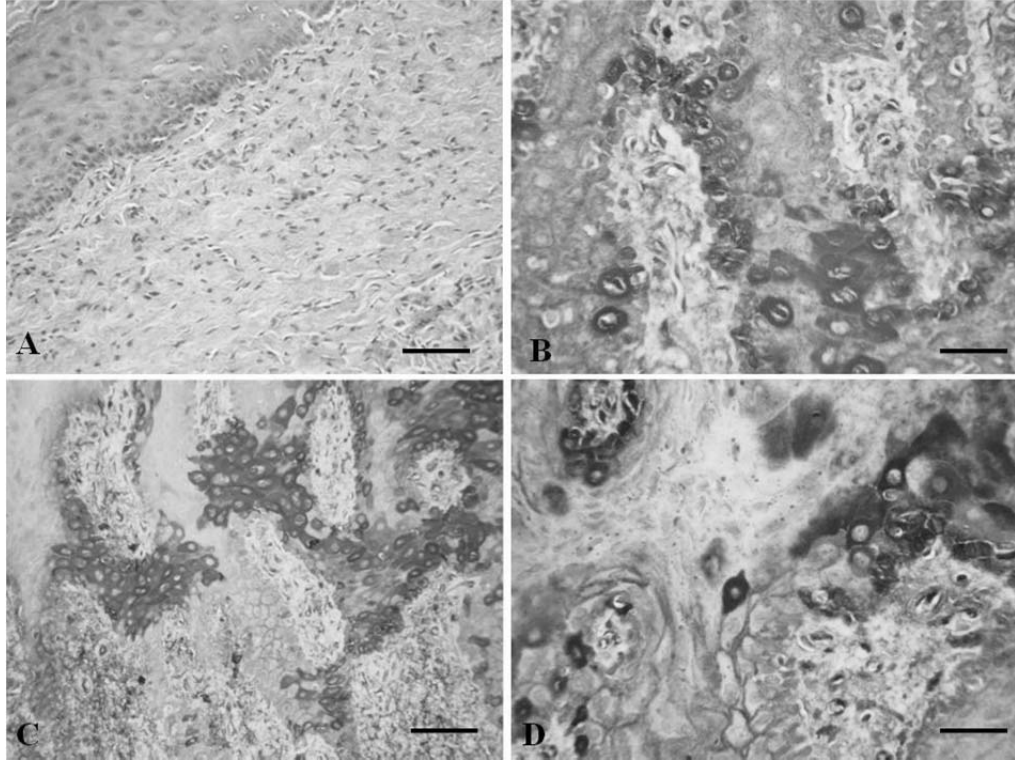
Şekil 11: Dördüncü grup, ikinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve epitelizasyon, HE, Bar= 200 μm ; B)Angiogenin reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μm ; C) TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μm ; D) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 μm .



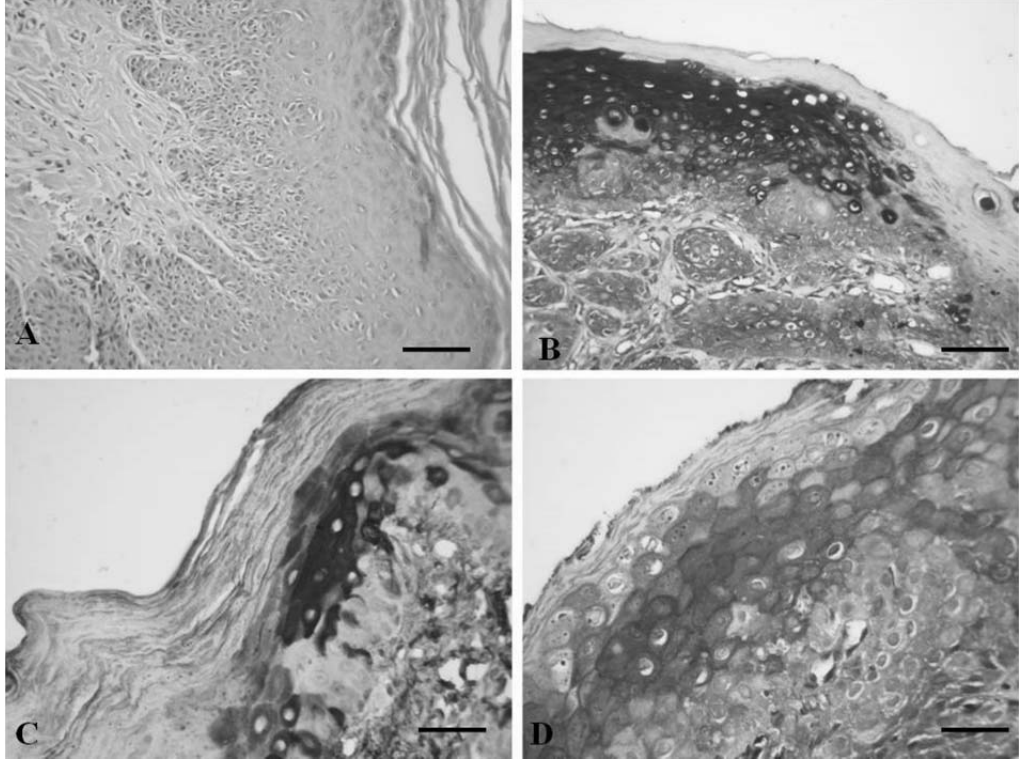
Şekil 12: Beşinci grup, birinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 μ m; B) IL-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m; C) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m; D) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m.



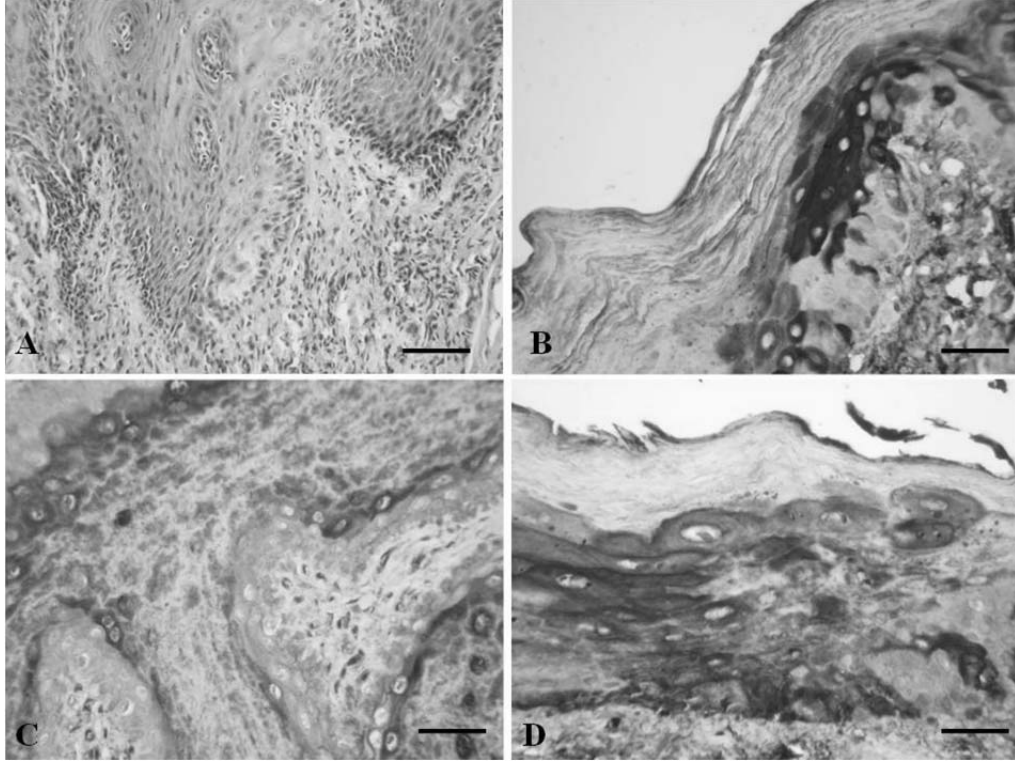
Şekil 13: Beşinci grup, ikinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve hafif yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 μ m; B) Angiogenin reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 μ m; C) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m; D) TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 μ m.



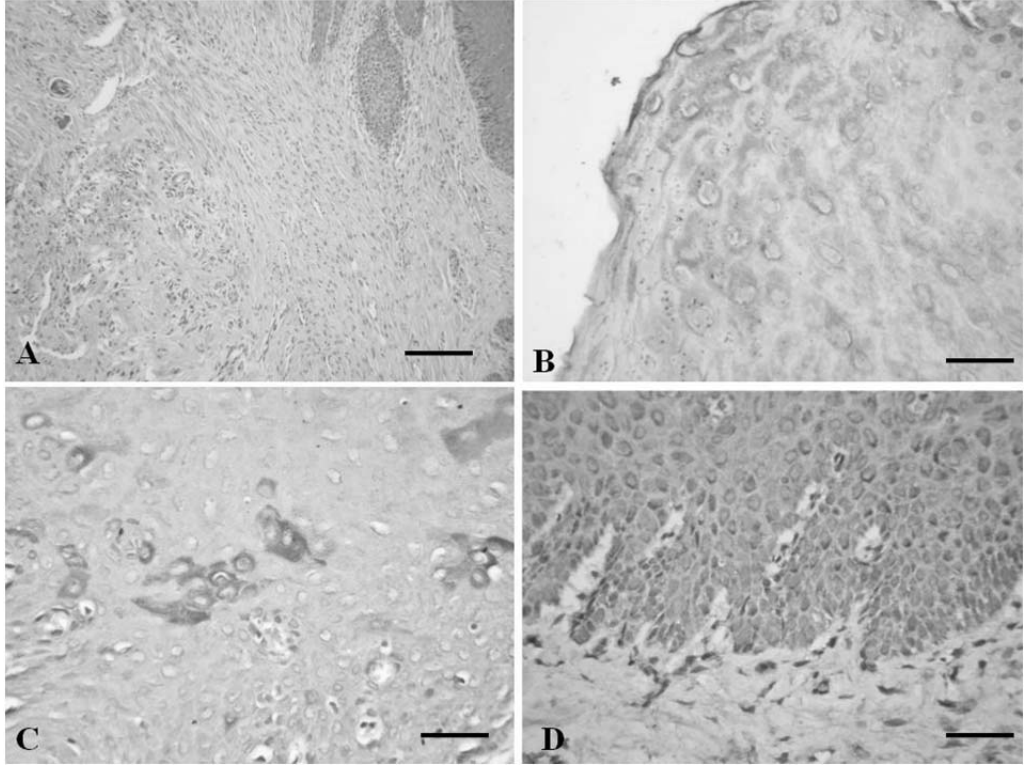
Şekil 14: Altıncı grup, birinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi, azalmış ve yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) Şiddetli IL-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) Şiddetli ECGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; D) Yoğun TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm.



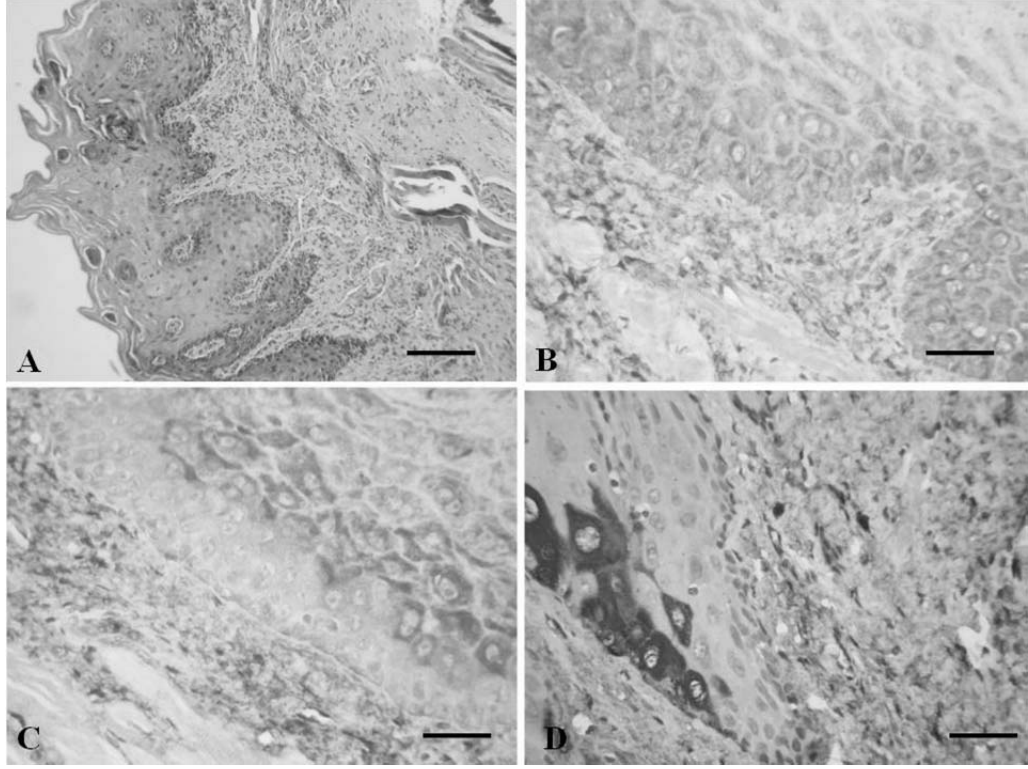
Şekil 15: Altıncı grup, ikinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Epitelizasyon ve yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) ECGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; C) VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; D) IL-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm.



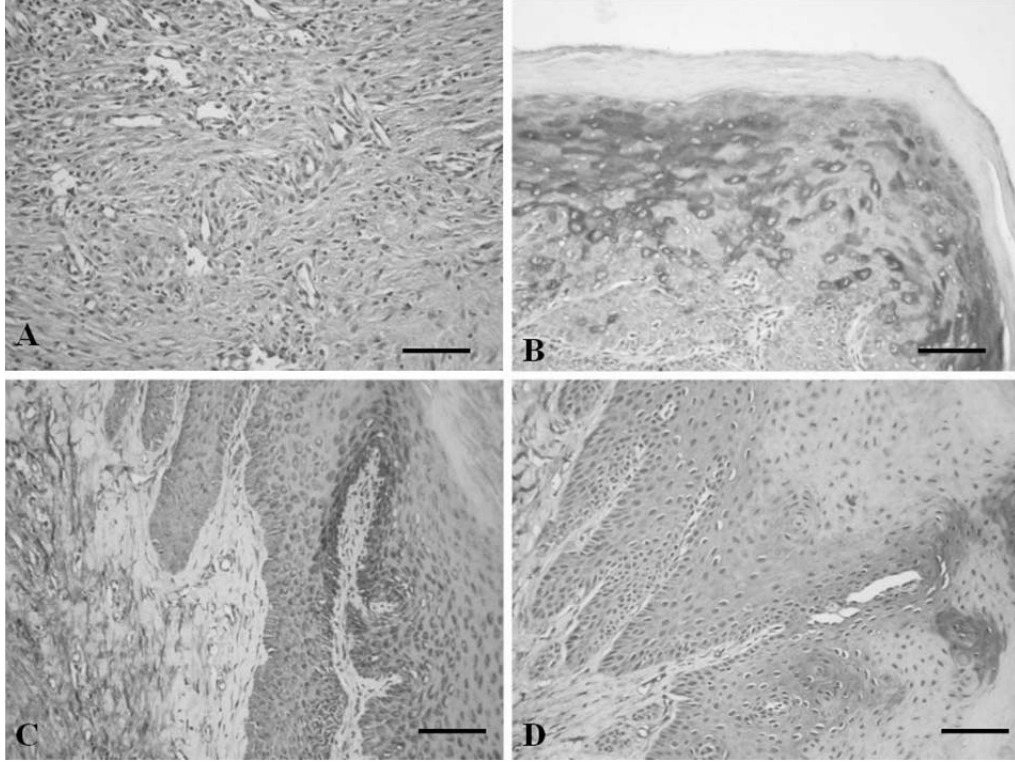
Şekil 16: Yedinci grup, birinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve şiddetli yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 μ m; B) Azalmış TGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 μ m; C) Azalmış GCSF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 μ m; D) Azalmış IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 μ m.



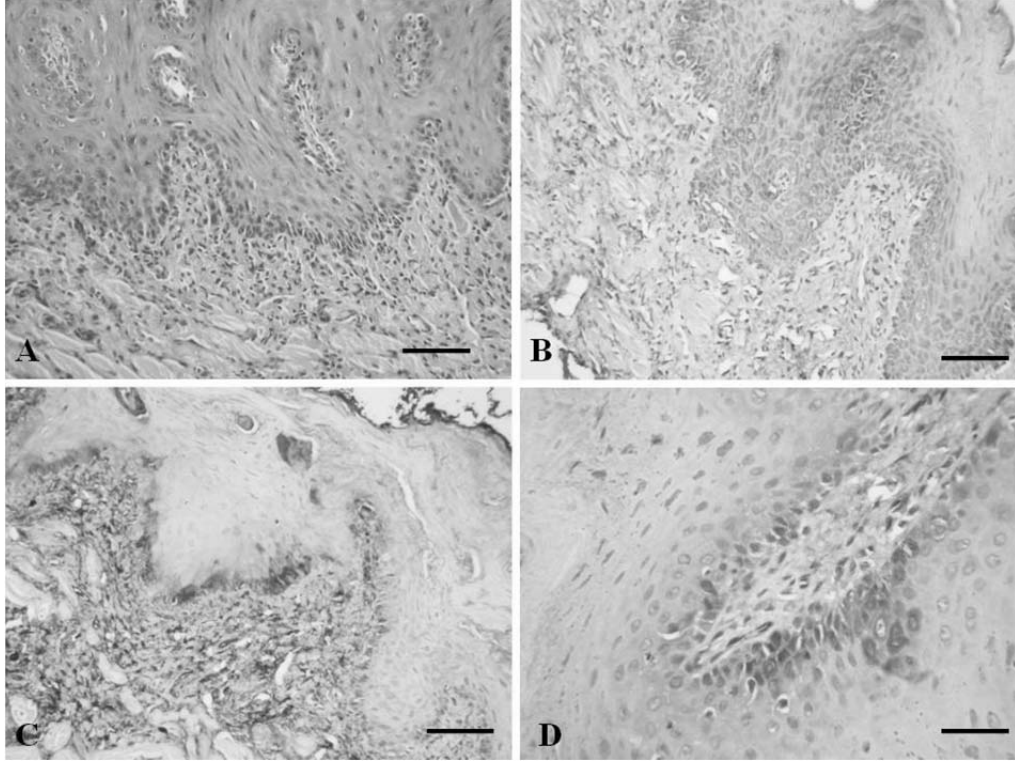
Şekil 17: Yedinci grup, ikinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve şiddetli yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) Azalmış IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; C) Azalmış VEGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm; D) Azalmış ECGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 50 µm.



Şekil 18: Sekizinci grup, birinci biyopsi, dış çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) PDGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 100 µm; C) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; D) GCSF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm.



Şekil 19: Sekizinci grup, ikinci biyopsi, diş çekim bölgesi.

A) Bağ doku gelişimi ve yangısal reaksiyon, HE, Bar= 200 µm; B) IL-8 reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; C) aFGF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µm; D) GCSF reaksiyonu, streptoavidin biotin peroksidaz metodu, Bar=200 µm.

ZA'nın belirteçlere etkileri, sadece ZA uygulanan 7 nolu grup ile kontrol grubuna ait skorlar; tek başına uygulandığında bFGF'nin belirteçlere etkisi, sadece bFGF uygulanan 2, 4, 6 nolu gruplar ile kontrol grubuna ait skorlar; ZA varlığında bFGF'nin belirteçlere etkileri, hem ZA hem bFGF'nin birlikte uygulandığı 1, 3, 5 nolu gruplar ile sadece ZA uygulanan 7 nolu grubun skorları karşılaştırılarak değerlendirildi.

ZA'nın anjiogenezis skorunu önemli derecede düşürdüğü görüldü ($p < 0,05$, Tablo 12). ZA uygulanmayan gruplarda bFGF 'nin anjiogenezise istatistik olarak önemli derecede olumlu etki ettiği görüldü ($p < 0,05$, tablo 13). Hem bFGF hem ZA uygulanan 1 ve 5 nolu grupların anjiogenezis skoru, sadece ZA uygulanan 7 nolu grubun anjiogenezis skorundan daha yüksekti ($p < 0,05$, tablo 13). ZA uygulanan

gruplarda bFGF dozu arttıkça anjiogenezis skorunun önemli derecede arttığı gözlemlendi ($p<0,05$, tablo 13).

ZA'nın epitelizasyon skorunu istatistik olarak önemli derecede düşürdüğü kaydedildi ($p<0,05$, tablo 12). Sadece bFGF uygulanan 2, 4, 6 nolu gruplar kontrol grubuna kıyasla önemli derecede daha yüksek epitelizasyon skoruna sahipti ($p<0,05$, tablo 13). bFGF dozu 2275 ng/kg olduğunda ZA'nın epitelizasyona etkisinin en az olduğu gözlemlendi ($p<0,05$, tablo 13).

ZA'nın bağ dokusu skorunu arttırdığı ancak bu artışın istatistik olarak önemli olmadığı görüldü ($p<0,05$, tablo 12). Hem ZA ile birlikte hem de tek başına uygulandığında bFGF'nin bağ doku skorunu olumlu etkilediği ancak bu etkinin sadece ZA uygulanmayan gruplarda istatistik olarak önemli olduğu kaydedildi ($p<0,05$, tablo 13).

ZA'nın infiltrasyon skorunu istatistik olarak önemli miktarda arttırdığı gözlemlendi ($p<0,05$, tablo 12). bFGF'nin, hem ZA ile birlikte hem de tek başına uygulandığında infiltrasyon skorunu düşürdüğü ancak bu düşüşlerin istatistik olarak önemli olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$, tablo 13). Birinci biyopside kontrol grubuna ait infiltrasyon skorunun, 2.biyopsideki infiltrasyon skoruna kıyasla istatistik olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görüldü ($p<0,05$, tablo 14).

ZA'nın VEGF salınımını düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistik olarak önemli olmadığı görüldü ($p>0,05$, tablo 12). Hem ZA ile birlikte hem de tek başına uygulandığında bFGF'nin VEGF salınımını arttırdığı ancak bu artışın istatistik olarak önemli olmadığı kaydedildi ($p>0,05$, Tablo 13).

ZA'nın PDGF salınımını düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistik olarak önemli olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$, Tablo 12). Hem tek başına hem de ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin PDGF salınımını istatistik olarak önemli miktarda arttırdığı rapor edildi ($p<0,05$, tablo 13).

ZA'nın angiogenin salınımını düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistik olarak önemli olmadığı görüldü ($p>0,05$, tablo 12). Hem ZA ile birlikte hem de tek başına uygulandığında bFGF angiogenin salınımını arttırdığı ancak bu artışın sadece tek başına bFGF uygulandığında istatistik olarak önemli olduğu kaydedildi ($p<0,05$, tablo 13). Kontrol grubuna ait 1. ve 2. biyopsi örnekleri angiogenin salınımları

arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğu ve 1. biyopsi örneklerinde önemli miktarda daha yüksek angiogenin salınımı görüldüğü rapor edildi ($p < 0,05$, tablo 14).

ZA'nın IL-8 salınımını önemli derecede düşürdüğü gözlemlendi ($p < 0,05$, tablo 12). ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin IL-8 salınımını istatistik olarak önemli miktarda arttırdığı kaydedildi ($p < 0,05$, tablo 13). Tek başına uygulandığında bFGF'nin IL-8 salınımını arttırdığı ancak bu artışın istatistik olarak önemli olmadığı gözlemlendi ($p > 0,05$, tablo 13).

ZA'nın IL-3 salınımını düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistik olarak önemli olmadığı görüldü ($p > 0,05$, tablo 12). Hem tek başına hem de ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin, IL-3 salınımını önemli derecede arttırdığı görüldü ($p < 0,05$, Tablo 13).

ZA'nın PD-ECGF salınımını düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistik olarak önemli olmadığı rapor edildi ($p > 0,05$, tablo 12). Hem tek başına hem de ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin PD- ECGF salınımını arttırdığı ancak bu artışların istatistik olarak önemli olmadığı görüldü ($p > 0,05$, tablo 13).

ZA'nın GCSF salınımını düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistik olarak önemli olmadığı görüldü ($p > 0,05$, tablo 12). Hem ZA ile birlikte hem de tek başına uygulandığında bFGF'nin GCSF salınımının istatistik olarak önemli miktarda arttırdığı kaydedildi ($p < 0,05$, tablo 13).

ZA'nın TGF- Alfa salınımını düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistik olarak önemli olmadığı gözlemlendi ($p > 0,05$, tablo 12). Tek başına uygulandığında bFGF'nin TGF- Alfa salınımını arttırdığı ancak bu artışların içinde sadece 2275 ng/kg bFGF dozunda görülen artışın istatistik olarak önemli olduğu görüldü ($p < 0,05$, tablo 13). ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin TGF- Alfa salınımını arttırdığı ancak bu artışın istatistik olarak önemli olmadığı kaydedildi ($p > 0,05$, Tablo 13).

ZA'nın aFGF salınımını düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistik olarak önemli olmadığı gözlemlendi ($p > 0,05$, Tablo 12). Hem tek başına hem de ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin aFGF salınımını arttırdığı kaydedildi ($p < 0,05$, Tablo 13).

Tablo 14: Bütün bFGF dozlarında ZA'nın tüm özelliklere etkisi.

	ZA var yok	90 ng/kg bFG (doz1)		450 ng/kg bFG (doz2)		2275 ng/kg bFG (doz3)		bFGF yok (doz4)	
		N	Ortalama Rank	N	Ortalama Rank	N	Ortalama Rank	N	Ortalama Rank
Anjiogenezis	yok	8	10	7	7,43	7	8,14	7	7,14
1.Biyopsi	var	8	7	6	6,5	6	5,67	6	6,83
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
Epitelizasyon	yok	8	10,5	7	7,36	7	8,57	7	6,79
1.Biyopsi	var	8	6,5	6	6,58	6	5,17	6	7,25
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
Bağ doku 1.	yok	8	10	7	7,93	7	7,79	7	6,21
Biyopsi	var	8	7	6	5,92	6	6,08	6	7,92
	Toplam	16	*p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
İnfiltrasyon	yok	8	6,88	7	5,71	7	5,29	7	5,29
1.Biyopsi	var	8	10,13	6	8,5	6	9	6	9
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
VEGF 1.Biyopsi	yok	8	10,56	7	8,79	7	9	7	8,86
	var	8	6,44	6	4,92	6	4,67	6	4,83
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
PDGF 1.Biyopsi	yok	8	8,25	7	7,36	7	8	7	7,86
	var	8	8,75	6	6,58	6	5,83	6	6
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
Angiogenin	yok	8	9,88	7	8,93	7	8,07	7	7,29
1.Biyopsi	var	8	7,13	6	4,75	6	5,75	6	6,67
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
IL- 8 1.Biyopsi	yok	8	9,75	7	8,43	7	6,71	7	8,29
	var	8	7,25	6	5,33	6	7,33	6	5,5
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
IL-3 1.Biyopsi	yok	8	10,13	7	7,43	7	8,14	7	6,43
	var	8	6,88	6	6,5	6	5,67	6	7,67
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
PD-ECGF	yok	8	9,88	7	7,71	7	7	7	7,29
1.Biyopsi	var	8	7,13	6	6,17	6	7	6	6,67
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
GCSF 1.Biyopsi	yok	8	10,38	7	6,79	7	6,57	7	5,79
	var	8	6,63	6	7,25	6	7,5	6	8,42
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
TGF-Alfa	yok	8	9,31	7	7,86	7	8,79	7	8,29
1.Biyopsi	var	8	7,69	6	6	6	4,92	6	5,5
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
aFGF 1.Biyopsi	yok	8	9,38	7	6,93	7	7,64	7	7,43
	var	8	7,63	6	7,08	6	6,25	6	6,5
	Toplam	16	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS	13	p>0.05 NS
Anjiogenezis	yok	8	7,5	6	8,17	8	6,75	7	7,64
2.Biyopsi	var	8	9,5	5	3,4	4	6	4	3,13

	Toplam	16	p>0.05 NS	11	p<0,05	12	p<0,05	11	p<0,05
--	--------	----	-----------	----	--------	----	--------	----	--------

Tablo 15: Bütün bFGF dozlarında ZA'nın tüm özelliklere etkisi (Devamı).

Epitelizasyon	yok	8	9,75	6	6,75	8	6,19	7	7,57
2.Biyopsi	var	8	7,25	5	5,1	4	7,13	4	3,25
	Toplam	16	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS	12	p>0.05 NS	11	**p<0,05
Bağ doku 2. Biyopsi	yok	8	8,5	6	6	8	7,13	7	4,86
	var	8	8,5	5	6	4	5,25	4	8
	Toplam	16	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS	12	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS
İnfiltrasyon	yok	8	5,94	6	4,33	8	6,13	7	4,14
2.Biyopsi	var	8	11,06	5	8	4	7,25	4	9,25
	Toplam	16	p<0,05	11	p>0.05 NS	12	p>0.05 NS	11	p<0,05
VEGF 2.Biyopsi	Yok	8	11	6	8,17	8	6,88	7	7,14
	Var	8	6	5	3,4	4	5,75	4	4
	Toplam	16	p<0,05	11	p<0,05	12	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS
PDGF 2.Biyopsi	yok	8	10,06	6	6,17	8	7,25	7	6,71
	var	8	6,94	5	5,8	4	5	4	4,75
	Toplam	16	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS	12	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS
Angiogenin	yok	8	9,75	6	7,33	8	8,38	7	6,86
2.Biyopsi	var	8	7,25	5	4,4	4	2,75	4	4,5
	Toplam	16	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS	12	p<0,05	11	p>0.05 NS
IL-8 2. Biyopsi	Yok	8	11,38	6	6	8	7,25	7	7,57
	Var	8	5,63	5	6	4	5	4	3,25
	Toplam	16	p<0,05	11	p>0.05 NS	12	p>0.05 NS	11	p<0,05
IL-3 2.Biyopsi	yok	8	8,56	6	5,58	8	7	7	6,86
	var	8	8,44	5	6,5	4	5,5	4	4,5
	Toplam	16	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS	12	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS
PD-ECGF	Yok	8	8,38	6	6	8	7,13	7	6,36
2.Biyopsi	Var	8	8,63	5	6	4	5,25	4	5,38
	Toplam	16	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS	12	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS
GCSF 2. Biyopsi	yok	8	9,5	6	6,83	8	7,5	7	6,71
	var	8	7,5	5	5	4	4,5	4	4,75
	Toplam	16	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS	12	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS
TGF- Alfa	yok	8	10,69	6	8,08	8	7	7	6,43
2.Biyopsi	var	8	6,31	5	3,5	4	5,5	4	5,25
	Toplam	16	p>0.05 NS	11	p<0,05	12	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS
aFGF 2.Biyopsi	yok	8	8,5	6	7,83	8	5,94	7	6
	var	8	8,5	5	3,8	4	7,63	4	6
	Toplam	16	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS	12	p>0.05 NS	11	p>0.05 NS

* p>0.05 NS; p(probability), NS(Non Istatistically), İstatistik olarak önemsiz

** p<0,05; İstatistik olarak önemli

Tablo 16: ZA uygulaması yapıldığı ve yapılmadığında bütün bFGF dozlarının tüm özelliklere etkisi.

	bFGF Doz	N	ZA Var		ZA Yok	
			Ortalama Rank	N	Ortalama Rank	N
Anjiogenezis 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	9,25b	8	13,13ab	
	450ng/kg (doz2)	6	16,67a	7	16,29ab	
	2275ng/kg(doz3)	6	18,33a	7	21,07a	
	bFGFyok (doz4)	6	11,17ab	7	9,79b	
	Toplam	26		29		
Epitelizasyon 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	9,63	8	12,06ab	
	450ng/kg (doz2)	6	16,83	7	19,07a	
	2275ng/kg(doz3)	6	14,67	7	19,07a	
	bFGFyok (doz4)	6	14,17	7	10,21b	
	Toplam	26		29		
Bağ doku 1. Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	8	8	9,44b	
	450ng/kg (doz2)	6	16,17	7	21,21a	
	2275ng/kg(doz3)	6	17,83	7	21,21a	
	bFGFyok (doz4)	6	13,83	7	8,93b	
	Toplam	26		29		
İnfiltrasyon 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	13,13	8	17,19	
	450ng/kg (doz2)	6	10,5	7	11,43	
	2275ng/kg(doz3)	6	14,17	7	12,43	
	bFGFyok (doz4)	6	16,33	7	18,64	
	Toplam	26		29		
VEGF 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	16,13	8	15,44	
	450ng/kg (doz2)	6	15,75	7	17,14	
	2275ng/kg(doz3)	6	12,25	7	15,79	
	bFGFyok (doz4)	6	9	7	11,57	
	Toplam	26		29		
PDGF 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	12,56ab	8	12bc	
	450ng/kg (doz2)	6	17,83a	7	18,71ab	
	2275ng/kg(doz3)	6	17,83a	7	21,29a	
	bFGFyok (doz4)	6	6,08b	7	8,43c	
	Toplam	26		29		
Angiogenin 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	11	8	11,69b	
	450ng/kg (doz2)	6	14	7	19,14a	
	2275ng/kg(doz3)	6	18,75	7	20,71a	
	bFGFyok (doz4)	6	11,08	7	8,93b	
	Toplam	26		29		
İL- 8 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	9,75	8	10,38	
	450ng/kg (doz2)	6	14,75	7	18,43	
	2275ng/kg(doz3)	6	17,75	7	14,71	
	bFGFyok (doz4)	6	13	7	17,14	
	Toplam	26		29		
İL-3 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	10,38b	8	14,25a	
	450ng/kg (doz2)	6	20a	7	19,86a	
	2275ng/kg(doz3)	6	15,33ab	7	19,71a	
	bFGFyok (doz4)	6	9,33b	7	6,29b	
	Toplam	26		29		
PD-ECGF 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	9,94	8	13,56	
	450ng/kg (doz2)	6	15,33	7	17,29	
	2275ng/kg(doz3)	6	19,33	7	18,5	
	bFGFyok (doz4)	6	10,58	7	10,86	
	Toplam	26		29		
GCSF 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	6,44b	8	12,19b	
	450ng/kg (doz2)	6	18,25a	7	20,29a	
	2275ng/kg(doz3)	6	18a	7	19a	
	bFGFyok (doz4)	6	13,67a	7	8,93b	
	Toplam	26		29		
TGF- Alfa 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	10,56	8	9,63b	
	450ng/kg (doz2)	6	14,5	7	14,71b	
	2275ng/kg(doz3)	6	19,42	7	23,29a	
	bFGFyok (doz4)	6	10,5	7	13,14b	
	Toplam	26		29		

aFGF 1.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	12,5	8	15,25
	450ng/kg (doz2)	6	14,92	7	14,07
	2275ng/kg(doz3)	6	16,92	7	19,14
	bFGFyok (doz4)	6	10	7	11,5
	Toplam	26		29	

Tablo 17: ZA uygulaması yapıldığı ve yapılmadığında bütün bFGF dozlarının tüm özelliklere etkisi (Devamı)

Anjiogenezis 2.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	13ab	8	8,25b
	450ng/kg (doz2)	5	7,3bc	6	19,5a
	2275ng/kg(doz3)	4	16,75a	8	18,94a
	bFGFyok (doz4)	4	5,88c	7	14,36ab
	Toplam	21		29	
Epitelizasyon 2.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	8,75ab	8	11,13
	450ng/kg (doz2)	5	14,3ab	6	18,5
	2275ng/kg(doz3)	4	15,75a	8	17,25
	bFGFyok (doz4)	4	6,63b	7	13,86
	Toplam	21		29	
Bağ doku 2. Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	7,38	8	8,75b
	450ng/kg (doz2)	5	13,4	6	18,75a
	2275ng/kg(doz3)	4	12,25	8	21,88a
	bFGFyok (doz4)	4	14	7	11,07b
	Toplam	21		29	
İnfiltrasyon 2.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	11,63	8	17,81
	450ng/kg (doz2)	5	10,6	6	13
	2275ng/kg(doz3)	4	8,5	8	16,94
	bFGFyok (doz4)	4	12,75	7	11,29
	Toplam	21		29	
VEGF 2.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	10,06	8	14,88
	450ng/kg (doz2)	5	10,2	6	17,33
	2275ng/kg(doz3)	4	15,88	8	16,25
	bFGFyok (doz4)	4	9	7	11,71
	Toplam	21		29	
PDGF 2.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	10,63	8	16,38
	450ng/kg (doz2)	5	11	6	11,92
	2275ng/kg(doz3)	4	15,5	8	19,56
	bFGFyok (doz4)	4	7,25	7	10,86
	Toplam	21		29	
Angiogenin 2.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	11,25	8	10,5
	450ng/kg (doz2)	5	12,3	6	15,67
	2275ng/kg(doz3)	4	8,63	8	20
	bFGFyok (doz4)	4	11,25	7	13,86
	Toplam	21		29	
IL-8 2. Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	10,13ab	8	18,25
	450ng/kg (doz2)	5	15,7a	6	15,08
	2275ng/kg(doz3)	4	12,5ab	8	14,75
	bFGFyok (doz4)	4	5,38b	7	11,5
	Toplam	21		29	
IL-3 2.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	8,31 bc	8	10b
	450ng/kg (doz2)	5	15,3ab	6	16,67ab
	2275ng/kg(doz3)	4	16a	8	22,5a
	bFGFyok (doz4)	4	6c	7	10,71b
	Toplam	21		29	
PD-ECGF 2.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	10,44	8	12,13
	450ng/kg (doz2)	5	11,5	6	14,17
	2275ng/kg(doz3)	4	12,5	8	19,06
	bFGFyok (doz4)	4	10	7	14,36
	Toplam	21		29	
GCSF 2. Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	8,5b	8	9,75b
	450ng/kg (doz2)	5	12ab	6	15ab
	2275ng/kg(doz3)	4	17,25a	8	22,88a
	bFGFyok (doz4)	4	8,5b	7	12b
	Toplam	21		29	
TGF-Alfa 2.Biyopsi	90ng/kg (doz1)	8	10	8	15,5
	450ng/kg (doz2)	5	8,7	6	14,08
	2275ng/kg(doz3)	4	15,63	8	20,19
	bFGFyok (doz4)	4	11,25	7	9,29
	Toplam	21		29	

	Toplam	21		29	
	90ng/kg (doz1)	8	9,31b	8	10,56b
	450ng/kg (doz2)	5	10,2b	6	20,5a
aFGF 2.Biyopsi	2275ng/kg(doz3)	4	18,75a	8	20,75a
	bFGFyok (doz4)	4	7,63b	7	8,79b
	Toplam	21		29	

*Tabloda harfler her bir bFGF dozu-ZA kombinasyonunda bFGF dozları arasındaki farklılıkları göstermektedir.

Tablo 18: Tüm gruplarda 1. ve 2. biyopsiler arasındaki farklar.

		ZA var + 90ng/kg bFGF		ZA yok + 90ng/kg bFGF		ZA var + 450ng/kg bFGF		ZA yok + 450ng/kg bFGF		ZA var + 2275ng/kg bFGF		ZA yok+ 22750ng/kg bFGF		ZA var bFGF yok		ZA ve bFGF yok	
		N	Ortalama Rank	N	Ortalama Rank	N	Ortalama Rank	N	Ortalama Rank	N	Ortalama Rank	N	Ortalama Rank	N	Ortalama Rank	N	Ortalama Rank
Anjiogenezis 2.Biyopsi	Negatif Ranklar	0 ^g	0	3 ^g	2,5	3 ^g	2	0 ^g	0	1 ^g	1,5	2 ^g	2	3 ^g	2	0 ^g	0
	Pozitif Ranklar	4 ^h	2,5	1 ^h	2,5	0 ^h	0	2 ^h	1,5	1 ^h	1,5	1 ^h	2	0 ^h	0	4 ^h	2,5
Anjiogenezis 1.Biyopsi	Ties	4 ⁱ		4 ⁱ		2 ⁱ		4 ⁱ		2 ⁱ		4 ⁱ		1 ⁱ		3 ⁱ	
	Toplam	8	p<0,05**	8	p>0,05 NS	5	p>0,05 NS	6	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p<0,05
Epitelizasyon 2.Biyopsi	Negatif Ranklar	0 ^d	0	2 ^d	1,5	3 ^d	2	1 ^d	1,5	1 ^d	2,5	2 ^d	3	1 ^d	1	0 ^d	0
	Pozitif Ranklar	1 ^e	1	1 ^e	3	1 ^e	4	1 ^e	1,5	3 ^e	2,5	2 ^e	2	0 ^e	0	2 ^e	1,5
Epitelizasyon 1.Biyopsi	Ties	7 ^f	d	5 ^f		1 ^f		4 ^f		0 ^f		3 ^f		3 ^f		5 ^f	
	Toplam	8	p>0,05 NS	8	p>0,05 NS	5	p>0,05 NS	6	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p>0,05 NS
Bağ doku 2. Biyopsi - Bağ doku 1. Biyopsi	Negatif Ranklar	0 ^a	0	2 ^a	2,5	2 ^a	2,5	2 ^a	1,5	1 ^a	1,5	2 ^a	2,5	0 ^a	0	0 ^a	0
	Pozitif Ranklar	3 ^b	2	2 ^b	2,5	2 ^b	2,5	0 ^b	0	1 ^b	1,5	2 ^b	2,5	2 ^b	1,5	2 ^b	1,5
	Ties	5 ^c		4 ^c		1 ^c		4 ^c		2 ^c		3 ^c		2 ^c		5 ^c	
	Toplam	8	p>0,05NS *	8	p>0,05 NS	5	p>0,05 NS	6	p>0,05 NS	4	p>0,05NS	7	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p>0,05NS
İnfiltrasyon 2.Biyopsi	Negatif Ranklar	1 ^j	2,5	3 ^j	2	1 ^j	2	2 ^j	2,5	1 ^j	1	2 ^j	1,5	1 ^j	2	5 ^j	3
	Pozitif Ranklar	3 ^k	2,5	1 ^k	4	2 ^k	2	2 ^k	2,5	0 ^k	0	2 ^k	3,5	2 ^k	2	0 ^k	0
İnfiltrasyon 1.Biyopsi	Ties	4 ^l		4 ^l		2 ^l		2 ^l		3 ^l		3 ^l		1 ^l		2 ^l	
	Toplam	8	p>0,05 NS	8	p>0,05 NS	5	p>0,05 NS	6	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p<0,05
VEGF 2.Biyopsi	Negatif Ranklar	4 ^s	3,5	2 ^s	2,5	3 ^s	3	0 ^s	0	0 ^s	0	2 ^s	3	1 ^s	1,5	3 ^s	3
	Pozitif Ranklar	2 ^t	3,5	2 ^t	2,5	2 ^t	3	1 ^t	1	3 ^t	2	3 ^t	3	2 ^t	2,25	3 ^t	4
VEGF 1.Biyopsi	Ties	2 ^u		4 ^u		0 ^u		5 ^u		1 ^u		2 ^u		1 ^u		1 ^u	
	Toplam	8	p>0,05 NS	8	p>0,05 NS	5	p>0,05 NS	6	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p>0,05 NS
PDGF 1.Biyopsi	Negatif Ranklar	3 ^{ak}	3	1 ^{ak}	2,5	3 ^{ak}	2,67	3 ^{ak}	2,17	1 ^{ak}	1	2 ^{ak}	2	0 ^{ak}	0	0 ^{ak}	0
	Pozitif Ranklar	3 ^{al}	4	5 ^{al}	3,7	1 ^{al}	2	1 ^{al}	3,5	0 ^{al}	0	2 ^{al}	3	2 ^{al}	1,5	3 ^{al}	2
PDGF 1.Biyopsi	Ties	2 ^a m		2 ^a m		1 ^a m		2 ^a m		3 ^a m		3 ^a m		2 ^a m		4 ^a m	
	Toplam	8	p>0,05 NS	8	p>0,05 NS	5	p>0,05 NS	6	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p>0,05 NS	4	p>0,05 NS	7	p>0,05NS

Tablo 19: Tüm gruplarda 1. ve 2. biyopsiler arasındaki farklar (devamı).

Angiogenin 2.Biyopsi	Negatif Ranklar	0 ^m	0	1 ^m	1,5	1 ^m	2	1 ^m	4	2 ^m	1,5	1 ^m	2,5	1 ^m	1	0 ^m	0
	Pozitif Ranklar	2 ⁿ	1,5	2 ⁿ	2,25	2 ⁿ	2	3 ⁿ	2	0 ⁿ	0	3 ⁿ	2,5	1 ⁿ	2	5 ⁿ	3
	Ties	6 ^o		5 ^o		2 ^o		2 ^o		2 ^o		3 ^o		2 ^o		2 ^o	
	Toplam	8	p>0.05 NS	8	p>0.05 NS	5	p>0.05 NS	6	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	<u>p<0.05</u>
İL- 8 2.Biyopsi İL- 8 1.Biyopsi	Negatif Ranklar	1 ^p	2,5	0 ^p	0	1 ^p	2	2 ^p	2,25	2 ^p	2	1 ^p	2	3 ^p	2	3 ^p	2,5
	Pozitif Ranklar	3 ^q	2,5	4 ^q	2,5	2 ^q	2	1 ^q	1,5	1 ^q	2	2 ^q	2	0 ^q	0	1 ^q	2,5
	Ties	4 ^r		4 ^r		2 ^r		3 ^r		1 ^r		4 ^r		1 ^r		3 ^r	
	Toplam	8	p>0.05 NS	8	p>0.05 NS	5	p>0.05 NS	6	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS
İL-3 2.Biyopsi İL-3 1.Biyopsi	Negatif Ranklar	1 ^{ae}	3	3 ^{ae}	2	2 ^{ae}	2	3 ^{ae}	2	1 ^{ae}	1,5	1 ^{ae}	2	2 ^{ae}	2,25	1 ^{ae}	3
	Pozitif Ranklar	2 ^{af}	1,5	0 ^{af}	0	1 ^{af}	2	0 ^{af}	0	1 ^{af}	1,5	2 ^{af}	2	1 ^{af}	1,5	4 ^{af}	3
	Ties	5 ^{ag}		5 ^{ag}		2 ^{ag}		3 ^{ag}		2 ^{ag}		4 ^{ag}		1 ^{ag}		2 ^{ag}	
	Toplam	8	p>0.05 NS	8	p>0.05 NS	5	p>0.05 NS	6	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS
PD-ECGF 2.Biyopsi PD-ECGF 1.Biyopsi	Negatif Ranklar	2 ^v	2	2 ^v	1,5	2 ^v	1,5	4 ^v	4	1 ^v	1	4 ^v	3,75	0 ^v	0	2 ^v	3
	Pozitif Ranklar	2 ^w	3	0 ^w	0	0 ^w	0	2 ^w	2,5	0 ^w	0	3 ^w	4,33	1 ^w	1	3 ^w	3
	Ties	4 ^x		6 ^x		3 ^x		0 ^x		3 ^x		0 ^x		3 ^x		2 ^x	
	Toplam	8	p>0.05 NS	8	p>0.05 NS	5	p>0.05 NS	6	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS
GCSF 2.Biyopsi GCSF 1.Biyopsi	Negatif Ranklar	1 ^y	3,5	3 ^y	2,5	4 ^y	2,5	4 ^y	2,5	2 ^y	1,5	2 ^y	3	3 ^y	2	2 ^y	2,5
	Pozitif Ranklar	5 ^z	3,5	2 ^z	3,75	0 ^z	0	0 ^z	0	0 ^z	0	4 ^z	3,75	0 ^z	0	4 ^z	4
	Ties	2 ^{aa}		3 ^{aa}		1 ^{aa}		2 ^{aa}		2 ^{aa}		1 ^{aa}		1 ^{aa}		1 ^{aa}	
	Toplam	8	p>0.05 NS	8	p>0.05 NS	5	<u>p<0.05</u>	6	<u>p<0.05</u>	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS
TGF-Alfa 2.Biyopsi TGF- Alfa 1.Biyopsi	Negatif Ranklar	2 ^{ah}	2,5	0 ^{ah}	0	1 ^{ah}	1	1 ^{ah}	2	0 ^{ah}	0	1 ^{ah}	2	0 ^{ah}	0	2 ^{ah}	3,75
	Pozitif Ranklar	3 ^{ai}	3,33	6 ^{ai}	3,5	0 ^{ai}	0	2 ^{ai}	2	2 ^{ai}	1,5	2 ^{ai}	2	1 ^{ai}	1	3 ^{ai}	2,5
	Ties	3 ^{aj}		2 ^{aj}		4 ^{aj}		3 ^{aj}		2 ^{aj}		4 ^{aj}		3 ^{aj}		2 ^{aj}	
	Toplam	8	p>0.05 NS	8	p<0,05	5	p>0.05 NS	6	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS
aFGF	Negatif Ranklar	2 ^{ab}	2	4 ^{ab}	4	2 ^{ab}	3	0 ^{ab}	0	0 ^{ab}	0	2 ^{ab}	2	2 ^{ab}	2	2 ^{ab}	1,5

2.Biyopsi	Pozitif Ranklar	1 ^{ac}	2	2 ^{ac}	2,5	2 ^{ac}	2	3 ^{ac}	2	3 ^{ac}	2	2 ^{ac}	3	1 ^{ac}	2	0 ^{ac}	0
aFGF	Ties	5 ^{ad}		2 ^{ad}		1 ^{ad}		3 ^{ad}		1 ^{ad}		3 ^{ad}		1 ^{ad}		5 ^{ad}	
1.Biyopsi	Toplam	8	p>0.05 NS	8	p>0.05 NS	5	p>0.05 NS	6	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS	4	p>0.05 NS	7	p>0.05 NS

* p>0.05 NS; p (probablity), NS (Non Istatistically), İstatistik olarak önemsiz ** p<0,05; İstatistik olarak önemli.

5. TARTIŞMA

Patolojik durumlar üzerinde yapılan araştırmaların, insanlardan önce hayvanlarda yapılmasının önemi büyüktür. BİÇO'yu konu alan çalışmaların bir kısmı BİÇO'nun patofizyolojisini araştırırken (Bi et al., 2010, Aghaloo et al., 2011), başka çalışmalar da, diş çekimi, steroid kullanımı (Sonis et al., 2008), vitamin D eksikliği (Hokugo et al., 2010), agresif alveolar soket hasarı (Biasotto et al., 2010) gibi değişkenlerin BİÇO'ya etkilerini araştırmıştır. Bizim çalışmamızda, hem serum bFGF miktarı değerlendirilerek BİÇO'nun patofizyolojisi; hem de diğer çalışmaların aksine bFGF uygulamasının BİÇO'ya etkileri araştırıldı.

Bifosfonatların yumuşak dokuda meydana getirdiği değerişimleri konu alan çalışmalar bulunmakla beraber (Reid et al., 2007, Kobayashi et al., 2010, Allam et al., 2011, Cozin et al., 2011, Kharazmi et al., 2012), sert dokudaki etkilerini inceleyen çalışma sayısına kıyasla daha azdır. Bifosfonatların yumuşak doku iyileşmesine ve anjiogenezisine olan olumsuz etkileri üzerinde bFGF'nin tedavi edici etkilerini birçok parametre eşliğinde histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal olarak inceleyen bu çalışma, alanında yapılmış öncü çalışmalardan biridir. Yaptığımız PubMed literatür araştırmasında benzer çalışmalara rastlanmamıştır.

5.1. Deney Hayvanı

BİÇO konusunda yapılmış 20 yayın iğereren bir makale taramasında 4 (%20) makalede (Sarasquete et al., 2008, Wehrhan et al., 2011a, Wehrhan et al., 2011b, Mozzati et al., 2013) materyalin insan dokusu olduğu; 13 (%65) makalede (Claus et al., 2004, Amanat et al., 2007, Sonis et al., 2008, Kobayashi et al., 2010, Hokugo et al., 2010, Kızılkaya 2010, Bi et al., 2010, Biasotto et al., 2010, Aghaloo et al., 2011, şenel et al., 2010, Yamashita et al., 2011, Nelson-Filho et al., 2012, Lopez-Jornet et al., 2010) materyalin sadece sıçan olduğu; 2 (% 10) makalede (Allen and Burr 2008,

Burr and Allen 2009) köpek olduğu; 1 (%5) makalede (Fournier et al., 2002) materyalin hem insan dokusu hem sıçan olduğu görülmüştür. Çalışmalarda daha çok laboratuvar hayvanlarından yararlanılmıştır. 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 (Auer et al., 2007). 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. Yapılan bu çalışmada, temin edilebilme, barındırma ve besleme kolaylığı olması, ucuz olması, büyük hayvanlara göre daha kolay müdahaleye imkan tanınması, daha fazla örnek alınabilme imkanı sunması, fizyolojileri hakkında yeterli kaynak bulunması ve enfeksiyona olan dirençleri gibi avantajları nedeniyle, sıçan modeli kullanıldı (Egermann et al., 2005). Dişi memeli hayvanların dönemsel hormonal farklılıklara bağlı olarak stabil olmayan bir metabolizmaya sahip olmaları nedeniyle erkek sıçanlar kullanıldı.

5.2. Diş çekimi

Kendi kendine meydana gelen BİÇO olgularına rastlanmakla birlikte, diş çekiminin BİÇO açısından en büyük risk faktörü olduğu kaydedilmiştir (Woo et al., 2006, Kyrgidis et al., 2008, Ruggiero et al. 2009, Conte-Neto et al. 2011). Bu nedenle çalışmamızda da diş çekimi uygulandı.

Uygulanan ZA ve bFGF'nin sekonder iyileşen dişetine etkilerinin zamana bağlı değişimlerini incelemek amacıyla iyileşmiş dişetinden 45. ve 60. günlerde iki kez biyopsi alındı. Biyopsi örneğinin yeterli boyutta elde edilmesi amacıyla bütün sıçanların sol alt ve üst molar dişleri çekildi.

5.3. Biyopsi Zamanı

Yamashita et al. (2011), kökte aşırı sement birikmesinden dolayı kök kırıklarının yaşanmasına bağlı olarak sıçanlardan atravmatik diş çekiminin zor olduğunu belirterek çekimden kaçınmış ve palatinal mukozayı mukoperiostal düzeyde kazıyarak kemik ve yumuşak dokunun iyileşmesine bifosfonatın etkisini incelemiştir. 2. hafta sonunda yumuşak doku oluşumunun istenilen düzeye geri döndüğünü belirtmiştir. Şenel et al. (2010), herhangi bir cerrahi girişim uygulamadan ZA ve pamidronatın oral mukoza ve çene kemiğine etkilerini incelediği çalışmada, bifosfonat uygulaması sonrası diş kökü çevresinde BİÇO'nun erken evrelerinde rastlanan inflamasyonun görülmesi için en az 45-60 gün zaman geçmesi gerektiğini rapor etmiştir. Sonis et al. (2008), bizim çalışmamıza benzer olarak 3 molar diş aynı seansta çektikleri çalışmada çekim yarısının iyileşmesi için en az 8 haftalık zaman geçtiğini belirtmiştir. Yapılan bu çalışmada da çekim soketlerinin mukoza tarafından tamamen kapanması için 45 günlük iyileşme periyodu yeterli görülmüş olup, biyopsiler 45. ve 60. günde farklı zamanlarda alındı.

5.4. Deney Sırasında Görülen Komplikasyonlar

Deney sırasında görülen komplikasyonların başında inflamasyon gelmektedir. Bitişik konumlanan dişlerin çekimi seri şekilde yapıldıktan sonra antibiyotik, ağrı kesici ve gargara uygulanmasına rağmen 3-4 günlük süreçte sıçanlarda halsizlik; 7-8 günlük süreçte ise iştah ve kilo kaybı görüldü. Bu postoperatif bulguların neticesinde sıçanların bağışıklık sisteminin zayıfladığı ve inflamasyona yatkınlığın arttığı söylenebilir. 7-8 günün sonunda sıçanlar toparlanma evresini tamamladılar. Her sıçanda enfeksiyon oluşmasına rağmen yoğun antibiyotik ve antiseptik garagara uygulaması ile inflamasyon kısa sürede kontrol altına alındı.

5.5. ZA Uygulaması

5.5.1. Uygulama Şekli

ZA gibi güçlü bifosfonatlar IV yolla kullanıldıklarında uzun yarılanma ömürleri nedeniyle doz tekrarına gerek kalmadan etkilerini uzun süre koruyabilmektedir. ZA, IV veya subkutan (s.c.) olarak uygulanabilir. Klinikte daha çok IV olarak kullanılan bu ajan (Berenson and Hirschberg 2004, Conte et al., 2004), çoğu hayvan deneyinde de yine aynı yolla kullanılmıştır (Bobyne et al., 2005, Gasser et al., 2006, Amanat et al., 2007, Yao et al., 2007). ZA, prelinik hayvan çalışmalarında s.c. olarak uygulanmıştır ve bu teknik oldukça pratiktir (Glatt et al., 2004, Astrand et al., 2006). Sıçanlarda ZA'nın IP yöntemle uygulandığı çalışmalar da mevcuttur (Herrak et al., 2004) Bunların haricinde lokal enjeksiyonu denenen bifosfonatlar da olmuştur (Amanat et al., 2007).

5.5.2. Dozu ve Uygulama Zaman Aralığı

Hayvan deneylerinde sistemik olarak uygulanan ZA için çeşitli dozlar denenmiştir (Glatt et al., 2004, Bobyne et al., 2005, Astrand et al., 2006, Gasser et al., 2006, Amanat et al., 2007, Yao et al., 2007). Croucher et al. (2001), multipl myelom sıçan modeli yaratmayı amaçladığı çalışmasında haftada iki kez uygulanacak şekilde 120 µg/kg subkutanöz ZA enjeksiyonu yapmıştır (Toplam doz haftada 240 µg/kg ve aylık doz 960 µg/kg). Hokugo et al. (2010), sıçan üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada 2 haftalık zaman aralıkları ile 35 µg/kg dozda ZA uygulamıştır. ZA'nın klinik uygulama protokolü 4 haftalık zaman aralıkları ile 4 mg'lık doz şeklindedir (Rosen et al., 2001). Ortalama insan vücudunun 55-60 kg olduğu dikkate alınarak ortalama dozun her 4 haftalık periyotta 70 µg/kg olduğu belirlenmiştir. ZA'nın vücuttan atılım hızı tam olarak bilinmediği için 2 haftalık periyotlar ile 35 µg/kg şeklinde uygulanmış ve toplam dozu insanla eşdeğer olması sağlanmıştır (Hokugo et

al., 2010, Allam et al., 2011). Bizim çalışmamız kliniğe yönelik bir çalışma olduğu için sıçanlara ZA'nın insana eşdeğer dozu uygulandı.

5.6. bFGF Uygulaması

Büyüme faktörlerinin biyolojik yarı ömürleri çok kısadır (bFGF ve PDGF, < 2-3 dak. v.b.). Bu faktörler, enjekte edildiklerinde hızlı bir şekilde kandan uzaklaştırılır ve doku bariyerlerinden özellikle kapiller duvarlardan yavaş bir şekilde penetre olurlar (Haller and Saltzman 1998, Tabata et al., 1999). Bu nedenlerden dolayı, sistemik uygulama sırasında farmakolojik etkinin oluşabilmesi için yüksek dozda ilaç kullanımı istenmeyen yan etkilere (hipotansiyon, taşikardi v.b) neden olmaktadır (Deguchi et al., 2000). Norrby (1994), bFGF'nin hangi dozlarda daha kuvvetli anjiogenik etkinlik içinde bulunduğunu araştırdığı çalışmasında da doza bağlı olarak bFGF'nin anjiogenezis etkinliğinin değiştiğini vurgulamıştır. Bu yüzden bizim çalışmamızda da kısa zaman aralıklarında ve yüksek dozdan kaçınarak ilaç uygulanmıştır.

5.7. ZA'nın bFGF Seviyesine Etkisi

Wood et al. (2002), sıçanlarda bFGF emdirilmiş subkütanöz implant yerleştirilerek ZA'nın anjiogenezise etkisini araştırdığı çalışmasında, ZA'nın bFGF'nin uyardığı anjiogenezisi olumsuz etkilediğini belirtmiştir. Klodronat ile ilişkili osteonekrozun, klodronatın endotelial hücre proliferatif aktivitesi üzerinde direk inhibisyon etkisiyle alakalı olduğu belirtilmektedir. Klodronat'ın bu etkisini bFGF gibi güçlü anjiogenik faktörlerin etkinliğini azaltarak yaptığı düşünülmektedir (Ribatti et al., 2008). İlk ZA uygulamasından sonra serum bFGF seviyesinde anlamlı bir düşüş görüldüğünü belirten çalışmalar mevcutken bu düşüşün önemli bulunmadığı çalışmalar da mevcuttur (Zimering 2002, Ferretti et al., 2005). ZA'nın anti-anjiogenezis etkisi birçok çalışmada rapor edilmiştir (Marx et al., 2005, Reid et al., 2007). Bizim çalışmamızda, hem ZA'nın bFGF'nin serumdaki seviyesini

düşürdüğü hem de bFGF'nin anjiogenezisi tetiklediği görüldü. Bu nedenle, ZA'nın anti-anjiogenezis etkisini bFGF vasıtasıyla gerçekleştirmiş olabileceği söylenebilir.

bFGF'nin metastazı arttırdığı bir çok çalışmada rapor edilmiştir (Kandel et al. 1991, Leali et al. 2003). Rofstad and Halsor (2000), sıçan melanoma modeli üstünde bFGF'nin metastazı arttırdığını belirtmiştir. ZA'nın kemik metastazını azalttığı çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Berenson and Hirschberg 2004, Ruggiero et al., 2006a). Çalışmamızda ZA'nın serum bFGF seviyesini önemli miktarda düşürmüş olması nedeniyle ZA'nın anti-tümör etkisini bFGF vasıtasıyla düzenlenen metastazı engelleyerek gerçekleştirmiş olabileceği söylenebilir.

5.8. Histopatoloji ve İmmünohistokimya

Bazı belirteçlerde ZA ve bFGF uygulamaları sonrası görülen skor değişimleri istatistik olarak önemli olmasada değerlendirmeye alındı. İstatistik olarak fark görülmemesi histopatolojik skorların 0-3 gibi dar bir aralıkta yapılmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

5.8.1. Anjiogenezis

Kemikte rezorpsiyonu inhibe ederek etki gösteren bifosfonatların aynı zamanda anti-anjiogenik ve anti-neoplastik etkileri de bildirilmiştir (Wood et al., 2002, Merigo et al., 2005, Ruggiero et al., 2006b, Kobayashi et al., 2010, Ravosa et al., 2010, Wehrhan et al., 2011a, Wehrhan et al., 2011b, , Di Salvatore et al., 2011). Çalışmamızın bulguları, genel olarak bütün otoriteler tarafından kabul gören bifosfonatların anjiogenezisi engellediği görüşüyle uyusmaktadır (Ribatti et al., 2008, Wehrhan et al., 2011b). Tümör hücrelerinin invazyon ve metastazında endotel hücrelerinin invazyonu ve yeni oluşacak damarlar büyük öneme sahiptir (Güllü ve ark., 2000, Güllü 2004). Bifosfonatlar, multipl myelom ve prostat/meme kanserleri gibi solid tümörlerin kemik metastazlarının önlenmesi ve tedavisinde başarı sağladığı birçok çalışmada belirtilmektedir (Russell and Rogers 1999, Berenson and

Hirschberg 2004, Hino et al., 2005, Dimitrakopoulos et al., 2006, Ruggiero et al., 2006b). Bu nedenle ZA'nın anti-anjiogenik etkisi sayesinde metastazın engellendiği söylenebilir.

Çalışmamızda hem tek başına hem de ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin anjiogenezis skorunu arttırması nedeniyle bFGF'nin ZA'nın anti-anjiogenezis etkisine karşı tedavi edici bir ajan olarak kullanılabilceği söylenebilir.

5.8.2. Epitelizasyon

BİÇO'nun histolojik değerlendirmeleri, bifosfonatların bazal epitelyal progenitör hücrelerin sayıca azalmasına ve bu nedenle oral mukozanın iyileşme kapasitesinin zarar görmesine neden olduğunu göstermiştir (Thurnher et al., 2012). Diş çekimi ya da diğer dental travmaların bifosfonatın lokal olarak salınımına neden olduğu ve bifosfonatların komşu epitel hücrelerinin proliferasyonunu engelleyerek, mukoza iyileşmesini yavaşlattığı birçok çalışmada belirtilmiştir (Landesberg et al., 2006, Reid et al., 2007, Baloş 2007, Landesberg et al., 2008, Sonis et al., 2008, Sarasquete et al., 2008, Kobayashi et al., 2010, Ravosa et al., 2010, Allam et al., 2011, Scheller et al., 2011). Çalışmamızda ZA'nın epitelizasyon skorunu önemli derecede düşürdüğü görüldü. Bu nedenle ZA'nın, diş çekim soketinin epitelyal kapanmasını olumsuz etkileyerek çekim yarası iyileşmesini geciktirdiği söylenebilir. Bu bulgu literatür ile uyumludur.

Çeşitli hayvan modellerinde bFGF'nin epitelizasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir (Okada-Ban et al., 2000). Çalışmamızda da hem tek başına hem ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin epitelizasyon skorunu önemli derecede arttırdığı görüldü. Bu nedenle bFGF'nin epitelizasyona ve dolayısıyla diş çekim yarası iyileşmesine önemli derecede katkıda bulunduğu söylenebilir.

5.8.3. Bağ doku

Scheller et al. (2011), insan dokusunda in vitro yaptıkları çalışmada oral ve IV bifosfonat kullanımı sonrası bağ dokusunun olumsuz etkilendiğini rapor etmiştir. Yamashita et al. (2011) ise ZA uygulanan sıçanlarda palatinal mukozayı kazıyarak oluşturdukları yarada bağ doku oluşumunun olumsuz etkilendiğini ifade etmiştir. Bu çalışmaların tersi olarak, alışmamızda ZA'nın bağ dokusu oluşumunu pozitif etkilediği görüldü.

Saito et al. (2013), köpeklerde yapılan ve bFGF'nin periodontal dokulardaki iyileşmeye etkisini incelediği çalışmasında bFGF'nin bağ doku oluşumunu arttırdığını rapor etmiştir. Bununla birlikte Abe et al. (2012), bFGF'nin özellikle kas dokusunda bağ doku oluşumunu olumlu etkilediğini belirtmiştir. Çalışmamızda da bFGF'nin bağ doku oluşumunu olumlu etkilediği görüldü.

5.8.4. İnfiltasyon

İnfiltasyonda nötrofil, makrofaj, lenfositlerin yara ortamına göçü söz konusudur. İnfiltasyonun varlığı diğer belirteçlerin aksine olumsuz bir belirteç olup, dokunun enfeksiyon ve inflamasyona yatkınlığı olarak yorumlanır (Gosain and Di Pietro 2004, Broughton et al., 2012). Okada-Ban et al. (2000), topikal bFGF'nin farelerde enfeksiyon ve diabetin neden olduğu yara iyileşmesi sorunlarına olumlu etki ettiğini belirtmiştir. Ağız florasının BİO vakalarındaki olumsuz etkileri bir çok çalışmada belirtilmiştir (Ruggiero et al., 2004, Lugassy et al., 2004, Melo et al., 2005). Klicke et al. (2007), in vitro ve in vivo olarak bFGF'nin lokal uygulamasının yumuşak doku travması sonrası lokal enfeksiyona etkilerini incelediği çalışmasında, bFGF dozuna paralel olarak enfeksiyon oranında artış olduğunu rapor etmiştir. Bu durumun en muhtemel nedeninin bFGF'nin toksik etki oluşturması olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda bFGF'nin infiltasyon skorunu düşürdüğü ZA'nın ise bu skorunu arttırdığı görüldü. Bu nedenle ZA'nın enfeksiyon ve inflamasyona yatkınlığı arttırdığı; bFGF'nin ise bu infiltasyonu olumlu etkilediği söylenebilir. Kontrol grubunda infiltasyon skorunun 45. günde 60. güne kıyasla

daha fazla olduğu görüldü. Zaman ilerledikçe iyileşen yarada infiltrasyon skorunun azaldığı söylenebilir.

5.8.5. Bifosfonat Uygulaması Sonrası Diş Çekimi Yara İyileşmesine Genel Bakış

Landesberg et al. (2008), ZA gibi nitrojen içeren bifosfonatlardan olan pamidronatı sıçanlara uygulayarak yumuşak doku iyileşmesini araştırmıştır. Bifosfonatların yumuşak doku iyileşmesi üzerindeki etkilerini inceleyen öncü araştırmalardan olan bu çalışmada pamidronat'ın yara iyileşmesini olumsuz etkilediği rapor edilmiştir. Yamashita et al. (2011), diş çekimi iyileşmesine ZA'nın etkilerini incelediği in vivo çalışmasında ZA'nın bağ dokusu iyileşmesini olumsuz etkilerken, yumuşak doku iyileşmesi ve anjiogenezisi olumsuz etkilemediğini belirtmiştir. Bi et al. (2010), ZA, steroid ve kemoterapötik ilaç uygulayarak diş çekimi yaptıkları in vivo çalışmasında uygulanan üç ilaç çeşidi içinde ZA'nın osteonekroz açısından en etkin ajan olduğunu ve yumuşak doku iyileşmesini geciktirdiğini rapor etmiştir. Kobayashi et al. (2010), ZA uyguladıkları sıçanlarda diş çekimi sonrası yumuşak doku ve kemik iyileşmesini araştırdıkları çalışmasında, ZA'nın kemik iyileşmesini ve anjiogenezisi olumsuz etkileyerek yara iyileşmesini geciktirdiğini belirtmiştir. Çalışmamızın bulguları, diş çekimi sonrası iyileşen yumuşak dokuda ZA'nın anjiogenezisi, epitelizasyonu olumsuz etkilediğini ve infiltrasyonu arttırdığını ortaya koymuştur. Bu nedenle ZA'nın yumuşak doku yara iyileşmesini olumsuz etkilediğini söyleyebiliriz. Çalışmamız bifosfonatların yumuşak doku üzerindeki olumsuz etkilerini birkez daha ortaya koyması açısından önemli bir çalışma olabilir.

Miller et al. (2000), bFGF'nin yara iyileşmesinde önemli görevleri olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda bFGF'nin tek başına uygulandığında anjiogenezis, epitelizasyon, infiltrasyon ve bağdoku oluşumu üzerinde olumlu etkilerde bulunduğu görülmüştür. Buna dayanarak ve yeni çalışmalarla desteklenerek BİÇO tedavisinde bFGF uygulanması söz konusu olabilir.

5.8.6. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), lokal "VEGF mRNA" salınımı ile birlikte sirkülasyonda anjiogenezisin klasik bir belirteci olarak kabul edilir (Tang et al., 2010). ZA'nın anti-anjiogenezis etkisi bir çok çalışmada belirtilmiştir (Conti 2002, Merigo et al., 2005, Ruggiero et al., 2006a). ZA'nın VEGF miktarını olumsuz etkilediğini belirten çalışmalar mevcuttur (Ferretti et al., 2005, Kobayashi et al., 2010, Mozzati et al., 2013). Di Salvatore et al. (2011), in vitro çalışmasında ZA'nın akciğer kanseri hücrelerindeki anjiogenezisi VEGF salınımını azaltarak baskıladığını rapor etmiştir. Santini et al. (2006), kanser hastalarında bifosfonat uygulaması sonrası anjiogenik faktörlerin serum seviyelerini araştırdığı çalışmada VEGF seviyesinin önemli miktarda düştüğünü göstermiştir. Çalışmamızda da ZA'nın VEGF salınımını düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistiksel olarak önemli olmadığı rapor edildi. ZA'nın anti-anjiogenezis etkisini VEGF salınımını azaltarak gerçekleştirmiş olabileceği düşünülebilir.

Pepper et al. (1992), in vitro çalışmasında VEGF ile bFGF'nin kombine uygulanmasının tek başlarına uygulanmasına kıyasla anjiogenezisi daha hızlı ve daha güçlü uyardığını ve bu iki büyüme faktörü arasında sinerjik aktivite olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda, hem tek başına hem de ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin VEGF salınımını arttırdığı ve bFGF dozu ile VEGF salınımı arasında paralellik olduğu görüldü.

5.8.7. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

PDGF, anjiogenezis ve mitozda önemli bir role sahip olmakla birlikte diğer büyüme faktörleri, makrofaj ve nötrofilleri düzenler (Bochsler and Slauson 2002, Dominijanni et al., 2012). PDGF, dış çekimi sonrası pıhtılaşma sürecinde eritrositlerden salgılanır ve sert ve yumuşak dokuların iyileşme cevabına katılırlar. PDGF'nin ayrıca periodontal ligamentlerde proliferasyonu ve migrasyonu arttırdığı gösterilmiştir (Boyan et al., 1994, Dennisson et al., 1994). Bu bulgular PDGF'nin sert ve yumuşak dokudaki iyileşme üzerindeki faydalı etkileri olduğuna dikkat

çekmektedir. Çalışmamızda ZA'nın PDGF salınımını azalttığı görüldü. ZA'nın anjiogenezis ve yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerini PDGF yoluyla da gerçekleştirmiş olabileceği söylenebilir.

Cozin et al. (2011), in vitro olarak dişeti dokularını pamidronat ve ZA'ya maruz bırakarak PDGF'nin iyileşmeye etkisini değerlendirdiği çalışmasında PDGF'nin iyileşmeyi pozitif etkilediğini rapor etmiştir. Hem tek başına hem de ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin PDGF salınımını önemli miktarda arttırdığı görüldü. bFGF'nin PDGF üstünde düzenleyici etkisinin olduğunu düşünebiliriz. Çalışmamızda ZA'nın anjiogenezis ve yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerinin bFGF uygulamasıyla önlenildiği görüldü. bFGF'nin bu etkisini PDGF ile etkileşime girerek gerçekleştirmiş olabileceği söylenebilir.

Çeşitli prelinik çalışmalarda PDGF'nin çene-yüz, omurga, ekstremitelerde ve yumuşak dokularda uygulanabilirliği gösterilmiştir (Dominijanni et al., 2012). Osteoprogenitör hücrelerin yaşamını destekleme özelliği ile birlikte sayılan birçok etkisi, PDGF'yi osteoporozis, diyabet ve sigara kullanımı gibi kötü koşullarda özellikle iskeletsel defektlerde başvurulacak bir seçenek konumuna getirmiştir (Dominijanni et al., 2012). Aynı şekilde, PDGF'nin yukarıda belirtilen komorbitelere benzer bir sorun olan BİÇO'nun tedavisinde de göz önünde bulundurulması gereken bir büyüme faktörü olduğu söylenebilir.

5.8.8. Angiogenin

Angiogenin, damar endotellerini ve küçük kas hücrelerini aktive ederek ve migrasyon, invazyon, proliferasyon, tübüler yapıların oluşumu gibi biyolojik süreçleri hızlandırarak anjiogenezisi tetikler (Gao and Xu 2008). Çalışmamızda ZA'nın angiogenin salınımını düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistik olarak önemli olmadığı görüldü. ZA'nın anti-anjiogenezis etkisini angiogenin gibi anjiogenik bir ajanın salınımını azaltarak gerçekleştirmiş olabileceği söylenebilir.

Angiogenin'in endotelial hücrelerde bFGF ve VEGF gibi diğer anjiogenik faktörler vasıtasıyla başlatılan anjiogenezis sürecinde kavşak görevi üstlendiği rapor edilmiştir (Kishimoto et al., 2005). Çalışmamızda bFGF'nin angiogenin salınımını

önemli miktarda arttırdığı görüldü. Bu nedenle bFGF'nin anjiogenezise olan pozitif etkisini angiogenin ile sinerjik ilişkisi vasıtasıyla gerçekleştirmiş olabileceği düşünülebilir.

Kontrol grubuna ait 1. biyopsi örneklerinde 2. biyopsi örneklerine kıyasla daha yüksek angiogenin salınımı görülmüştür. Daha taze yarada angiogeninin daha büyük miktarda görülmesi, angiogeninin doku iyileşmesinde görev aldığı şeklinde yorumlanabilir.

5.8.9. İnterökin 8 (IL-8)

IL-8, endotelial hücreler, epitelial hücreler ve makrofajlar tarafından üretilen bir kemokin ajandır. IL-8'in endotelial hücre proliferasyonunu ve anjiogenezisin dayanıklılığını düzenlediği rapor edilmiştir (Li et al., 2003). Koch et al. (1992), IL-8'in romatoid artrit, tümör büyümesi ve yara iyileşmesi gibi anjiogenezisle alakalı hastalıklarda önemli roller üstlendiğini göstermiştir. Çalışmamızda ZA'nın IL-8 seviyesini istatistik olarak önemli derecede düşürdüğü görüldü. Bifosfonatların anti-anjiogenik etkisini IL-8 salınımını azaltarak gerçekleştirdiği söylenebilir. Kälücke et al. (2007), in vitro olarak bFGF uyguladıkları çalışmasında bFGF dozuna paralel olarak IL-8 salınımında artış gördüklerini ifade etmiştir. Çalışmamızda da hem tek başına hem de ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin IL-8 salınımında artış meydana getirdiği görüldü. bFGF'nin olumlu etkilerini IL-8 gibi bir anjiogenik ajan ile sinerjik aktivitesiyle gerçekleştirmiş olabileceği söylenebilir

5.8.1. İnterlökin 3 (IL-3)

T lenfositlerinden salgılanan IL-3, granülosit, eritrosit ve makrofajların sayılarını arttırarak immün sistemde rol alır. Ayrıca kök hücrelerin çoğalmasını uyarır ve ömrünü uzatır. IL-3'ün iskemik dokularda anjiogenezisi düzenlediği ve hücre ölümünü azalttığı çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Ihle et al., 1986, Wagemaker et al., 1990, Ulich et al., 1991). Bu özellikleriyle yara iyileşmesine

katkıda bulunur. Çalışmamızda ZA'nın IL-3 salınımını düşürdüğü görülürken, bFGF'nin IL-3 salınımını önemli miktarda arttırdığı görüldü. ZA'nın yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerini, IL-3 salınımını azaltarak ta gerçekleştirmiş olabileceği bununla birlikte bFGF'nin yara iyileşmesine olan pozitif etkisini IL-3 ile olan sinerjik ilişkisi vasıtasıyla da gerçekleştirdiği söylenebilir. bFGF ve IL-3 arasındaki sinerjizmin BİÇO vakalarına önemli katkılarının olacağını belirtmek yanlış olmayacaktır.

In vivo çalışmalarda IL-3'ün kemik iliği hastalıklarının tedavisinde, otojen kemik iliği transplantasyonunun kolaylaştırılmasında ve radyasyonun olumsuz etkilerinden dokuları korumada pozitif etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (Wagemaker et al., 1990, Ulich et al., 1991). Bifosfonat uygulaması, yara iyileşmesini geciktirmesi, yumuşak ve sert doku nekrozları gibi bir çok yan etkiye sahip olması sebebiyle osteoradyonekroza benzerlik göstermektedir. bFGF'nin, osteoradyonekroz vakalarına benzer olarak BİÇO vakalarında da IL-3 miktarını arttırarak yara iyileşmesine katkıda bulunabileceği söylenebilir.

5.8.2. Trombosit Kaynaklı Endotelial Hücre Büyüme Faktörü (PD-ECGF)

Anjiogenezi uyaran anjiogenik bir protein olan ve trombositlerden izole edilen PD-ECGF'nin, ayrıca çeşitli dokuların endotelinden de salgılandığı rapor edilmiştir (Ignatescu et al., 1999, Igawa et al., 2003, Epstein et al., 2003, Zhang et al., 2004). Birçok çalışma, PD-ECGF'nin anjiogenezi desteklediğini ve çeşitli fizyolojik süreçlerde anjiogenezi düzenlediğini göstermiştir (Konda et al., 1999, Saito et al., 2003, Costa et al., 2007). PD-ECGF, yara iyileşmesinin erken dönemleri için kritik bir role sahip olmakla birlikte hem mezenşimal kök hücre hem de inflamasyon hücreleri için kemotaktiktir (Wallace et al., 1999). Çalışmamızda ZA'nın PD-ECGF salınımını düşürdüğü ve bFGF'nin ise bu faktörün salınımını arttırdığı görüldü. bFGF'nin anjiogeneze olumlu katkı yaptığı bu çalışmanın bulguları arasındadır. bFGF bu etkisini PD-ECGF ile olan sinerjik aktivitesi vasıtasıyla gerçekleştirmiş olabileceği söylenebilir.

PD-ECGF, periodontal defektlerin rejenerasyonunda ve inatçı diabetik ülserlerin tedavisinde başarılı sonuçlar vermiştir (Steed 1995). bFGF'nin yara iyileşmesinde önemli görevleri olduğunu rapor edilmiştir (Miller et al., 2000, Okada- Ban et al., 2000). Çalışmamızda ZA ile birlikte uygulanan bFGF'nin PD-ECGF salınımını arttırması nedeniyle bFGF'nin PD-ECGF gibi anjiogenezisi, yara iyileşmesini ve immün sistemi pozitif etkileyen bir büyüme faktörü vasıtasıyla BİÇÖ lezyonlarının tedavisinde etkili olabileceği söylenebilir.

5.8.3. Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör (GCSF)

GCSF'nin iskemik dokularda anjiogenezisi düzenlediği ve hücre ölümünü azalttığı çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Crivellato et al., 2004, Takagi et al., 2005). Çalışmamızda ZA uygulamasının GCSF salınımını azalttığı görüldü. Bu nedenle ZA'nın anjiogenezis ve yara iyileşmesine olan olumsuz etkisini GCSF salınımını azaltarak gerçekleştirmiş olabileceğini söyleyebiliriz.

Endotel hücre çoğalması, hücre göçü ve anjiogenezisin uyarılması bFGF'nin en iyi karakterize edilen fonksiyonlarıdır (Sperinde and Nugent 1998, Claus et al., 2004). Hem tek başına hem de ZA ile birlikte uygulandığında bFGF'nin, GCSF salınımını arttırdığı görüldü. bFGF'nin bu fonksiyonlarını GCSF gibi bir anjiogenik ajan ile sinerjik aktivitesiyle gerçekleştirmiş olabileceği ve ZA'nın olumsuz etkilerine karşı GCSF'nin tedavi edici bir ajan olarak kullanılabileceği söylenebilir.

5.8.4. Dönüştürücü Büyüme Faktörü Alfa (TGF- Alfa)

TGF- Alfa, epitelyal hücre çoğalmasının potansiyel uyarıcısıdır. Ayrıca endotel hücreleri ve fibroblastları uyararak angiogenezisi tetikler (Bochsler and Slauson 2002). Çalışmamızda ZA'nın TGF- Alfa salınımını düşürdüğü görüldü. bFGF'nin ise bu faktörün salınımını arttırdığı görüldü. ZA'nın anti-anjiogenezis ve yara iyileşmesini geciktirme özelliğini TGF- Alfa üzerinden gerçekleştirirken;

bFGF'nin yara iyileşmesine ve anjiogenezise olan pozitif etkisini TGF- alfa vasıtasıyla gerçekleştirmiş olabileceği söylenebilir.

5.8.5. Asidik Fibroblast Büyüme Faktörü(aFGF)

Fibroblast büyüme faktörleri'nin en çok bilinen iki tipi olan aFGF ve bFGF, farklı izoelektrik noktalara (pL) sahiptirler. Bu iki büyüme faktörü %55 sıra eşdeşliğine sahiptir (Wang et al., 1996). Çalışmamızda uygulanan bFGF dozu arttıkça aFGF salınımının da paralel olarak önemli miktarda arttığı görüldü. Doku örneğinde miktar açısından görülen doğru orantı yapısal benzerliğe bağlanabilir.

aFGF'nin anjiogenezis ve yara iyileşmesinde önemli rolü olan bir büyüme faktörü olduğu rapor edilmiştir (Hagedorn and Bikfalvi 2000, Çetin ve Çapan 2004). ZA ile birlikte uygulanan bFGF'nin de aFGF salınımını arttırdığı görüldü. Yoğun iyileşme ve anjiogenezis sürecinin yaşandığı dış çekim yaralarına bFGF'nin pozitif etkisi çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Miller et al., 2000, Okada- Ban 2000). bFGF'nin bu etkisini aFGF ile sinerjik ilişkisi sayesinde de gerçekleştirmiş olabileceğini söyleyebiliriz.

Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak analiz edilen bütün büyüme faktörleri ve sitokinlerin yara iyileşmesi ve anjiogenezis üzerinde önemli görevleri bulunmaktadır. Çalışmamızda ZA'nın yara iyileşmesini ve anjiogenezisi olumsuz etkilediği ve bu etkilerini çalışmadaki büyüme faktörü ve sitokinlerin salınımını düşürerek gerçekleştirmiş olabileceği düşünüldü. Bununla birlikte uygun dozlarda bFGF uygulaması ile yara iyileşmesi, anjiogenezis skorları ile büyüme faktörleri ve sitokinlere ait salınım miktarlarının daha yüksek seviyelere getirilebileceği görüldü.

ZA'nın anti-tümör etkisini nasıl gerçekleştirdiği hala tam olarak anlaşılammakla birlikte literatürde çeşitli teoriler mevcuttur (Green and Clezardin 2002, Green 2003, Croucher et al. 2003). Bu teorilerden en öne çıkanı, ZA'nın anti-anjiogenik etkisiyle tümör anjiogenezisini olumsuz etkilemesidir (Wood et al. 2002, Fournier et al. 2002). Rofstad and Halsor (2000), sıçan melanoma modelinde IL-8, VEGF, PD-ECGF ve bFGF'nin metastaz üzerine etkilerini inceledikleri çalışmasında, incelenen her sitokinin metastazı arttırdığını bununla birlikte bu

büyüme faktörleri ve sitokinlerden birinin inhibisyonunun diğeri ile kompanse edilemediğini belirtmiştir. Rogala et al. (2001), tümör anjiogenezisinde IL-8, VEGF, aFGF ve bFGF'nin rollerini araştırdığı çalışmasında VEGF, aFGF, bFGF'nin tümör anjiogenezisde önemli bir role sahip olduğunu rapor etmiştir. Bu çalışmaların bulguları ile bizim çalışmamızın bulguları benzerdir. Bu bilgiler ışığında, ZA'nın anti-tümör etkisini VEGF, PDGF, Anjiogenin, IL-8, IL-3, PD-ECGF, GCSF, TGF-Alfa, aFGF gibi anjiogenik büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımını azaltarak gerçekleştirmiş olabileceği söylenebilir.

Birçok çalışma, bifosfonatların oral mukoza hücrelerinden başka gastrointestinal sistem hücrelerini, servikal epitelyal hücrelerini, prostat epitelyal hücrelerini, renal hücreleri olumsuz etkilediğini belirtmektedir (Wallace et al., 1999, Landesberg et al., 2008). Nitrojen içeren bifosfonatların, osteoporoz gibi nedenlerle parenteral kullanımı sonrası özellikle gastrik erozyonlara ve ülserelere sık rastlanmaktadır. Bu çalışmada kaydedilen bFGF'nin oral mukoza iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin, gastrointestinal hücrelerde, servikal ve prostat epitelyal hücrelerde de gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini araştırarak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Zoledronik asit uygulanan sıçanlarda 3 molar dişin aynı seansta çekilmesi sonrası yaranın mukoza ile kapanması için beklenilmesi gereken sürenin yaklaşık 45 gün olduğu görülmüştür.
2. ZA'nın bFGF'nin serumdaki seviyesini önemli miktarda düşürdüğü görülmüştür. Bu nedenle ZA'nın bFGF gibi anjiogenezis ve yara iyileşmesinde önemli rollere sahip bir büyüme faktörünü baskılayarak ta BİÇO oluşumuna neden olduğu düşünülebilir.
3. Diş çekimi sonrası iyileşen yumuşak dokuda ZA'nın anjiogenezisi, epitelizasyonu olumsuz etkilediği ve infiltrasyonu arttırdığı tespit edilmiştir. ZA'nın yara iyileşmesinde önemli olan bu mekanizmalara olan olumsuz etkileri nedeniyle BİÇO meydana getiriyor olabileceği sonucuna varılmıştır.
4. bFGF'nin ZA'nın olumsuz etkilediği anjiogenezis, epitelizasyon, bağ dokusu ve infiltrasyona olumlu etkilerde bulunduğu görülmüştür. bFGF'nin yara iyileşmesinde önemli olan bu mekanizmalara olan olumlu etkileri sayesinde BİÇO lezyonlarını önleme ve tedavi etme konusunda yeni bir ajan olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.
5. ZA'nın VEGF, PDGF, IL-8 ve IL-3, angiogenin, PD-ECGF, GCSF, TGF-Alfa, aFGF gibi büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımını azalttığı gözlenmiştir. ZA'nın anjiogenezis ve yara iyileşmesinde önemli rolleri olan bu büyüme faktörleri ve sitokinlerle olan etkileşimleri değerlendirilerek BİÇO'nun fizyopatolojisi konusunda aydınlatıcı bilgiler elde edilmiştir.
6. bFGF'nin bu büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımları arttırdığı gözlenmiştir. bFGF'nin bu büyüme faktörleri ve sitokinlerle olan olumlu etkileşimleri sayesinde BİÇO lezyonlarını önleme ve tedavi etme konusunda etkili bir ajan olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Bifosfonat Uygulanan Ratlarda Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü'nün Mukoza Anjiogenezisine Etkisi

Bifosfonatlarla ilişkili çene osteonekrozu (BİÇO)'nun oral mukozadaki anjiogenezis ve yara iyileşmesini olumsuz etkilenmesi nedeniyle meydana geldiği düşünülmektedir. Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF), anjiogenezis ve yara iyileşmesinde önemli görevlere sahiptir. Bu çalışmanın amaçlarından biri zoledronik asit (ZA)'in diş çekimi sonrası iyileşmiş yumuşak dokuda anjiogenezis, yara iyileşmesi, büyüme faktörleri ve sitokinler üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Çalışmanın diğer bir amacı yumuşak doku iyileşmesi üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinen bFGF'nin, ZA'nın olumsuz etkilerini tedavi etme konusundaki etkinliğini değerlendirmektir. Bu tezin en önemli amacı BİÇO'ya sebep olduğu düşünülen ZA'nın bu etkisini nasıl gerçekleştirdiğini araştırmaktır.

Bu prospektif, rastgele çalışmada 12 haftalık Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar öncelikle ZA uygulanan ve uygulanmayan olarak 32'şer adet sıçandan oluşan 2 gruba ayrıldıktan sonra da her iki grup kendi içinde bFGF'nin 4 dozuna (düşük 90 ng/kg, orta 450 ng/kg, yüksek 2275 ng/kg, uygulanmayan) uygun olarak 4 alt gruba ayırdı. Böylece her grupta 8 sıçan olacak 8 grup oluşturuldu. ZA ve bFGF'nin anjiogenezis, yara iyileşmesi, büyüme faktörleri ve sitokinler üzerindeki etkileri histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. İstatistik analizde Mann-Whitney *U*, Kruskal-Wallis ve Wilcoxon testleri kullanıldı.

ZA anjiogenezis, yara iyileşmesi, büyüme faktörleri ve sitokinlerin skorlarını düşürürken bFGF, ZA'nın bu etkilerine olumlu etkilerde bulundu ($p<0,05$). Bununla birlikte ZA, serum bFGF seviyesini önemli miktarda düşürdü ($p<0,05$).

ZA'nın anjiogenezis, yara iyileşmesini geciktirerek, büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımını azaltarak ve serum bFGF seviyesini düşürerek BİÇO tablosuna neden olduğu söylenebilir.

Anahtar Sözcükler: anjiogenesis, bazik fibroblast büyüme faktörü, bifosfonatla ilişkili çene osteonekrozu, büyüme faktörleri, zoledronik asit.

ABSTRACT

The effect of Basic Fibroblast Growth Factor on Mucosal Angiogenesis After Tooth Extraction in Bisphosphonate Applied Rats

Bisphosphonate- related osteonecrosis of the jaws (BRONJ) is thought to be associated with defects in angiogenesis and regeneration of the oral mucosa. Moreover, basic fibroblast growth factor (bFGF) participates in angiogenesis and wound healing. This preliminary study aimed at evaluating the effect of zoledronic acid on angiogenesis, secondary soft tissue healing at the tooth extraction area, growth factors and cytokines. Another aim of this study was evaluating the effect of bFGF against the negative effects of ZOL. On the other hand, We also intended to investigate the etiopathology of BRONJ which is believed to be associated with ZOL.

This prospective, randomized study, 12-week-old Sprague–Dawley rats (n=64) were divided into two-groups as ZOL treated group (n=32) and non-treated group (n=32). These 2 groups were subdivided into 4 groups each (n =8 each): groups administered low (90ng/kg), medium (450 ng/kg), and high doses (2,275 ng/kg) of bFGF and non-treated control groups. The effects of ZOL and bFGF on soft tissue healing and angiogenesis following tooth extraction and the expressions of different growth factors-cytokines were examined histopathologically and immunohistochemically. Data were analyzed using the Mann–Whitney U, Kruskal–Wallis and Wilcoxon tests.

ZOL decreased expressions of all growth factors and cytokines, angiogenesis and wound healing on biopsy specimens. Meanwhile, bFGF treatment significantly ameliorated the negative effects of ZOL ($p < 0,05$). However, ZOL significantly decreased serum level of bFGF ($p < 0,05$).

It is hypothesized that ZOL causes BRONJ formation via decreasing serum bFGF level, secretion of growth factor and cytokines on healing area, and delaying angiogenesis and regeneration

Keywords: angiogenesis, basic fibroblast growth factor, bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws, growth factors, zoledronic acid.

KAYNAKLAR

Abe M, Yokoyama Y, Ishikawa O. A possible mechanism of basic fibroblast growth factor-promoted scarless wound healing: the induction of myofibroblast apoptosis. *Eur J Dermatol.* 2012 Jan-Feb;22(1):46-53.

Abu-Id HM, H Warnke P, Gottschalk J, Springer I, Wiltfang J, Acil Y, Aj Russo P, Kreuzsch T. “Bis-phossy jaws”: High and low risk factors for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Craniomaxillofac Surg*, 2008;36:95-103.

Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, Shoff M, Ronconi M, Gotcher JE, et al. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J Bone Miner Res.* 2011 Aug;26(8):1871-82.

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 Jun 13;10(1):23.

Allam E, Allen M, Chu TM, Windsor LJ: In vivo effects of zoledronic acid on oral mucosal epithelial cells. *Oral Dis* 2011, 17:291–297.

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

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 Jun;22(6):867-76.

American Dental Association Council on Scientific Affairs. Dental management of patients receiving oral bisphosphonate therapy: expert panel recommendations. *J Am Dent Assoc.* 2006; Aug;137(8):1144-50.

Arđan – Cordone M, Siris ES, Lyles KW, Knieriem A, Newton RA, Schaffer V, et al. Antiresorptive effect of a single infusion of microgram quantities of zoledronate in Paget's disease of bone. *Calcif Tissue Int.* 1997 May;60(5):415-8.

Astrand JA, Harding AK, Aspenberg P, Tagil 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.

Auer J, Goodship A, Arnoczky S, Pearce S, Price J, Claes, L., et al. 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.

Babensee JE, McIntire LV, Mikos AG. Growth factor delivery for tissue engineering, *Pharm. Res* 2000; 17(5), 497.

Badros A, Weikel D, Salama A, et al. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. *J Clin Oncol.* 2006;24:945-52.

Baloş T, B. Bifosfonatlar ve Diş Hekimliği. *SÜ Diş Hek Fak Derg* 2007; 16: 57-60.

Bamias A, Kastritis E, Bamia C, et al. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *J Clin Oncol* 2005;23:8580-7.

Bartl R., Tresckow E., Bartl C. Bisphosphonat Manual. Heidelberg: *Springer Verlag* 2006.

Beck L, D'amore PA. Vascular Development: Cellular and Molecular Regulation. *The Faseb journal.*1997; 11:365-373.

Bedogni A, Saia G, Ragazzo B, Capelli P, D'Alessandro E, Nocini PF et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis can hide jaw metastases. *Bone.* 2007;41:942-5.

Berenson J, Hirschberg R. Safety and convenience of a 15-minute infusion of zoledronic acid. *Oncologist* 2004; 9, 319-329.

Bi Y, Gao Y, Ehirchiou D, Kikuri T, Le A, Shi S, et al. Bisphosphonates cause osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *Am. J. Pathol* 2010. 177, 280–290.

Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S et al. A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *J. Oral Pathol. Med* 2010; 39, 390–396.

Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, Rifkin DB. Biological roles of fibroblast growth factor-2. *Endocrine Rev.* 1997; 18: 26-45.

Bilston LE, Little DG, Smith NC, Williams P, Briody J. Zoledronic acid improves the mechanical properties of normal and healing bone. *Clinical Biomechanics* 2002; 17, 716-718.

Bloemendal HJ, Logtenberg T, Voest EE. New Strategies in Anti-vascular Cancer Therapy. *European Journal of Clinical Investigation* 1999;29:802-809.

Bobyn JD, Hacking SA, Krygier JJ, Harvey EJ, Little DG, Tanzer M. Zoledronic acid causes enhancement of bone growth into porous implants. *The Journal of Bone and Joint Surgery-British Volume* 2005; 87-B, 416-20.

Bochsler PN, Slauson DO. Inflammation and Repair of Tissue. In: Mechanisms of Disease A Textbook of Comparative General Pathology, Third Edition, chapter 4, Slauson DO, Cooper BJ, (eds), Mosby, Philadelphia, 2002, 140-245.

Boyan LA, Bhargava G, Nishimura F, et al. Mitogenic and chemotactic responses of human periodontal ligament cells to the different isoforms of platelet-derived growth factor. *J Dent Res* 1994; 73:1593–1600.

Broughton SE, Dhagat U, Hercus TR, Nero TL, Grimbaldston MA, Bonder CS, et al. The GM-CSF/IL-3/IL-5 cytokine receptor family: from ligand recognition to initiation of signaling. *Immunol Rev.* 2012 Nov;250(1):277 -302. doi: 10.1111/j.1600 -065X.2012.01164.x.

Brown JP, Josse RG, Scientific Advisory Council of the Osteoporosis Society of Canada. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of Osteoporosis Society of Canada. *Canadian Medical Association Journal* 2002; 167 (Suppl), 1-34.

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

Capsoni F, Longhi M, Weinstein R. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw:the rheumatologist's role. *Arthritis Res Ther* 2006;8(5):219.

Cheng A, Mavrokokki A, Carter G, Stein B, Fazzalari NL, Wilson DF, Goss AN. The dental implications of bisphosphonates and bone disease. *Australian Dental Journal* 2005, 50, 4-13.

Claus P, Werner S, Timmer M, Grothe C. Expression of the fibroblast growth factor-2 isoforms and the FGF receptor 1-4 transcripts in the rat model system of Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2004; 360(3): 117-120.

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

Conte P, Guarneri V. Safety of intravenous and oral bisphosphonates and compliance with dosing regimens. *Oncologist*, 2004; 9 (suppl 4), 28-37.

Conte-Neto N, Bastos AS, Spolidorio LC, Marcantonio RA, Marcantonio E Jr., Oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in rheumatoid arthritis patients: a critical discussion and two case reports. *Head Face Med.* 2011 Apr 27;7:7.

Conti C. Vascular Endothelial growth factor: regulation in the Mouse skin carcinogenesis model and use in antiangiogenesis cancer therapy. *Oncologist* 2002;7(3):4-11.

Cozin M, Pinker BM, Solemani K, Zuniga JM, Dadaian SC, Cremers S, et al. Novel therapy to reverse the cellular effects of bisphosphonates on primary human oral fibroblasts. *J Oral Maxillofac Surg* 2011; 69:2564–2578.

Crivellato E, Nico B, Vacca A, Djonov V et al. Recombinant human erythropoietin induces intussusceptive microvascular growth in vivo. *Leukemia* 2004;18:331-3.

Croucher P I, Hijzen A, Shipman C M, et al. Zoledronic acid inhibits the development of osteolytic bone disease and increases disease free survival in a murine model of multiple myeloma. *Blood* 2001; 98: 160a.

Croucher P, Jagdev S, Coleman R. The anti-tumor potential of zoledronic acid. *Breast Supp* 2003;2:S30–6.

Cryer B, Bauer DC. Oral bisphosphonates and upper gastrointestinal tract problems: What is the evidence? *Mayo Clinic Proceedings. Mayo Clinic* 2002; 77, 1031- 1043.

Çetin M, Çapan Y; bFGF (Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü) ve Formülasyonlarında Yeni Yaklaşımlar. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* Temmuz 2004; Cilt 24 / Sayı 2 / ss.107-124.

De Groen PC, Lubbe DF, Hirsch LJ, Daifotis A, et al. Esophagitis associated with the use of alendronate. *N Engl J Med*. 1996 Oct 3;335(14):1016-21.

Deguchi Y, Naito T, Yuge Takuro, Furukawa A, Yamada S, Pardridge WM et al. Blood-Brain Barrier transport of I-labeled basic fibroblast growth factor. *Pharm. Res*. 2000; 17 (1), 63-69.

Dennisson DK, Vallone DR, Pinero GJ, Ritman B, Caffesse RG. Differential effects of TGF-beta 1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts. *J Periodontol* 1994; 65:641–648.

Deveci D. Anjiyojenezis, arteriyojenezis ve vaskülojenezis terimlerinin anlamları ve hipoksik ve/veya iskemik kosullarda anjiyojenezis. *Genel Tip Derg* 2003;13(3):141-151.

Di Salvatore M, Orlandi A, Bagalà C, Quirino M, Cassano A, Astone et al. Antitumour and anti-angiogenetic effects of zoledronic acid on human non-small-cell lung cancer cell line. *Cell Prolif* 2011, 44:139–146.

Dimitrakopoulos I, Magopoulos C, Karakasis D. Bisphosphonate-induced avascular osteonecrosis of the jaws: a clinical report of 11 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2006; 35, 588-593.

Dominijanni A, Cristofaro MG, Brescia A, Giudice M. Platelet gel in oral and maxillofacial surgery: a single-centre experience. *Blood Transfus*. 2012 Apr;10(2):200-4.

Drake CJ. Embryonic and adult vasculogenesis. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2003;69:73-82.

Drexler HC, Risau W, Konecny MA. Inhibition of proteasome function induces programmed cell death in proliferating endothelial cells. *FASEB J*. 2000; 14:65-77.

Durie BGM, Katz M, Crowley J. Osteonecrosis of the jaws and bisphosphonates [Letter]. *N Engl J Med*. 2005;353:99.

Egermann M, Goldhahn J, Schneider E. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2005 Mar;16 Suppl 2:S129-38. Epub 2005 Mar 5.

Eichhorn ME, Strieth S, Dellian M, Anti-vascular Tumor Therapy: Recent Advances, Pitfalls and Clinical perspectives. *Drug Resis Updat*. 2004;7:125-138.

Epstein RJ. *Human Molecular Biology: An Introduction to the Molecular Basis of Health and Disease*. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.

Fedele S, Porter SR, D'Aiuto F et al. Nonexposed variant of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a case series. *Am J Med* 2010; 123: 1060–1064.

Ferretti G, Fabi A, Carlini P, Papaldo P, Cordiali Fei P, Di Cosimo S, et al. Zoledronic-acid-induced circulating level modifications of angiogenic factors, metalloproteinases and proinflammatory cytokines in metastatic breast cancer patients. *Oncology* 2005; 69:35–43.

Fisher M, Meadows ME, Do T, Weise J, Trubetskoy V, Charette M et al. Delayed treatment with intravenous basic fibroblast growth factor reduces infarct size following permanent focal cerebral ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15, 953-959.

Fisher JE, Rogers MJ, Halasy JM, Luckman SP, Hughes DE, Masarachia PJ, et al. Alendronate mechanism of action: geranylgeraniol, an intermediate in the mevalonate pathway, prevents inhibition of osteoclast formation, bone resorption, and kinase activation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, 96:133–138.

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

Fournier P, Boissier S, Filleur S, Guglielmi J, Cabon F, Colombel M, et al. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res* 2002; 62:6538–44.

Freiberger 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.

Gao X, Xu Z. Mechanisms of action of angiogenin. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2008 Jul;40(7):619-24.

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;23:544– 551.

Glatt M, Pataki A, Evans GP, Hornby SB, Gren JR. Loss of vertebral bone and mechanical strength in estrogen-deficient rats is prevented by long-term administration of zoledronic acid. *Osteoporos Int.* 2004; 15, 707-715.

Gosain A, Di Pietro LA. Aging and wound healing. *World J Surg.* 2004 Mar;28(3):321-6. Epub 2004 Feb 17.

Gospodarowicz D, Neufeld G, Schweigerer L. Molecular and biological characterization of fibroblast growth factor, an angiogenic factor which also controls the proliferation and differentiation of mesoderm and neuroectoderm derived cells. *Cell Differ* 1986, 19, 1-17.

Green JR, Clezardin P. Mechanisms of bisphosphonate effects on osteoclast, tumor cell growth, and metastasis. *Am J Clin Oncol* 2002;25:3-9.

Green JR. Antitumor effects of bisphosphonates. *Cancer* 2003; 97:840-7.

Green JR. Bisphosphonates: preclinical review. *Oncologist*, 2004; 9, 3-13.

Groetz KA, Al-Nawas B. Persisting alveolar sockets-a radiologic symptom of BP-ONJ [Letter]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2006;64:1571-1572.

Güllü I, Kurdoglu M, Akalin I. The relation of gelatinase (MMP-2 and-9) expression with distant site metastasis and tumour aggressiveness in colorectal cancer. *Br J Cancer*, 2000 Jan;82(1):249.

Güllü İ. Anjienez ve antianjienez tedavileri. XIII. *TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Non-Hodgkin Lenfoma* Mayıs 2004.

Hacıoğulları M. İnterleukin-12'nin embriyonik vitellüs kesesi damarlanması üzerine etkileri. Erciyes Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, Kayseri, (Doç.Dr.Harun ÜLGER) 2005.

Hagedorn M, Bikfalvi A. target molecules for antiangiogenic therapy: from basic research to clinical trials . *Crit Rev Oncol Hematol* 2000;34(2):89-110.

Haller MF, Saltzman WM. Nerve growth factor delivery systems. *J. Control. Rel.* 1998. 53, 531-536.

Herrak P, Görtz B, Hayer S, Redlich K, Reiter E, Gasser J, et al. Zoledronic acid protects against local and systemic bone loss in tumor necrosis factor-mediated arthritis. *Arthritis Rheum.* 2004 Jul;50(7):2327-37.

Hino S, Murase R, Terakado N, Shintani S, Hamakawa H. Response of diffuse sclerosing osteomyelitis of the mandible to alendronate: follow-up study by 99mTc scintigraphy. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2005; 24, 576-578.

Hoff AO, Toth BB, Altundag K, Johnson MM, Warneke CL, Hu M, et al. Frequency and risk factors associated with osteonecrosis of the jaw in cancer patient treated with intravenous bisphosphonates. *J Bone Miner Res*. 2008 Jun;23(6):826-36.

Hokugo A, Christensen R, Chung EM, Sung EC, Felsenfeld AL, Sayre JW et al. Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res*. 2010 Jun;25(6):1337-49. doi: 10.1002/jbmr.23.

Igawa H, Fujieda S, Kimura Y, Sugimoto C, Tanaka N, Ohtsubo T, et al. Influence of platelet-derived endothelial cell growth factor/ thymidine phosphorylase on the cells cycle in head and neck squamous cell carcinoma in vitro. *Oncol Rep* 2003; 10(4):967-971.

Ignatescu MC, Gharehbaghi-Schnell E, Hassan A, Rezaie-Majd S, Kors hineck I, Schleef RR, et al. Expression of the angiogenic protein, platelet -derived endothelial cell growth factor, in coronary atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb and Vasc Biol*. 1999; 19:2340-2347.

Ihle JN, Weinstein Y. Immunological regulation of hematopoietic/ lymphoid stem cell differentiation by interleukin 3. *Adv Immunol*. 1986;39:1-50.

Källicke T, Köller M, Frangen TM, Schlegel U, Sprutacz O, Printzen G, et al. Local application of basic fibroblast growth factor increases the risk of local infection after trauma: an in-vitro and in-vivo study in rats. *Acta Orthop*. 2007 Feb;78(1):63-73.

Kan B, Altay MA, Taşar F, Akova M. Low-level laser therapy supported teeth extractions of two patients receiving IV zoledronate. *Lasers Med Sci* 2011; Sep;26(5):569-75.

Kandel J, Bossy-Wetzel E, Radvanyi F et al. Neovascularization is associated with a switch to the export of bFGF in the multistep development of fibrosarcoma. *Cell*. 1991 Sep 20;66(6):1095-104.

Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji*. (9. Baskı) Cilt:2. Hacettepe-Tas Ankara; 2000.

Khan AA, Sa'ndor GK, Dore E, Morrison AD, Alsahli M, Amin F, et al. Canadian consensus practice guidelines for bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw. *J Rheumatol* 2008; 35: 1391–1397.

Kharazmi M, Persson U, Warfvinge G. Pharmacovigilance of oral bisphosphonates: adverse effects manifesting in the soft tissue of the oral cavity. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012 Dec; 70(12):2793-7.

Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D et al.; Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res*. 2007 Oct;22(10):1479-91.

Kılıç T, Yıldırım Ö, Ahın S, Pamir N. Glial Tümörlerin Anjiogenezi. Angiogenesis of Glial Tumors. *Türk Nörosirürji Dergisi*, 2005; 15(1):1-9.

Kızılkaya M. İbandronik asitin diş çekimi sonrası sıçan alveolar kemiğine etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi. Başken Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilimdalı, Doktora tezi. Ankara. Danışman: Kenan ARAZ.2005.

Kishimoto K, Liu S, Tsuji T, Olson KA, Hu GF. Endogenous angiogenin in endothelial cells is a general requirement for cell proliferation and angiogenesis. *Oncogene* 2005; 24: 445–456.

Kobayashi Y, Hiraga T, Ueda A, Wang L, Matsumoto-Nakano M, Hata K, et al. Zoledronic acid delays wound healing of the tooth extraction socket, inhibits oral epithelial cell migration, and promotes proliferation and adhesion to hydroxyapatite of oral bacteria, without causing osteonecrosis of the jaw, in mice. *J Bone Miner Metab*. 2010 Mar;28(2):165-75. doi: 10.1007/s00774-009-0128-9. Epub 2009 Oct 31.

Koch AE, Polverini PJ, Kunkel SL, Harlow LA, et al. Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. *Science* 1992; 258(5089):1798-1801.

Konda R, Sato H, Sakai K, Sato M, Orikasa S, Kimura N: Expression of platelet -derived endothelial cell growth factor and its potential role in up-regulation

of angiogenesis in secondary to urinary tract diseases. *Am J Pathol.* 1999; 155(5):1587-1597.

Konukoğlu D, Turhan M.S. Anjiyogenezin Temel Moleküler Mekanizmaları ve Tümör Anjiyogenezi. *Cerrahpasa Tıp Dergisi.* 2005; 36: 42-48.

Kurth, AHA, Eberhardt C, Müller S, Steinacker M, Schwarz M, Bauss F. The bisphosphonate ibandronate improves implant integration in osteopenic ovariectomized rats. *Bone,* 2005; 37, 204-210.

Kyrgidis A, Vahtsevanos K, Koloutsos G, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a case-control study of risk factors in breast cancer patients. *J Clin Oncol.* 2008;26:4634–4638.

Landesberg R, Cozin M, Cremers S, et al. Inhibition of oral mucosal cell wound healing by bisphosphonates. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 5:839. [PubMed: 18423269].

Leali D, Dell'Era P, Stabile H, Sennino B et al. Osteopontin (Eta-1) and fibroblast growth factor-2 cross-talk in angiogenesis. *J Immunol.* 2003 Jul 15;171(2):1085-93.

Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG et al. Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaws, Bone markers, and a Hypothesized Candidate Gene. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 67:159-61.

Li CX, Wu DP, Chang WR, Zhu HT, Cen JN, Zhang XG. Dynamic changes of cytokines in G-CSF mobilized peripheral blood. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2003 Aug;24(8):398-401.

Liekens S, De Clercq E, Neyts J: Angiogenesis: regulators and clinical applications. *Biochem Pharmacol* 2001, 61:253–270.

Lin JH. Bisphosphonates: a review of their pharmacokinetic properties. *Bone,* 1996; 18, 75-85.

Lopez-Jornet P, Camacho- Alonso F, Molina-Minano F, Gomez-Garcia F, Vicente-Ortega V. An experimental study of bisphosphonate- induced jaws osteonecrosis in Sprague- Dawley rats. *J Oral Pathol Med.* 2010 Oct;39(9):697-702.

Lugassy G, Shaham R, Nemets A, Ben-Dor D, Nahlieli O. Severe osteomyelitis of the jaw in long-term survivors of multiple myeloma: a new clinical entity. *Am J Med* 2004; 117: 440–1.

Ma J, Qiu J, Hirt L, Dalkara T, Moskowitz MA. Synergistic protective effect of caspase inhibitors and bFGF against brain injury induced by transient focal ischemia. *Br. J. Pharmacol.* 2001; 133, 345-350.

Marx RE. Osteoradionecrosis: a new concept of its pathophysiology. *J Oral Maxillofac Surg.* 1983;41:283-8.

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

Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005; 63:1567-75.

Marx RE. *Oral & Intravenous Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaws. History, Etiology, Prevention, and Treatment.* Illinois: Quintessence Publishing Co, Inc; 2007.

Marx RE, Cillo JE Jr, Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Dec;65(12):2397-410.

Mehrotra B, Ruggiero S. Bisphosphonate complications including osteonecrosis of the jaw. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006; 515, 356-360.

Melo MD, Obeid G. Osteonecrosis of the jaws in patients with a history of receiving bisphosphonate therapy: strategies for prevention and early recognition. *J Am Dent Assoc.* 2005;136:1675-81. PMID: 16383049.

Merigo E, Manfredi M, Meleti M, Corradi D, Vescovi P. Jaw bone necrosis without previous dental extractions associated with the use of bisphosphonates (pamidronate and zoledronate): a four-case report. *J Oral Pathol Med.*, 2005; 34, 613-7.

Meunier PJ, Arlot M, Chavassieux P, Yates AJ. The effects of alendronate on bone turnover and bone quality. *Int J Clin Pract Suppl.* 1999; 101, 14-17.

Migliorati CA, Casiglia J, Epstein J, Jacobsen PL, Siegel MA, Woo SB. Managing the care of patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis: an

American Academy of Oral Medicine position paper. *J Am Dent Assoc.* 2005; 136, 1658-68.

Miller DL, Ortega S, Bashayan O, Basch R, Basilico C. Compensation by fibroblast growth factor1 (FGF1) does not account for the mild phenotypic defects observed in FGF2 null mice. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 2260-68.

Morag Y, Morag-Hezroni M, Jamadar DA, Ward BB, Jacobson JA, Zwetchkenbaum SR, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a pictorial review. *Radiographics.* 2009 Nov;29(7):1971-84.

Mozzati M, Martinasso G, Maggiora M, Scoletta M, Zambelli M, Carossa S. Oral mucosa produces cytokines and factors influencing osteoclast activity and endothelial cell proliferation, in patients with osteonecrosis of jaw after treatment with zoledronic acid. *Clin Oral Investig.* 2013; May;17(4):1259-66.

Mystakidou K, Katsouda E, Stathopoulou E, Vlahos L. Approaches to managing bone metastases from breast cancer: the role of bisphosphonates. *Cancer Treat Rev*, 2005; 31, 303-11.

Nelson-Filho P, Lucisano MP, Da Silva RA, Da Silva RS, Serra MC, Gerlach RF, et al. Systemically alendronate was incorporated into dental tissues but did not cause morphological or mechanical changes in rats teeth. *Microsc Res Tech.* 2012 Sep;75(9):1265-71.

Nimni, M.E. Polypeptide growth factors: targeted delivery systems, *Biomaterials*, 1997; 18, 1201.

Nordgren IK, Tavassoli A. Targeting tumour angiogenesis with small molecule inhibitors of hypoxia inducible factor. *Chem Soc Rev.* 2011 Aug;40(8):4307-17. doi: 10.1039/c1cs15032d. Epub 2011 Apr.

Norrby K. Basic fibroblast growth factor and de novo mammalian angiogenesis. *Microvasc Res.* 1994 Jul;48(1):96-113.

Novartis AG. Zometa: Zoledronic acid injection. *Product information sheet*, 2004; b, 1.

Nugent, M.N., Iozzo, R.V. Fibroblast growth factor-2, *IJBCB*, 2000; 32, 115-120.

Okada-Ban M, Thiery JP, Jouanneau J. Fibroblast growth factor-2. *IJBCB* 2000; 32, 263-267.

Ornitz DM, Itoh N. Fibroblast growth factors, *Genome Biol*, 2001; 2, 3005.1-3005.12.

Oteri G, Allegra A, Bellomo G, Alonci A, Nastro E, Penna G, et al. Reduced serum levels of Interleukin 17 in patients with osteonecrosis of the jaw and in multiple myeloma subjects after bisphosphonates administration. *Cytokine* 2008, 43:103–104.

O’Ryan FS, Khoury S, Liao W, Han MM, Hui RL, Baer D, et al. Intraoral bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws; bone scintigraphy as an early indicator. *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67:1363-1372.

Papapoulos SE. Bisphosphonate actions: physical chemistry revisited. *Bone*, 2006; 38, 613-616.

Pabst AM, Ziebart T, Koch FP, Taylor KY, Al-Nawas B, Walter C: The influence of bisphosphonates on viability, migration, and apoptosis of human oral keratinocytes–in vitro study. *Clin Oral Investig* 2012, 16:87–93.

Patan S. Vasculogenesis and angiogenesis. *Cancer Treat Res*. 2004;117:3-32.

Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R. Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992 Dec; 15;189(2):824-31.

Pepper MS. Manipulating Angiogenesis *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:605-619.

Perez-Lopez FR. Postmenopausal osteoporosis and alendronate. *Maturitas*, 2004; 48, 179-192.

Petrucci MT, Gallucci C, Agrillo A, Mustazza MC, Foà R. Role of ozone therapy in the treatment of osteonecrosis of the jaws in multiple myeloma patients. *Haematologica*, 2007;92(9):1289-1290.

Rajkumar SV, Hayman SR, Lacy MQ, Dispenzieri A, Geyer SM, Kabat B, et al. Combination therapy with thalidomide plus dexamethasone for newly diagnosed myeloma. *J Clin Oncol*. 2002;20:4319-23.

Ravosa MJ, Ning J, Liu Y, Stack MS. Bisphosphonate effects on the behaviour of oral epithelial cells and oral fibroblasts. *Arch Oral Biol*. 2011 May;56(5):491-8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2010.11.003. Epub 2010 Dec 10.

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

Reuther T, Schuster T, Mende U, Kubler A. Osteoradionecrosis of the jaws as a side effect of radiotherapy of head and neck tumour patients - a report of a thirty year retrospective review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003;32:289-95.

Ribatti D, Maruotti N, Nico B, Longo V, Mangieri D, Vacca A, Cantatore FP: Clodronate inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Oncol Rep* 2008; 19:1109 - 1112.

Robbins L. Pathologic Basis of Disease. 3th Edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1984.

Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest*, 1996; 97, 2692-2696.

Rofstad EK and Halsør EF. Vascular Endothelial Growth Factor, Interleukin 8, Platelet-derived Endothelial Cell Growth Factor, and Basic Fibroblast Growth Factor Promote Angiogenesis and Metastasis in Human Melanoma Xenografts. *Cancer Res.* 2000; 60, 4932–4938, Sept 1.

Rogala E, Skopińska-Różewska E, Sommer E, Pastewka K, Chorostowska-Wynimko J, Sokolnicka I, et al. Assessment of the VEGF, bFGF, aFGF and IL8 angiogenic activity in urinary bladder carcinoma, using the mice cutaneous angiogenesis test. *Anticancer Res.* 2001 Nov-Dec;21(6B):4259-63.

Rosen L. Antiangiogenic Strategies and Agents in Clinical Trials. *Oncologist* 2000;5:20-27.

Rosen LS, Gordon D, Kaminski M, et al. Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial. *Cancer J.* 2001; 7:377–387.

Rugani P, Acham S, Truschnegg A, Obermayer-Pietsch B, Jakse N. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: surgical treatment with ErCrYSGG-laser. Case report. *Oral Surgery Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010 Dec;110(6):e1-6.

Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff S. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62:527-34.

Ruggiero SL (a), Fantasia J, Carlson E. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surgery Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102:433-441.

Ruggiero S (b), Gralow J, Marx RE, Hoff AO, Schubert MM, Huryn JM, et al. Practical guidelines for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with cancer. *J Oncol Pract.* 2006 Jan;2(1):7-14.

Ruggiero SL, Drew SJ. Osteonecrosis of the Jaws and Bisphosphonate Therapy. *J Dent Res.* 2007; 86:1013-21.

Ruggiero SL, Mehrotra B. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: diagnosis, prevention, and management. *Annu Rev Med* 2009; 60: 18.1–18.2.

Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mehrotra B. Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw - 2009 update. *Aust Endod J.* 2009 Dec;35(3):119-30.

Ruggiero SL. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: an overview. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1218: 38–46.

Russel RGG and Rogers MJ. Bisphosphonates: From the Laboratory to the Clinic and Back Again. *Bone* 1999; Vol. 25, No. 1: 97–106.

Russell RGG. Ibandronate: pharmacology and preclinical studies. *Bone*, 2006; 38, 7- 12.

Russell RGG, Xia Z, Dunford JE, Oppermann U, Kwaasi A, Hulley PA et al. Bisphosphonates: an update on mechanisms of action and how these relate to clinical efficacy. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1117, 209-257.

Sabolinski ML, Alvarez O, Auletta M, Mulder G, Parenteau NL. Cultured skin as a 'smart material' for healing wounds: experience in venous ulcers. *Biomaterials.* 1996 Feb;17(3):311-20.

Sahni M, Guenther HL, Fleisch H, Collin P, Martin TJ. Bisphosphonates act on bone resorption through the mediation of osteoblasts. *J Clin Invest*, 1993; 91, 2004-11.

Saito S, Tsuno NH, Sunami E, Hori N, Kitayama J, Kazama S, et al. Expression of platelet -derived endothelial cell growth factor, in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 2003; 38(3):229-237.

Saito A, Saito E, Kuboki Y, Kimura M, Nakajima T, Yuge F, et al. Periodontal regeneration following application of basic fibroblast growth factor-2 in combination with beta tricalcium phosphate in class III furcation defects in dogs. *Dent Mater J*. 2013;32(2):256-62.

Santini D, Vincenzi B, Avvisati G, Dicuonzo G, Battistoni F, Gavasci M, et al. Pamidronate induces modifications of circulating angiogenetic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res* 2002; 8:1080–1084.

Sarasquete ME, García-Sanz R, Marín L, Alcoceba M, Chillón MC, Balanzategui A, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw is associated with polymorphisms of the cytochrome P450 CYP2C8 in multiple myeloma: a genome-wide single nucleotide polymorphism analysis. *Blood* 2008;112(7):2709–12.

Sawatari Y, Marx RE. Bisphosphonates and bisphosphonate induced osteonecrosis. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2007;19(4):487-498.

Scheller EL, Baldwin CM, Kuo S, et al. Bisphosphonates inhibit expression of p63 by oral keratinocytes. *J Dent Res*. 2011, Jul;90(7):894-9.

Scoletta M, et al. Treatment outcomes in patients with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a prospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Radiol Endod* 2010;110:46-53.

Şenel FC, Kadioglu Duman M, Muci E, Cankaya M, Pampu AA, Ersoz S, et al. Jaw bone changes in rats after treatment with zoledronate and pamidronate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010 Mar;109(3):385-91.

Sevcik MA, Luger NM, Mach DB, Sabino MAC, Peters CM, Ghilardi JR et al. Bone cancer pain: the effects of the bisphosphonate alendronate on pain, skeletal remodeling, tumor growth and tumor necrosis. *Pain* 2004; 111, 169-180.

Shafer HL. *A Textbook of Oral Pathology*. Delhi: Elsevier 6th Edition, 2009.

Shimizu K, Oku N. Cancer Antiangiogenic therapy. *Biol. Pharm. Bull* 2004;27(5):599-605.

Song KE, Min YK, Lee JK, Lee KB, et al. A Probable Case of Oral Bisphosphonate-Associated Osteonecrosis of the Jaw and recovery with Parathyroid Hormone Treatment. *Curr Therap Res.* 2008; 69:356 - 62.

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 Feb;45(2):164-72. doi: 10.1016/j.oraloncology.2008.04.013. Epub 2008 Aug 19.

Sperinde GV, Nugent MA. Heparin sulfate proteoglycans control bFGF processing in vascular smooth muscle cells. *Biochemistry*, 1998; 37, 13153-13164.

Steed DL. Clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor for the treatment of lower extremity diabetic ulcers. Diabetic Ulcer Study Group. *J Vasc Surg.* 1995; 1:71. [PubMed: 7823364].

Tabata Y, Nagano A, Ikada Y. Biodegradation of hydrogel carrier incorporating fibroblast growth factor. *Tissue Eng.* 1999; 5, 127-138.

Takagi Y, Omura T, Yoshiyama M, Matsumoto R, et al. Granulocyte colony stimulating factor augments neovascularization induced by bone marrow transplantation in rat hindlimb ischemia. *J Pharmacol Sci* 2005;99:45-51.

Talk KL, Harris A.L. Review. Current Status of Antiangiogenic Factors. *Br J Haematol* 2000;109: 477-489.

Tang X, Zhang Q, Shi S, Yen Y, Li X, Zhang Y, Zhou K, Le AD. Bisphosphonates suppress insulin-like growth factor 1-induced angiogenesis via the HIF-1 α /VEGF signaling pathways in human breast cancer cells. *Int J Cancer.* 2010 Jan 1;126(1):90-103. doi: 10.1002/ijc.24710.

Tanvetyanon T, Stiff PJ. Management of the adverse effects associated with intravenous bisphosphonates. *Annals of Oncology*, 2006; 17, 897-907.

Thurnher M, Nussbaumer O, Gruenbacher G. Novel aspects of mevalonate pathway inhibitors as antitumor agents. *Clin Cancer Res.* 2012 Jul 1;18(13):3524-31. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0489. Epub 2012 Apr 23.

Ulich TR, del Castillo J, Yi ES, Yin S, McNiece I, Yung YP, et al. Hematologic effects of stem cell factor in vivo and in vitro in rodents. *Blood*. 1991;78:645–50.

Ülger H. The Growth Promoting Effects Of Bfgf, Vegf And Pd-Ecgf On Embryonic Development And Yolk Sac Vascularisation., department of Human Anatomy and Cell Biology Universty of Nottingham, PhD Thesis England 1997.

Ünüvar ÖY. Prostat Karsinomlarında Mikrodamar Dansitesi Ve Proliferasyon Hızının Gleason Skor Ve Perinöralinvazyon ile Karşılaştırılması. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü, Uzmanlık Tezi. İstanbul. Şef: Doç. Dr. Fevziye Kabukçuoğlu. 2005.

Van Beek E, Löwik C, Van Der Pluijm G, Papapoulos S. The role of geranylgeranylation in bone resorption and its suppression by bisphosphonates in fetal bone explants in vitro: A clue to the mechanism of action of nitrogen-containing bisphosphonates. *J Bone Miner Res* 1999; 14(5): 722-729.

Van Beek ER, Löwik CW, Papapoulos SE. Bisphosphonates suppress bone resorption by a direct effect on early osteoclast precursors without affecting the osteoclastogenic capacity of osteogenic cells: the role of protein geranylgeranylation in the action of nitrogen-containing bisphosphonates on osteoclast precursors. *Bone*, 2002; 30, 64-70.

Vemuri S, Beylin I, Sluzky V, Stratton P, Eberlein G, Wang YJ. The stability of bFGF against thermal denaturation. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994; 46, 481-486.

Virtanen SS, Väänänen HK, Härkönen PL, Lakkakorpi PT: Alendronate inhibits invasion of PC-3 prostate cancer cells by affecting the mevalonate pathway. *Cancer Res* 2002; 62:2708–2714.

Wagemaker G, Burger H, van Gils FC, van Leen RW, Wielenga JJ. Interleukin-3. *Biotherapy*. 1990;2:337–45. doi:10.1007/ BF02170083.

Wallace JL, Dickey M, McKnight W, et al. N-bisphosphonates cause gastric epithelial injury independent of effects on the microcirculation. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999; 12:1675. [PubMed: 10594404].

Wang YJ, Shahrokh Z, Vemuri S, et al. “Characterization, stability, and formulations of basic fibroblast growth factor” In: *Formulation and*

characterization, and stability of protein drugs. Pearlman, R., Wang Y. J. (editors), New York, London, Plenum Press, 1996, s.141-180.

Wehrhan F(a), Hyckel P, Guentsch A, Nkenke E, Stockmann P, Schlegel KA, et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw is linked to suppressed TGF β 1-signaling and increased Galectin-3 expression: a histological study on biopsies. *J Transl Med*. 2011 Jul; 4;9:102. doi: 10.1186/1479-5876-9-102.

Wehrhan F(b), Stockmann P, Nkenke E, Schlegel KA, Guentsch A, Wehrhan T, Neukam FW, Amann K. Differential impairment of vascularization and angiogenesis in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw-related mucoperiosteal tissue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011 Aug;112(2):216-21. doi: 10.1016/j.tripleo.2011.02.028. Epub 2011 Jun 12.

Wickström SA, Alitalo K, Keski J. An Endostatin-derived Peptide Interacts with Integrins and regulates Actin Cytoskeleton and Migration of Endothelial Cells. *J Bio Chem* 2004;279:20178-20185.

Woo SB, Hellstein JW, Kamlar JR. Systematic Review: Bisphosphonates and Osteonecrosis. *Ann Intern Med*,2006;144:753-761.

Wood J, Bonjean K, Ruetz S, Bellahcene A, Devy L, Foidart JM, et al. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002; 302, 1055-1061.

Woodhouse EC, Chuaqui RF, Liotta LA. General Mechanisms of Metastasis Cancer. *Cancer* 1997; 80:(8) 1529-1537.

Yamashita J, Koi K, Yang DY, McCauley LK. Effect of zoledronate on oral wound healing in rats. *Clin Cancer Res*. 2011 Mar 15;17(6):1405-14. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1614. Epub 2010 Dec 13.

Yao W, Cheng Z, Koester KJ, Ager JW, Balooch M, Pham A, et al. The degree of bone mineralization is maintained with single intravenous bisphosphonates in aged estrogen-deficient rats and is a strong predictor of bone strength. *Bone*, 2007;41, 804-812.

Yoneda T, Hagino H, Sugimoto T et al. Bisphosphonate- related osteonecrosis of the jaw: position paper from the Allied Task Force Committee of Japanese Society for Bone and Mineral Research, Japan Osteoporosis Society, Japanese

Society of Periodontology, Japanese Society for Oral and Maxillofacial Radiology, and Japanese. *J Bone Miner Metab.* 2010 Jul;28(4):365-83. doi: 10.1007/s00774-010-0162-7. Epub 2010 Mar 24.

Zhang JM, Mizoi T, Shiiba KI, Sasaki I, Matsuno S: Expression of thymidine phosphorylase by macrophages in colorectal cancer tissues. *World J Gastroenterol* 2004; 10(4):545-549.

Zervas K, Verrou E, Teleioudis Z, Vahtsevanos K, Banti A, Mihou D, et al. Incidence, risk factors and management of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma: a single-centre experience in 303 patients. *Br J Haematol* 2006; 134:620–623.

Zimering MB. Effect of intravenous bisphosphonates on release of basic fibroblast growth factor in serum of patients with cancer-associated hypercalcemia. *Life Sci.* 2002 Mar 8;70(16):1947-60.

EKLER

EK 1: SDÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Kararı

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

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
08.05.2012	16	04

Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 08 MAYIS 2012 tarihinde Saat 14:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D. Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Gülperi KOÇER'in yürütücüsü olduğu Prof. Dr. Özlem ÖZMEN, Yrd. Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ, Yrd. Doç. Dr. Özgür KOŞKAN, Dt. Levent ÖNAL'ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Bifosfonat Uygulanan Ratlarda Fibroblast Büyüme Faktörü'nün Diş Çekimi Sonrası Mukoza Anjiogenezine ve Kemik Maturasyonuna Etkisi" başlıklı çalışma;

Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Sprague Dawley	Erkek	68	12 Haftalık / 220gr

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

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

EK 2: SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Destekleme Protokolü

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ
DESTEKLEME PROTOKOLÜ**

Toplantı Tarihi : 21.06.2012
Toplantı No: 2012/06

Proje No : 3198-D2-12
Proje Yöneticisi : Yrd. Doç. Dr. Gülperi KOÇER
Yöneticinin Adresi : Diş Hekimliği Fakültesi , Klinik Diş Hekimliği Bil.

Proje Başlığı : Bifosfonat Uygulanan Ratlarda Fibroblast Büyüme Faktörü'nün Diş Çekimi Sonrası Mukoza Anjiogenezine Etkisi

Yayın Şartı : SCI/SSCI/AHCI (Expanded Dahil) İndeksine Giren Yayın
Proje Bütçesi (TL) : 21.560,46
Proje süresi : Başlangıç Tarihi : 03.07.2012 Bitiş Tarihi: 03.05.2013 - 10 ay

İMZA

Prof.Dr.İskender AKKURT
Rektör Yardımcısı
BAP Komisyon Başkanı

İMZA

Prof.Dr.M.Cengiz KAYACAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA

Yrd.Doç.Dr.Abdullah Şevki DUYSMAZ
Güzel Sanatlar Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA

Doç.Dr.Nevin AYTEMİZ
Komisyon Üyesi
(İZİNLİ)

İMZA

Doç.Dr.Ramazan ERDEM Komisyon
Üyesi

İMZA

Yrd.Doç.Dr.S.Zeynep ALPARSLAN GÖK
Komisyon Üyesi

İMZA

Prof.Dr.Süleyman SEYDİ
Sosyal Bilimler Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA

Doç.Dr.İbrahim Diler
Su Ürünleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA

Prof.Dr.Kamil EKİNCİ
Komisyon Üyesi
(İZİNLİ)

İMZA

Doç.Dr.Bahattin YAMAN
Komisyon Üyesi
(İZİNLİ)

İMZA

Prof.Dr.M.Fehmi ÖZGÜNER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA

Prof.Dr.Hüseyin YORGANCIGİL
Komisyon Üyesi

İMZA

Doç.Dr.Fevzi BEDİR
Komisyon Üyesi
(İZİNLİ)

İMZA

Yrd.Doç.Dr.Fatma Handan GİRAY
Komisyon Üyesi

PROJE YÖNETİCİSİNE TEBLİGAT

Sayın: **Yrd. Doç. Dr. Gülperi KOÇER**

Süleyman Demirel Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun yukarıdaki kararı uyarınca sunduğumuz projenin belirtilen şartlarda desteklenmesine karar verilmiştir.

Proje protokolünü imzalamak üzere aşağıda belirtilen tarih ve saatte Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nde hazır bulunmanızı rica eder, başarılarımızın devamını dilerim.

Tarih ve Saat :

İMZA
Prof.Dr.İskender AKKURT
Rektör Yardımcısı
BAP Komisyon Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Eskişehir’de 01.04.1987 tarihinde doğdum. Eskişehir Kütipoğlu İlkokulu’ndan 1998 yılında, Eskişehir Mehmet Akif Ersoy Ortaokulu'ndan 2001 yılında, Eskişehir Kılıçoğlu Lisesi'nden de 2004 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’ni kazandım. Lisans ve yüksek lisans eğitimimi 2009 yılında tamamlayarak aynı yıl Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı’nda doktora eğitimime başladım.