



**T.C.  
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL  
ÇENELERİN BİFOSFONATA BAĞLI  
OSTEONEKROZU MODELİNDE  
PENTOKSİFİLİN'İN PROFİLAKTİK ETKİSİNİN  
HİSTOPATOLOJİK VE HİSTOMORFOMETRİK  
OLARAK İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**DIŞ HEKİMİ**

**GÜL MERVE YALÇIN**

**İSTANBUL, 2015**



**T.C.  
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL  
ÇENELERİN BİFOSFONATA BAĞLI  
OSTEONEKROZU MODELİNDE  
PENTOKSİFİLİN'İN PROFİLAKTİK  
ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE  
HİSTOMORFOMETRİK OLARAK  
İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**DIŞ HEKİMİ**

**GÜL MERVE YALÇIN**

**DANIŞMAN**

**PROF. DR. MEHMET KEMAL ŞENÇİFT**

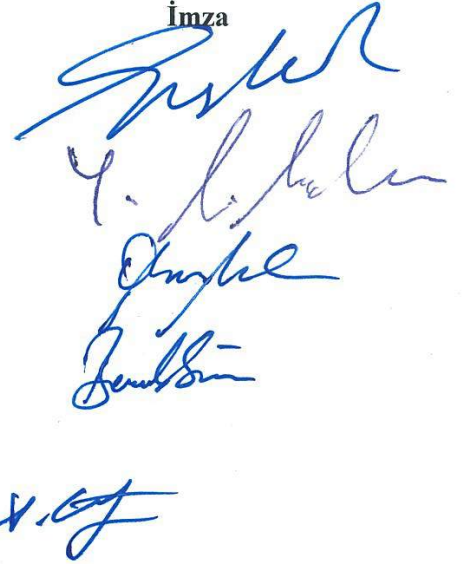
**İSTANBUL, 2015**

## TEZ ONAYI FORMU

Kurum : Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Program : Ağız Diş ve Çene Cerrahisi  
Tez Başlığı : Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Çenelerin Bifosfonata Bağlı Osteonekrozu Modelinde Pentoksifilin'in Profilaktik Etkisinin Histopatolojik ve Histomorfometrik Olarak İncelenmesi  
Tez Sahibi : Diş Hekimi Gül Merve Yalçın  
Sınav Tarihi : 06.10.2015

Bu çalışma jürimiz tarafından kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** Prof. Dr. Nurhan Güler  
Yeditepe Üniversitesi  
**Tez danışmanı:** Prof. Dr. M. Kemal Şençift  
Yeditepe Üniversitesi  
**Üye:** Prof. Dr. Deniz Gökçe Meral  
Okan Üniversitesi  
**Üye:** Doç. Dr. Berkay Tolga Süer  
Gülhane Askeri Tıp Akademisi  
**Üye:** Yrd. Doç. Dr. Alev Cumbul  
Yeditepe Üniversitesi

İmza  


## ONAY

Bu tez Yeditepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 12.../10.../2015 tarih ve 25.../1...sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Bayram YILMAZ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## **BEYAN**

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

Dt. Gl Merve Yalçın

*Bugünlere gelebilmemizi sağlayan tüm savaşçı kadınlara ithafen...*

## TEŞEKKÜR

Tecrübesi ve ileri görüşlülüğüyle bölümümüzde en sıkıntılı zamanlarda bile bir düzen olmasını sağlayan ve bölümümüzü ayakta tutan, özellikle yöneticilik vasıflarını örnek aldığım, huzurlu bir doktora dönemi geçirmemde en büyük katkıya sahip ve bu tezin ortaya çıkmasını sağlayan sevgili hocam ve tez danışmanım Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkan'ı Sayın **Prof. Dr. Kemal Şençift'e**,

Öğrenciliğimden bu yana bana hep inandığı; beni motive ettiği ve desteklediği için, benim için birçok kez mecbur olmadığı halde kendini sıkıntılara soktuğu, bana bildiği herşeyi öğrettiği, aramızdaki onca mesafeye rağmen tezimin son gününe kadar benden desteğini asla esirgemediği ve bana hep öz kardeşi gibi davrandığı için hocam, ablam Sayın **Yrd. Doç. Dr. Gonca Duygu Çapar'a**,

Bitmek bilmeyen sorularımdan bir kere bile sıkılmayarak bana hep sorduğumdan daha fazlasını verdiği için, özellikle akademik anlamda gelişmemde çok büyük katkıya sahip motivasyonumu asla kırmayan çok sevgili hocam Sayın **Doç. Dr. Ceyda Özçakır Tomruk'a**,

Kendisine her danıştığımda mutlaka bana yeni birşeyler kattığı için, kendisinden öğrendiğim dersleri asla unutmayacağım hocam, ağabeyim Sayın **Yrd. Doç. Dr. Fatih Cabbar'a**,

YÜDETAM gibi bir olanağı bizlere sunduğu ve yanına ne zaman gitsem benden bilgisini esirgemediği için YÜDETAM Başkan'ı ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Sayın **Prof. Dr. Bayram Yılmaz'a**; çalışmamın deney aşamasında kendilerinden özellikle çalışma düzeni ve disiplinine dair çok sey öğrendiğim, benden hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Sayın **Vet. Hek. Engin Sümer'e** ve Sayın **Selim Doğan'a**,

Çalışmamın histolojik değerlendirmeleri sırasında yoluma ışık tutan ve tezimdeki katkısına her zaman minnettar olacağım hocam Sayın **Doç. Dr. Ünal Uslu'ya**; bu süreç boyunca bana bildiği herşeyi öğretmek için çaba harcayan, çalışmamın laboratuvar aşamasında benden desteğini esirgemeyen Sayın **Yrd. Doç. Dr. Alev Cumbul'a**,

Bölüm hocalarım Sayın **Prof. Dr. Nurhan Güler'e**, Sayın **Doç. Dr. Ahmet H. Arslan'a**, Sayın **Yrd. Doç. Dr. Ediz Deniz'e**, Sayın **Öğr. Gör. Dr. Çağrı Burdurlu'ya**, anestezi hocamız Sayın **Dr. Adnan Noyan'a** ve bölümde birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Tez çalışmam boyunca manevi desteğini hep hissettirdiği ve benden yardımını esirgemediği için meslektaşım; sınıf ve bölüm arkadaşım **Dt. Aysheh Hamoeipour'a**,

Bana hem ağabeylik hem de arkadaşlık yaptıkları ve her ihtiyacım olduğunda yol gösterdikleri için bölüm arkadaşlarım **Dr. Hasan Onur Sorkun'a** ve **Dt. Cenker Selçuk'a**,

Tezimin tüm fotoğraflarını çekerek bana tahmin edemeyeceği kadar büyük bir katkıda bulunan sevgili sınıf arkadaşım **Dt. Zeynep Kılınç'a**,

Bana dert ortağı olup tezi yazdığım süre boyunca beni durmadan, sıkılmadan motive eden arkadaşlarım **Dr. Selen Mert'e** ve **Oya Şahinoğlu'na**,

Hem öğrencilik hayatımda hem de doktora yıllarımda benden desteklerini asla esirgemedikleri ve bana inandıkları için çok sevgili ablalarım Sayın **Öğr. Gör. Dr. Ogül Leman Tunar'a**, Sayın **Öğr. Gör. Dr. Burcu Nur Yılmaz'a** ve arkadaşlarım **Öğr. Gör. Dr. Ayşe Yalnız'a**, **Öğr. Gör. Dr. Nazlı Şirinsükan'a**, **Dr. Oya Kaymakbayraktar Kerter'e**, **Dt. Gonca Yıldırım'a**, **Dt. Sarah Alsulaimani Büyükdağ'a**, **Dt. Samed Kuka'ya** ve **Dt. Doruk Düzenli'ye**,

Doktora eğitimim boyunca, bana konforlu ve düzenli bir şekilde hasta bakacak ortamı saylayarak; aslında öğrenmemdeki en büyük katkıya sahip olan başta ablam **Semra Tik** ve **Arzu Karataş** olmak üzere, hemşire arkadaşlarım **Muhteşem Anlar'a**, **Gülçin Merve Çelik'e**, **Sena Çıtır'a**, **Öznur Güneş Fazhoğlu'na**, **Burçin Şenel Morgül'e**, **Leyla Civelek'e** ve anestezi teknisyenleri **Bayram Coşar'a**, **Leyla Saruhan'a** ve **Senem Gezer Alıcı'ya**,

Tezimin yazımı aşamasında, her ihtiyacımda benden yardımını esirgemediği için **Uzman Kütüphaneci Arife Çelik'e**,

Ana kampüste bulunduğum süre boyunca bana hep destek oldukları ve benden gülüyüzlerini ve arkadaşlıklarını esirgemedikleri için **MSc. Selvi Duman'a** ve **Nalan Katık Akar'a**,

Akademik hayatıma ettiği rehberlikle bana kelimelerle tarif edemeyeceğim kadar çok katkısı olan ablam **Prof. Dr. Nergis Arsu'ya**,

Tüm eğitim-öğretim hayatım boyunca göstermiş oldukları maddi manevi destek için ve yolumu açarak bana örnek teşkil ettikleri için başta anneannem **Hacı Mükerrerem Manav**, annem **Prof. Dr. Sabiha Manav Yalçın** ve teyzem **Prof. Dr. Gülten Manav Ay** olmak üzere, babam **Necati Yalçın'a**, dayılarım **Ahmet Ata Manav'a**, **Hasan Manav'a** ve **Mustafa Manav'a**; ve tüm aileme,

Bu sürecin her anında yanımda olan, benle birlikte sevinen ve üzülen, bana her zaman destek olan arkadaşım, eşim **Cenk Ülker'e**,

Çok teşekkür ederim. Sizlerle başardım.

# İÇİNDEKİLER

|   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| <b>İÇ KAPAK</b>   | i            |
| <b>ONAY SAYFASI</b>   | ii           |
| <b>BEYAN</b>  | iii          |
| <b>İTHAF</b>  | iv           |
| <b>TEŞEKKÜR</b>   | v            |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>  | vii          |
| <b>TABLO LİSTESİ</b>  | ix           |
| <b>ŞEKİL LİSTESİ</b>  | x            |
| <b>RESİM LİSTESİ</b>  | xii          |
| <b>SEMBOLLER ve KISALTMALAR</b>   | xv           |
| <b>İNGİLİZCE ÖZET</b>   | xvi          |
| <b>TÜRKÇE ÖZET</b>  | xviii        |
| <b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b>   | 1            |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>  | 3            |
| <b>2.1 Bifosfonatlar</b>  | 3            |
| <b>2.1.1 Bifosfonatların Tarihçesi ve Gelişimi</b>                      | 3            |
| <b>2.1.2 Bifosfonatların Kimyasal Özellikleri</b>                       | 4            |
| <b>2.1.3 Bifosfonatların Sınıflandırılması</b>                          | 5            |
| <b>2.1.4 Bifosfonatların Farmakolojik ve Farmakokinetik Özellikleri</b> | 6            |
| <b>2.1.5 Bifosfonatların Etki Mekanizması</b>                           | 7            |
| <b>2.1.6 Bifosfonatların Endikasyonları</b>                             | 10           |
| <b>2.1.7 Bifosfonatların Yan Etkileri</b>                               | 10           |
| <b>2.2 Çenelerin Bifosfonata Bağlı Osteonekrozu</b>                     | 11           |
| <b>2.2.1 ÇBON'un Epidemiyolojisi</b>                                    | 12           |
| <b>2.2.2 ÇBON'un Patofizyolojisi ve Risk Faktörleri</b>                 | 13           |
| <b>2.2.3 ÇBON'un Bulguları</b>  | 15           |
| <b>2.2.4 ÇBON'un Evreleri ve Tedavi Yaklaşımları</b>                    | 16           |
| <b>2.3 Pentoksifilin</b>  | 18           |
|   | vii          |



|   |     |
|---|-----|
| <b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>               | 21  |
| <b>4. BULGULAR</b>                      | 36  |
| <b>5. TARTIŞMA</b>                      | 65  |
| <b>6. SONUÇLAR</b>                      | 76  |
| <b>7. KAYNAKLAR</b>                     | 77  |
| <b>8. EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi</b> | 99  |
| <b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>                      | 100 |

## TABLO LİSTESİ

|   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| <b>Tablo 2.1</b> Bifosfonat grubu ilaçların R2 yan zincirleri, yapıları ve etkinlikleri     | 5            |
| <b>Tablo 2.2</b> AAOMS'a göre ÇİBON Evreleri ve Tedavi Yaklaşımları                         | 17           |
| <b>Tablo 3.1</b> Histopatolojik Skorlama Kriterleri   | 30           |
| <b>Tablo 4.1</b> Grupların Vücut Ağırlık Ölçüm Değerleri                                    | 37           |
| <b>Tablo 4.2</b> Grupların Enflamasyon Şiddetlerinin Karşılaştırılması                      | 41           |
| <b>Tablo 4.3</b> Grupların Vaskülarizasyonlarının Karşılaştırılması                         | 43           |
| <b>Tablo 4.4</b> Grupların Kanama Şiddetlerinin Karşılaştırılması                           | 45           |
| <b>Tablo 4.5</b> Grupların Rejenerasyon Derecelerinin Karşılaştırılması                     | 47           |
| <b>Tablo 4.6</b> Diş Çekim Boşluklarında Ölçülen Total Kemik Hacimlerinin Karşılaştırılması | 55           |
| <b>Tablo 4.7</b> Diş Çekim Boşluklarında Ölçülen Kemik Yüzdelerinin Karşılaştırılması       | 59           |

## ŞEKİL LİSTESİ

|                   | <b>Sayfa</b>  |    |
|-------------------|---|----|
| <b>Şekil 2.1</b>  | Pirofosfat ve Bifosfanat Moleküllerinin Kimyasal Yapıları   | 4  |
| <b>Şekil 2.2</b>  | Bifosfonatların osteoklastlar üzerine etkisinin şematik görüntüsü   | 9  |
| <b>Şekil 2.3</b>  | Pentoksifilinin Kimyasal Yapısı   | 18 |
| <b>Şekil 3.1</b>  | Çalışma Planı   | 29 |
| <b>Şekil 3.2</b>  | Histomorfometrik olarak ölçülecek alanın sınırlarının belirlenmesi (x4)                                       | 32 |
| <b>Şekil 3.3</b>  | Ölçüm yapılacak alanın büyütülmesi (x10)  | 33 |
| <b>Şekil 3.4</b>  | Cavelieri Prensibi ile değerlendirilecek alana ölçüm cetvelinin rastgele atılması (x10)                       | 33 |
| <b>Şekil 3.5</b>  | Ölçüm cetveli ile total alana denk gelen nokta sayısının hesaplanması (x10)                                   | 34 |
| <b>Şekil 3.6</b>  | Ölçüm cetveli ile kemik alanına denk gelen nokta sayısının hesaplanması (x10)                                 | 34 |
| <b>Şekil 4.1</b>  | Kontrol grubundaki sıçanların vücut ağırlık ölçüm değerleri.  | 38 |
| <b>Şekil 4.2</b>  | SF/PEN grubundaki sıçanların vücut ağırlık ölçüm değerleri.   | 38 |
| <b>Şekil 4.3</b>  | ZA/SF grubundaki sıçanların vücut ağırlık ölçüm değerleri.  | 39 |
| <b>Şekil 4.4</b>  | ZA/PEN grubundaki sıçanların vücut ağırlık ölçüm değerleri.   | 39 |
| <b>Şekil 4.5</b>  | ZA/PEN/PEN grubundaki sıçanların vücut ağırlık ölçüm değerleri.   | 40 |
| <b>Şekil 4.6</b>  | Grupların enflamasyon şiddetlerinin karşılaştırılması.  | 42 |
| <b>Şekil 4.7</b>  | Grupların vaskülarizasyonlarının karşılaştırılması.   | 44 |
| <b>Şekil 4.8</b>  | Grupların kanama şiddetlerinin karşılaştırılması.   | 46 |
| <b>Şekil 4.9</b>  | Grupların rejenerasyon derecelerinin karşılaştırılması.   | 48 |
| <b>Şekil 4.10</b> | Kontrol grubu ile SF/PEN, ZA/SF, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması. | 56 |
| <b>Şekil 4.11</b> | SF/PEN grubu ile ZA/SF, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.          | 56 |

|                   |   |    |
|-------------------|---|----|
| <b>Şekil 4.12</b> | ZA/SF grubu ile ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.          | 57 |
| <b>Şekil 4.13</b> | ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.                          | 57 |
| <b>Şekil 4.14</b> | Kontrol grubu ile SF/PEN, ZA/SF, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupların kemik yüzdelerinin karşılaştırılması. | 60 |
| <b>Şekil 4.15</b> | SF/PEN grubu ile ZA/SF, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupların kemik yüzdelerinin karşılaştırılması.          | 60 |
| <b>Şekil 4.16</b> | ZA/SF grubu ile ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupların kemik yüzdelerinin karşılaştırılması.                  | 61 |
| <b>Şekil 4.17</b> | ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupların kemik yüzdelerinin karşılaştırılması.                                  | 61 |

## RESİM LİSTESİ

|                   | <b>Sayfa</b>  |
|-------------------|---|
| <b>Resim 3.1</b>  | Çalışmada kullanılan sıçanlar, rastgele seçilerek beş gruba ayrıldı. 21   |
| <b>Resim 3.2</b>  | Zoledronik Asit 22  |
| <b>Resim 3.3</b>  | Pentoksifilin 22  |
| <b>Resim 3.4</b>  | Sıçanlara enjeksiyonun IP olarak yapılması 23   |
| <b>Resim 3.5</b>  | Ketamin Hidroklorid ve Ksilazin Hidroklorid 24  |
| <b>Resim 3.6</b>  | Sıçanların gözlerine oftalmik komplikasyonların önlenmesi amacı ile pomad sürüldü. 24   |
| <b>Resim 3.7</b>  | Çenelerin lastik bantlar yardımı ile açılarak görüş alanının sağlanması. 25   |
| <b>Resim 3.8</b>  | Diş çekimi öncesinde ağız içi görüntü. 25   |
| <b>Resim 3.9</b>  | Sol alt ikinci moların sond ile lükse edilmesi. 26  |
| <b>Resim 3.10</b> | Sol alt moların klemp ile lükse edilmesi. 26  |
| <b>Resim 3.11</b> | Sol alt ikinci molar. 27  |
| <b>Resim 3.12</b> | Diş çekim socketinin görüntüsü. 27  |
| <b>Resim 3.13</b> | Sıçanlara Subkutan % 5'lik Dekstroz Enjeksiyonu. 28   |
| <b>Resim 3.14</b> | Diseke edilmiş sıçan mandibulası. 29  |
| <b>Resim 3.15</b> | Streoloji Çalışma İstasyonu. 31   |
| <b>Resim 4.1</b>  | Kontrol grubundaki bir sıçanın çekim socketinin histolojik görüntüsü A. İyileşmiş, kemikle dolmuş socketin görüntüsü (İçi boş ok) (x5 büyütmede; bar=400 $\mu$ m). B. Yeni oluşan kemik (Yıldız) (x10 büyütmede; bar=200 $\mu$ m). C. Yeni oluşan kemik (Yıldız) (x20 büyütmede; bar=100 $\mu$ m). D. Yeni oluşan kemik (Yıldız); Yeni oluşan kemiği besleyen kapiller (Siyah ok); Kemik yüzeyine temasta olan sağlıklı bir osteoklast (Mavi ok) (x40 büyütmede; bar=50 $\mu$ m) Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır. 49 |

- Resim 4.2** SF/PEN grubundaki bir sıçanın çekim soketinin histolojik görüntüsü A. İyileşmiş, kemikle dolmuş soketin görüntüsü (İçi boş ok) (x5 büyütmede; bar=400  $\mu\text{m}$ ). B. İyileşmiş, kemikle dolmuş soketin görüntüsü (İçi boş ok) (x10 büyütmede; bar=200  $\mu\text{m}$ ). C. Yeni oluşan kemik (Yıldız) (x20 büyütmede; bar=100  $\mu\text{m}$ ). D. Yeni oluşan kemik (Yıldız) (x40 büyütmede; bar=50  $\mu\text{m}$ ) Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır. 50
- Resim 4.3** ZA/SF grubundaki bir sıçanın çekim soketinin histolojik görüntüsü A. Tam olarak iyileşmemiş, kısmen kemikle dolmuş soketin görüntüsü (İçi boş ok) (x5 büyütmede; bar=400  $\mu\text{m}$ ). B. Enflamasyon alanları (x10 büyütmede; bar=200  $\mu\text{m}$ ). C. Enflamasyon alanları (x20 büyütmede; bar=100  $\mu\text{m}$ ). D. Beslenmeyen ve kısmen yumuşak doku ve enflamatuvar hücreler ile çevrili kemik bölgesi (x40 büyütmede; bar=50  $\mu\text{m}$ ) Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır. 51
- Resim 4.4** ZA/PEN grubundaki bir sıçanın çekim soketinin histolojik görüntüsü A. Tam olarak iyileşmemiş, kısmen kemikle dolmuş soketin görüntüsü, enflamasyon alanları (Siyah ok) (x5 büyütmede; bar=400  $\mu\text{m}$ ). B. Enflamasyon alanları (x10 büyütmede; bar=200  $\mu\text{m}$ ). C. Enflamasyon alanları ve enflamasyon bölgesine gelen kapiller (Siyah ok); beslenmeyen ve kısmen yumuşak doku ve enflamatuvar hücreler ile çevrili kemik bölgesi (Yıldız) (x20 büyütmede; bar=100  $\mu\text{m}$ ). D. Beslenmeyen ve kısmen yumuşak doku ve enflamatuvar hücreler ile çevrili kemik bölgesi (x40 büyütmede; bar=50  $\mu\text{m}$ ) Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır. 52

|                   |  |    |
|-------------------|--|----|
| <b>Resim 4.5</b>  | ZA/PEN/PEN grubundaki bir sıçanın çekim soketinin histolojik görüntüsü A. Tam olarak iyileşmemiş, kısmen kemikle dolmuş soketin görüntüsü, enflamasyon alanları (Siyah ok) (x5 büyütmede; bar=400 $\mu\text{m}$ ). B. Enflamasyon alanları (Siyah ok) (x10 büyütmede; bar=200 $\mu\text{m}$ ). C. Enflamasyon alanları ve (Siyah ok) (x20 büyütmede; bar=100 $\mu\text{m}$ ). D. Beslenmeyen ve kısmen yumuşak doku ve enflamatuvar hücreler ile çevrili kemik bölgesi (Yıldız) (x40 büyütmede; bar=50 $\mu\text{m}$ ) Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır. | 53 |
| <b>Resim 4.6</b>  | Kontrol grubundaki bir sıçanın çekim soketinde yeni kemik oluşumu görüntüsü. (x4 ve x10 büyütme; bar=400 $\mu\text{m}$ ve bar=200 $\mu\text{m}$ ). Trikrom Masson ile boyanmıştır.   | 62 |
| <b>Resim 4.7</b>  | SF/PEN grubundaki bir sıçanın çekim soketinde yeni kemik oluşumu görüntüsü. (x4 ve x10 büyütme; bar=400 $\mu\text{m}$ ve bar=200 $\mu\text{m}$ ). Trikrom Masson ile boyanmıştır.  | 62 |
| <b>Resim 4.8</b>  | ZA/SF grubundaki bir sıçanın çekim soketinde yumuşak doku varlığının görüntüsü. Sokette sağlıklı iyileşme gerçekleşmediği görülmektedir (x4 ve x10 büyütme; bar=400 $\mu\text{m}$ ve bar=200 $\mu\text{m}$ ). Trikrom Masson ile boyanmıştır.  | 63 |
| <b>Resim 4.9</b>  | ZA/PEN grubundaki bir sıçanın çekim bölgesinde kısmen iyileşmiş soketin görüntüsü (x4 ve x10 büyütme; bar=400 $\mu\text{m}$ ve bar=200 $\mu\text{m}$ ). Trikrom Masson ile boyanmıştır.  | 63 |
| <b>Resim 4.10</b> | ZA/PEN/PEN grubundaki bir sıçanın çekim bölgesinde kısmen iyileşmiş soketin görüntüsü (x4 ve x10 büyütme; bar=400 $\mu\text{m}$ ve bar=200 $\mu\text{m}$ ). Trikrom Masson ile boyanmıştır.  | 64 |

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR

|                |  |
|----------------|--|
| <b>AAOMS</b>   | American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons  |
| <b>ATP</b>     | Adenozintrifosfat  |
| <b>BMP</b>     | Kemik Morfojenik Proteini                                |
| <b>BP</b>      | Bifosfonat   |
| <b>BRONJ</b>   | Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw          |
| <b>cAMP</b>    | Siklik Adenozin Monofosfat                               |
| <b>ÇBON</b>    | Çenelerin Bifosfonata Bağlı Osteonekrozu                 |
| <b>ÇİBON</b>   | Çenelerin İlaça Bağlı Osteonekrozu                       |
| <b>FPP</b>     | Farnesil Difosfat  |
| <b>FPPS</b>    | Farnesil Difosfat Sintaz                                 |
| <b>GGPP</b>    | Geranil-Geraniol Pirofosfat                              |
| <b>GTP</b>     | Guazin Trifosfat   |
| <b>HA</b>      | Hidroksi Apatit  |
| <b>IL</b>      | İnterlökin   |
| <b>IM</b>      | İntramusküler  |
| <b>IP</b>      | İntraperitoneal  |
| <b>IPP</b>     | İsopentil Difosfat                                       |
| <b>IV</b>      | İntravenöz   |
| <b>MRONJ</b>   | Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw              |
| <b>ORN</b>     | Osteoradyonekroz   |
| <b>PEN</b>     | Pentoksifilin  |
| <b>PPi</b>     | Pirofosfat   |
| <b>SF</b>      | Serum Fizyolojik   |
| <b>SH</b>      | Standart Hata  |
| <b>SS</b>      | Standart Sapma   |
| <b>TGF-β</b>   | Transforming Büyüme Faktörü-β                            |
| <b>TNF-α</b>   | Tümör Nekrozitan Faktör-α                                |
| <b>VEGF</b>    | Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü                       |
| <b>YÜDETAM</b> | Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi |
| <b>ZA</b>      | Zoledronik Asit  |



## ABSTRACT

**Yalçın G.M. (2015). Histopathologic and Histomorphometric Evaluation of Prophylactic Effect of Pentoxifylline on a Rat Model of Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw. Yeditepe University, Health Sciences Institute, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, PhD Thesis, Istanbul.** The aim of this experimental study is to investigate the prophylactic effect of Pentoxifylline (PEN) on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). In our study, 34 female Sprague-Dawley rats were randomly divided into five groups. Groups 1 (Control) and 2 (SF/PEN) were injected intraperitoneally (IP) with sterile saline solution (SF) for 8 weeks; Groups 3 (ZA/SF), 4 (ZA/PEN) and 5 (ZA/PEN/PEN) were received IP zoledronic acid (ZA) (Zolenat® 4mg/5 ml, Mustafa Nevzat, Türkiye) at a dose of 0.1 mg/kg, 3 times a week for 8 weeks. In the eighth week, rats in group 5 (ZA/PEN/PEN) were received IP 50 mg/kg PEN (Trentillin® 100 mg/5 ml IV, Santa Farma, İstanbul, Türkiye) everyday. The left second molar teeth were extracted and the animals were allowed to recover for 8 weeks before being sacrificed. After tooth extraction, groups 1 (Control) and 3 (ZA/SF) were injected IP SF everyday for 3 weeks; groups 2 (SF/PEN), 4 (ZA/PEN) and 5 (ZA/PEN/PEN) were received 50 mg/kg IP PEN everyday for 3 weeks. At the end of this 16-week period, all rats were sacrificed. The specimens were histopathologically evaluated according to their inflammation, vascularization, bleeding and regeneration degrees. This parameters are valued as none (0), mild (1), moderate (2) and severe (3). The total bone volume and bone percentage were histomorphometrically evaluated. At the beginning of the experiment, weights of the rats were recorded and there were a statistically significant difference between the groups ( $p=0,043$ ). Within the 16-week process, weights of the rats recorded and rats have continued to gain weight. At the end of the experiment, there was no statistically significant difference between the groups ( $p>0,05$ ). Between control group and group SF/PEN, there were no statistically significant difference for inflammation ( $p=0,127$ ), vascularization ( $p=1$ ), bleeding ( $p=1$ ) and regeneration ( $p=1$ ). Between control group and group ZA/SF (Osteonecrosis Group), there were statistically significant difference for inflammation ( $p=0,013$ ), vascularization ( $p=0,022$ ), bleeding ( $p=0,025$ ) and regeneration ( $p=0,008$ ). Comparison between group

ZA/SF and treatment groups has showed: between control group and group ZA/PEN, there were no statistically significant difference for inflammation ( $p=0,536$ ) vascularization ( $p=0,642$ ), bleeding ( $p=0,765$ ) and regeneration ( $p=0,127$ ). Between group ZA/SF and group ZA/PEN/PEN, there were statistically significant difference for inflammation ( $p=0,017$ ), vascularization ( $p=0,04$ ), bleeding ( $p=0,044$ ) and regeneration ( $p=0,04$ ). Evaluation of histomorphometrical results have revealed that comparison of the total bone volume has showed statistically significant difference between control group and group SF/PEN ( $p=0,009$ ); ZA/PEN ( $p=0,01$ ) and ZA/PEN/PEN ( $p=0,002$ ). Between control group and group ZA/SF, there was no statistically significant difference for total bone volume ( $p=0,999$ ). Comparison of the bone percentage in the extraction sockets has showed no statistically significant difference between control group and group SF/PEN ( $p=0,935$ ); ZA/PEN ( $0,108$ ) and ZA/PEN/PEN ( $p=0,530$ ). Between control group and group ZA/SF, control group has showed a statistically significant difference for bone percentage in the extraction sockets ( $p<0,001$ ). Comparison between group ZA/SF and treatment groups has showed no statistically significant difference with group ZA/PEN ( $p=0,69$ ); but statistically significant difference with group ZA/PEN/PEN ( $p=0,008$ ). In this experimental model for BRONJ, it might be concluded that although PEN which was given right after tooth extraction improves new bone formation and in this way it positively affects bone healing, it is not therapeutic. However, PEN that was given before tooth extraction is both prophylactic and therapeutic. In conclusion, PEN might affect healing in a positive way via optimizing inflammatory response.

Key Words: Zoledronic Acid, Pentoxifylline, Bisphosphonate, Osteonecrosis, Rat

## ÖZET

**Yalçın, G.M. (2015). Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Çenelerin Bifosfonata Bağlı Osteonekrozu Modelinde Pentoksifilin'in Profilaktik Etkisinin Histopatolojik ve Histomorfometrik Olarak İncelenmesi, Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul.** Bu deneysel çalışmanın amacı zoledronik asit (ZA) ile nekrotik alanlar oluşuktan sonra tedavi amacı ile kullanılan Pentoksifilin'in (PEN) nekroz oluşmadan önce profilaktik etkisinin varlığının incelenmesidir. Çalışmamızda otuz dört tane dişi Sprague-Dawley sıçan randomize olarak beş gruba ayrıldı. Grup 1 (Kontrol) ve 2'deki (SF/PEN) sıçanlara çalışmanın ilk gününden başlayacak şekilde 8 hafta boyunca haftada 3 kez intraperitoneal (IP) serum fizyolojik (SF) (0,1 mg/ml) verilirken, Grup 3 (ZA/SF), 4 (ZA/PEN) ve 5'teki (ZA/PEN/PEN) sıçanlara yine çalışmanın ilk gününden itibaren 8 hafta boyunca haftada 3 kez serum fizyolojik ile karıştırılarak zoledronik asit (0.1 mg/kg) (Zolenat® 4mg/5 ml, Mustafa Nevzat, Türkiye) IP olarak uygulandı (Resim 3.2). Grup 5'teki sıçanlara diş çekiminden bir hafta önce ilave olarak IP PEN (Trentillin® 100 mg/5 ml IV, Santa Farma, İstanbul, Türkiye (50 mg/kg) enjeksiyonu yapıldı. Bu 8 haftalık süreci takiben, sıçanların sol alt 2. moları çekildi. Diş çekimlerinin yapıldığı günden itibaren 3 hafta boyunca hergün IP, Grup 1 ve 3'teki sıçanlara SF (0,1 mg/ml); Grup 2, 4 ve 5'teki sıçanlara ise IP PEN (50 mg/kg) enjeksiyonu yapıldı. Tüm deney hayvanları diş çekimlerinden 8 hafta sonra dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Tüm sıçanlardan alınan örnekler enflamasyon, vaskülarizasyon, kanama ve rejenerasyon açısından, yok (0), çok az (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir. Diş çekim soketindeki total kemik hacmi ve kemik yüzdesi ölçümleri histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Yapılan ağırlık ölçümlerinde, başlangıç ölçümünde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenirken ( $p=0,043$ ); geçen zamanla birlikte uygulanan işlemlerden bağımsız olarak gruplardaki hayvanların ağırlık ortalamalarında artış gözlenmiş ancak zamana göre ağırlık değişimleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Kontrol grubu ile SF/PEN grubu; enflamasyon ( $p=0,127$ ), vaskülarizasyon ( $p=1$ ), kanama ( $p=1$ ) ve rejenerasyon

(p=1) açısından karşılaştırıldıklarında, bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Kontrol ile ZA/SF grubu karşılaştırıldığında ise enflamasyon (p=0,013), vaskülarizasyon (p=0,022), kanama (p=0,025) ve rejenerasyon (p=0,008) açısından, istatistiksel olarak her bir parametrede anlamlı fark bulunmuştur. ZA/SF grubu ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları ile karşılaştırıldığında; diş çekimi sonrasında PEN uygulanan ZA/PEN grubu ile karşılaştırıldığında enflamasyon (p=0,536), vaskülarizasyon (p=0,642), kanama (p=0,765) ve rejenerasyon (p=0,127), açısından bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ZA/SF grubu diş çekimi öncesinde koruyucu olarak PEN uygulanan ZA/PEN/PEN grubu ile karşılaştırıldığında ise enflamasyon (p=0,017), vaskülarizasyon (p=0,04), kanama (p=0,044) ve rejenerasyon (p=0,04) açısından, tüm bulgularda anlamlı bir fark izlenmiştir. Histomorfometrik değerlendirmede, grupların total kemik hacimleri incelendiğinde; kontrol grubu ile SF/PEN, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları arasında anlamlı bir fark izlenmiş (Sırası ile: p=0,009; p=0,01; p=0,002); kontrol grubu ile ZA/SF grubu arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (p=0,999). Gruplar arasında diş çekim soketlerindeki kemik yüzdeleri karşılaştırıldığında ise; kontrol grubu ile SF/PEN, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları arasında anlamlı bir fark izlenmemiş (Sırası ile: p=0,935; p=0,108; p=0,530); ZA/SF grubu ile karşılaştırıldığında ise anlamlı derecede yüksek kemik yüzdesine sahip oluğu görülmüştür (p<0,001). ZA/SF grubunun kemik yüzdesi ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları ile karşılaştırıldığında, ZA/SF grubu ile ZA/PEN grubunun arasında anlamlı bir fark bulunmadığı (p=0,69); ZA/PEN/PEN grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunduğu görülmüştür (p=0,008). Deneysel olarak oluşturulan bu modelde, diş çekimi sonrasında verilen PEN'in her ne kadar yeni kemik oluşumunun arttırıp iyileşmeyi pozitif yönde etkilese de anlamlı olarak tedavi edici olmadığı; diş çekimi öncesinde proflaktik olarak verilen PEN'in ise kemik iyileşmesi açısından hem proflaktik hem de tedavi edici olabileceği sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak PEN'in enflamatuvar reaksiyonu optimize ederek iyileşmeyi pozitif yönde etkilediği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Zoledronik Asit, Pentoksifilin, Bifosfonat, Osteonekroz, Sıçan

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bifosfonat (BP) bileşikleri kemiklerdeki osteoklastik aktiviteyi inhibe ederek; çeşitli malign tümörlere bağlı olarak gelişen hiperkalsemi, patolojik fraktürler ve omurilik sıkışması gibi hayati tehlike yaratan komplikasyonları azaltarak kemik metastazı bulunan kanser hastalarının hayat kalitesini iyileştirmek ve ağrılarını azaltmak amacı ile kullanılmaktadır. İntravenöz BP tedavisi malignensiye bağlı olarak gelişen hiperkalseminin düzeltilmesinde etkili olduğu gibi meme, prostat ve akciğer kanserlerine bağlı tümörlerin ve multiple myelomaya bağlı metastatik osteolitik lezyonların tedavisinde de faydalıdır. Ayrıca Paget, fibröz displazi, heterotopik ossifikasyonlar, ankilozan spondilit, osteogenesis imperfecta, idiyopatik juvenil osteoporoz ve postmenapozal osteoporoz tedavisinde de kullanılmaktadır.

American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons – AAOMS'a göre, Çenelerin Bifosfonata Bağlı Osteonekrozu (ÇBON) – Biphosphonate Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ), daha önce bifosfonat grubu ilaç kullanmış veya hala kullanmakta olan; baş-boyun bölgesine radyoterapi almamış hastalarda, maksillofasiyal bölgede ekspoze kemik alanlarının oluşması ve bu durumun sekiz hafta veya daha fazla süre ile mevcut olması ile karakterize bir klinik tablodur. Son yıllarda ÇBON, özellikle intravenöz yolla uygulanan ve azot içeren BP grubu ilaçların olası bir komplikasyonu olarak kabul edilmektedir. BP'lerin özellikle neden çenelerde osteonekroza sebep olduğu bilinmemekle birlikte diğer kemiklere göre travmaya daha fazla maruz kalmasından ve mikroorganizmaların bu bölgeye rahatlıkla erişebilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. BP'ler, alveol kemiği gibi yüksek yenilenme hızına sahip olan kemiklerde ve komşu yumuşak dokuda yüksek oranda birikirler. Buna bağlı olarak mukoza bütünlüğünün bozulması halinde yara iyileşmesinin gerçekleşmediği ve açıkta kalan çene kemiklerinde sekonder enfeksiyonların oluştuğu, ilerleyen dönemde de osteonekroza dönüştüğü düşünülmektedir. Bu klinik tablonun tedavisinde osteonekrozun evresine bağlı olarak bugüne kadar antimikrobiyal tedavi gibi konzervatif tedavilerden, rezeksiyon gibi invaziv cerrahi işlemlere kadar birçok yöntem denenmiştir.

Anjiogenezin inhibe olması da ÇBON patofizyolojisinde önemli role sahip etkenlerden biridir. Yapılan in vitro çalışmalarda, zoledronik asidin (ZA) anjiogenezini azalttığını gösteren sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca ZA kullanan kanser hastalarının kan serumlarındaki Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) seviyelerine bakıldığı bir çalışmada, serum VEGF seviyelerinin ZA kullanan hastalarda düşüş gösterdiği bildirilmiştir.

PEN iskemik kalp hastalıkları gibi vasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Eritrositlerin esnekliğini ve vazodilatasyonu artırarak, periferik kan akışını artırmaktadır. Ayrıca Tümör Nekrozitan Faktör- $\alpha$ 'yı (TNF- $\alpha$ ) inhibe edici etkisi bulunmaktadır ve böylece enflamatuvar reaksiyonları azaltarak, fibrozisi azaltabilme yetisine sahiptir. Radyasyon kaynaklı yumuşak doku nekrozunda ağrıyı azaltıcı ve iyileşmeyi hızlandırıcı bir etkisi bulunmaktadır.

PEN'in vasküler sisteme ve enflamatuvar sürece olan etkilerinden dolayı ÇBON'un tedavisinde ve profilaksisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı ZA ile oluşturulan deneysel ÇBON modelinde PEN'in profilaktik etkisinin varlığının incelenmesidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Bifosfonatlar

#### 2.1.1 Bifosfonatların Tarihçesi ve Gelişimi

İlk olarak 1865 yılında Almanya'da Menshutkin tarafından sentezlenen bifosfonatlar (BP) (1), kemik mineralizasyonunun fizyolojik bir inhibitörü olan pirofosfatların (PPi) stabil ve sentetik karbon analoglarıdır (2). BP'ler ilk kez tekstil, yağ, gübreleme gibi endüstriyel alanlarda kullanılmıştır. Kalsiyum karbonat çökmesini önleme özellikleri sayesinde ilk olarak kalsiyum tuzlarının petrol boru hatlarını kaplamasını engellemek için kullanılmışlardır. Daha sonra tekstil, gübreleme, yağ endüstrisinde ve diğer pek çok endüstride korozyon önleyici ve bileşik oluşturucu ajan olarak yer almışlardır (3, 4). İnsanlarda tedavi amacıyla kullanılan ilk BP olan etidronat 1897 yılında sentezlenmiştir (5-7).

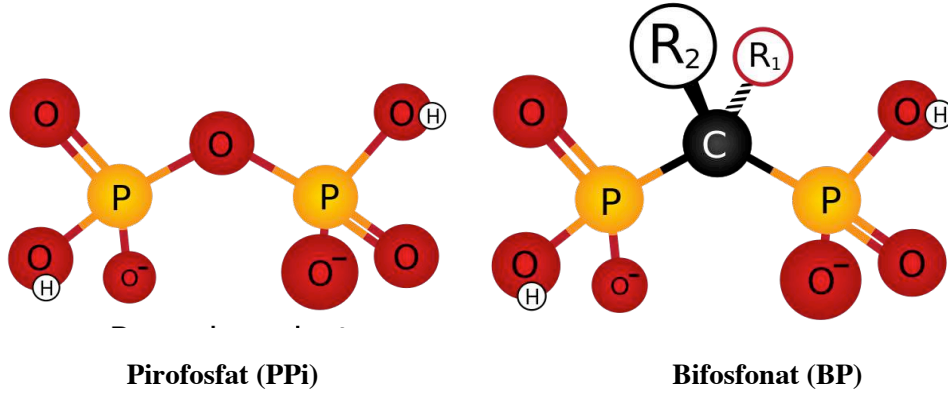
İlk olarak 1968'de kalsifikasyonu ve böbrek taşı oluşumunu engelleyici potansiyelini araştırmayı amaçlayan in vitro deneylerde BP'ların aynı PPİ'ler gibi hidroksiapatit (HA) kristallerine bağlandığı ve böylece kristal oluşumunu engellediğini; ayrıca kalsiyum fosfatın çözünmesini engelleyerek antirezorptif etki gösterdiğini rapor eden çalışmalar bulunmaktadır (8-10).

BP'lerin HA kristallerinin çözünmesini engelleme özelliğinin ortaya konulması, kemik rezorpsiyonunu da önleyebileceğini düşündürmüştür. Deneysel çalışmada BP'lerin osteoklastlar tarafından sağlanan kemik rezorpsiyonunu önlediği gösterilmiştir. BP'ler, kemik rezorpsiyonunu engelleyici etkilerinin 1960'lı yıllarda ortaya konulmasıyla birlikte klinik kullanımı yaygınlaşmıştır (8).

BP türevi ilaçlar, son 40 yıldır osteoklastik aktivite üzerindeki inhibitör etkilerinin ve antianjiogenik özelliklerinin tanımlanmasıyla, maligniteye bağlı hiperkalsemi, göğüs, prostat, akciğer kanserleri gibi solid tümörlerin kemik metastazlarında ve multiple miyeloma gibi kanser ilişkili hastalıklarda; ayrıca osteoporoz, osteopeni, Paget hastalığı, osteogenezis imperfecta gibi sistemik rahatsızlıklarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (8,9,10).

### 2.1.2 Bifosfonatların Kimyasal Özellikleri

BP'ler, PPI'lerin HA kristallerine (Kalsiyum Fosfat) yüksek affiniteye sahip stabil karbon analoglarıdır. PPI molekülleri ile aynı moleküler yapıya sahiptirler. PPI'lerin (P-O-P) kimyasal yapısı oksijen atomuna bağlı iki fosfat grubundan meydana gelmekte iken, BP'lerde (P-C-P) oksijen atomunun yerine karbon atomu geçer (Şekil 2.1). Molekülün merkez atomundaki bu değişiklik BP'ler ile PPI'ler aynı moleküler yapıya sahip olmalarına rağmen, BP'lerin asidik şartlar altında enzimatik ve kimyasal hidrolize karşı daha dirençli hale gelmelerini sağlamaktadır. Ayrıca BP moleküllerinde karbon atomuna bağlanan 2 adet R1 ve R2 olmak üzere yan zincir bulunmaktadır. R1 pozisyonunda BP'lerin kemiğe olan bağlanma yeteneklerini arttıran hidroksil (-OH) veya amino (NH<sub>2</sub>) grubu bulunmaktadır. R2 pozisyonuna gelen zincir ise BP grubu ilaçların, kemik rezorpsiyonunu inhibe etme ve/veya antianjiogenetik yeteneklerini oluşturan fizikokimyasal ve biyolojik özelliklerini belirlemektedir. R2 pozisyonunda azot atomu bulunması ve bu atomun R2 zincirindeki yeri molekülün tüm etkinliğini değiştirmektedir (2,11,12,13).



Şekil 2.1 Pirofosfat ve Bifosfonat Moleküllerinin Kimyasal Yapıları



### 2.1.3 Bifosfonatların Sınıflandırılması

BP'ler, jenerasyonlarına göre başlıca üç gruba ayrılmaktadır. Birinci jenerasyonu, alkil türevleri olan etidronat, klodronat ve tiludronatın temsil ettiği grup oluşturur ve zayıf bir antirezorptif aktiviteye sahiptir. İkinci jenerasyonu ise alendronat, ibandronat ve pamidronat gibi azot atomuna sahip aminobifosfonatların temsil ettiği grup oluşturur. Üçüncü jenerasyon ise, zoledronat ve risedronat gibi en güçlü BP'lerdir. İlaç jenerasyonları arasında BP'lerin antirezorptif özellikleri katlanarak artmaktadır (14). BP'ler kimyasal yapılarına göre de azot içeren (pamidronat, alendronat, risedronat, ibandronat ve zoledronat) ve azot içermeyen (klodronat, etidronat ve tiludronat) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. R2 yan zincir grubuna azot atomunun girmesi molekülün etkinliğini arttırmaktadır. Klinik olarak azot içeren BP'lerin ilaçların yan etkileri ile (örneğin osteonekroz) bağlantılı olduğu bildirilmektedir (15, 16) (Tablo 2.1).

**Tablo 2.1** Bifosfonat grubu ilaçların R2 yan zincirleri, yapıları, etkinlikleri (edilmiştir.)

| Bifosfonat<br>(Marka Adı) | R2 Yan Zinciri        | Molekülün Kimyasal Yapısı | Relatif Potensi |
|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------|
| Etidronat<br>(Didronel)   | Kısa Alkil            |                           | 1               |
| Tiludronat<br>(Skelid)    | Siklik Klorin         |                           | 50              |
| Alendronat<br>(Fosamax)   | Aminoterminal         |                           | 1000            |
| Risedronat<br>(Actonel)   | Siklik Azot           |                           | 1000            |
| İbandronat<br>(Boniva)    | Uzun Zincirli<br>Azot |                           | 1000            |
| Pamidronat<br>(Aredia)    | Aminoterminal         |                           | 1000-5000       |
| Zoledronat<br>(Zometa)    | Siklik Azot           |                           | 10000+          |

#### 2.1.4 Bifosfonatların Farmakolojik ve Farmakokinetik Özellikleri

BP'ler alım yollarına göre oral (etidronat, tiludronat, alendronate, risedronat, ibandronat) ve intravenöz (IV) BP'ler (pamidronat, zoledronat) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. BP'ler oral yolla alındıklarında, biyoyararlanımı çok düşük olan ilaçlardır. Sistemik biyoyararlanımları %1'in altındaki değerlerden %10'a kadar değişmektedir. Bu durum, etidronat gibi kemikte rezorbsiyonu inhibe eden dozu, mineralizasyonu inhibe eden dozuna yakın olan ilaçlarda sorun yaratabilir. Besinle birlikte alınma, özellikle kalsiyum ve demir varlığında, biyoyaralanımlarını kompleks teşkil etme nedeniyle daha da düşürmektedir. Portakal suyu, kahve ve maden suyu gibi sıvılar da bu ilaçların intestinal absorpsiyonunu düşürmektedirler. Yemek sırasında ve özellikle süt ve süt ürünleri veya kalsiyum ve demirli ilaçlarla alınmamalıdır. Günlük doz sabah aç karna bir kezde verilir. Yaklaşık %30-65 oranında plazma proteinlerine bağlanırlar veya plazmada çok ufak kümeler halinde bulunurlar; kalan kısmı serbest durumdadır. Sistemik metabolizması yoktur. Plazmadaki yarı ömrü kısadır. İlacın verilisi yolundan bağımsız olarak, BP'lerin emilen dozunun %50'si, çoğu özellikle aktif remodeling gözlenen yerlerde olmak üzere kemik yüzeyine bağlanır. İskeletsel bağlanma bölgeleri hemen hemen hiç doygunluk göstermez. Kemiğe bağlanmayan %50 kadarı ise böbreklerden hızlıca atılır. Böbrek rahatsızlığı bulunan ve peritoneal dializi zayıf olan hastalarda böbrekten atılım yavaşlamaktadır. Bu durum böbrek rahatsızlığı olan bireylerde BP grubu ilaçlar verilirken dikkate alınmalıdır (17).

Absorbe edilen ilacın bir kısmı kemiğe geçerek tutulur; bu kemiğe alım (uptake) oranı klodronat için yaklaşık %20, etidronat için %50 ve alendronat ve pamidronat için daha fazladır; ilacın kalan kısmı böbreklerden hızlı bir şekilde atılmaktadır. IV yoldan hızlı veya yüksek miktarda verilirlerse kemik dışı dokulara da (karaciğer ve dalak gibi) çökebilmektedir. Kemiğe çok hızlı geçerler, başka bir deyişle kan içinde kemikten ilk geçişlerinde kandaki miktarın nerdeyse tümü kemikte tutulmaktadır. IV olarak verilen alendronatın %95'ten fazlasının kemiğe geçmek suretiyle 60 dakikada plazmadan kaybolduğu görülmüştür. Bu olay sonucu ilacın kan düzeyindeki düşmenin yarılanma ömrü ilaca göre 0.5-2 saat arasında değişmektedir. Sürekli kullanımda, iskelet içindeki bağlanma yerlerinin doyurulmasının, onlarca yıllık verilişten sonra bile meydana gelmeyeceği belirlenmiştir. Buna karşılık antirezorptif etkinliklerinin maksimuma erişmesi; türe, doza ve ilaca göre değişmek üzere birkaç günle birkaç ay arasında

değişmektedir. İlacın maksimum etki meydana geldiği sırada kemiğe geçişinin hala devam ediyor ve devam edecek olması, kemiğe geçen miktarın büyük kısmının dokuya gömülüp inaktif duruma geçtiğini göstermektedir. Bifosfonatların kandaki yarılanma ömürlerinin aksine, kemikte tutulan miktarlarının ilaç verilmesi sona erdikten sonra yarılanma ömrü yıllarla ölçülür ve alendronat için 10 yıldan fazla olduğu düşünülmektedir. Bu duruma göre kemikteki miktarın az veya çok bir kısmı hastanın tedaviden sonra kalan ömrüne göre kemikte yaşam boyu kalır (18).

### **2.1.5 Bifosfonatların Etki Mekanizması**

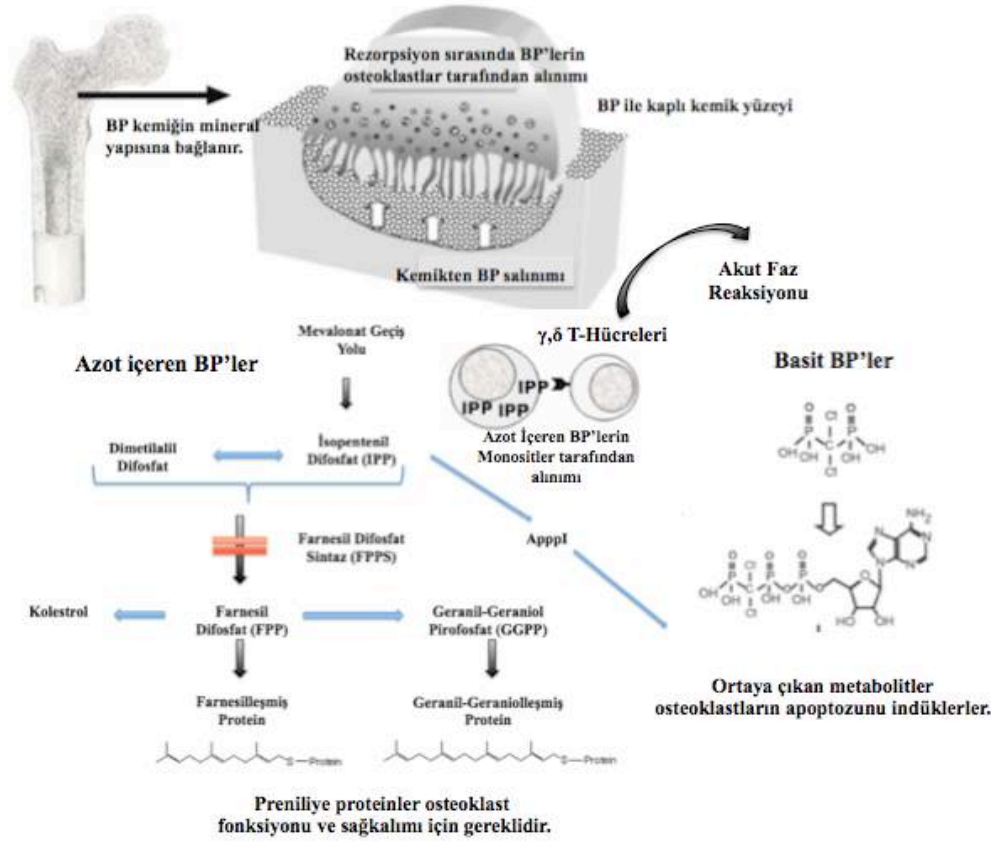
BP'lerin esas hedef hücreleri kemik yıkımından sorumlu, çok çekirdekli fagositik hücreler olan osteoklastlardır. BP'ler HA kristallerine olan yüksek afiniteleri sebebi ile kemik turnoverının yüksek olduğu, özellikle osteoklastik kemik rezorpsiyonunun olduğu bölgelere yönelirler (19, 20). BP molekülleri HA kristallerine bağlandıklarında, çok az bir miktarı kan dolaşımına geri verilmektedir (21). Kemik rezorpsiyonu sırasında, BP molekülleri HA kristallerinden ayrılırlar ve osteoklastlar tarafından absorbe edilirler (22). Bunu takiben BP'ler osteoklastik kemik rezorpsiyonunu dört yolla engellemektedirler. Bunlar osteoklastların kemik yüzeyinde bulunmalarının engellenmesi (23); osteoklastların adezyonunun engellenmesi (24); osteoklastların kemik yüzeyindeki aktivitelerinin engellenmesi (22, 25); ve osteoklastların apoptozunu indükleyerek yaşam sürelerinin kısaltılması (26, 27) olarak sıralanabilir. Ayrıca BP'ler anjiogenezis mekanizmasında (28, 29) ve osteoklastlar ile osteoblastlar arasındaki sinyal transdüksiyonunda (30) bazı değişikliklere sebep olmaktadır.

BP molekülünün kimyasal yapısının kolayca değiştirilebileceği ve bu sayede biyolojik, terapötik ve toksik karakterleri farklı olan çok sayıda BP oluşturulabileceği gösterilmiştir (31, 32).

Azot içeren ve içermeyen BP'lerin osteoklastlara karşı gösterdikleri etki mekanizmaları farklı olmaktadır. Azot içermeyen BP'ler, osteoklastların içerisine girerek hidrolize olmayan sitotoksik adenozintrifosfat (ATP) analoglarına metabolize olmakta ve osteoklastların apoptozunu indükleyerek kemik rezorpsiyonunu engellemektedirler (33, 34). Buna karşın, azot içeren BP'lerin ise hücre içine girerek biyosentetik mevalonat geçiş yolundaki farnesil difosfat sintaz (FPPS) enzim

aktivitesini inhibe ederek etkili oldukları gösterilmektedir (13,21,36). Mevalonat geçiş yolu kolesterol ve isopentenil difosfat (IPP), farnesil difosfat (FPP) ve geranil-geraniol pirofosfat (GGPP) gibi isoprenoid lipidlerin üretimi için gerekmektedir (37,38).

Azot içermeyen BP'lerin FPPS enzimini inhibe etmeleri ile FPP ve GGPP oluşumunda azalma olmaktadır (37,38). FPP ve GGPP; Ras, Rab, Rho ve Rac gibi guazintrifosfata bağlı (GTP) proteinlerin posttranlasyonel prenilasyonu (yağ asit zincirlerinin transferi) için gerekmektedir (37,38,39). Bu proteinler hücre iskeleti organizasyonunda görev yapan sinyal proteinleridir ve hücre içi vezikül transportunda görevli bir protein olup osteoklastik kemik yıkımını uyarmaktadırlar (35,40,41,42). Bu proteinlerin aktivitelerinin engellenmesi ile osteoklastik kemik yıkımı durmakta, bununla birlikte FPPS aktivitesinin bozulması ile azot içermeyen BP'lere benzer şekilde ATP analogları oluşmakta ve osteoklast apoptozuna neden olmaktadır (33,43). BP'ler kemiğin mineral yapısına tutunduktan sonra, kemik rezorpsiyonunda görevli olan osteoklastlar tarafında endosite edilirler. Klodronat ve etidronat gibi basit BP'ler osteoklastlarda metabolize olarak, osteoklastların apoptozunu indükleyen ATP analoglarının oluşumuna sebep olurlar. Azot içeren BP'ler ise FPPS aktivitesini inhibe ederek prenilasyon reaksiyonlarını engellerler. Böylece osteoklastların fonksiyonu ve sağkalımı için gerekli olan GTPas proteinleri oluşamaz. Ayrıca FPPS aktivitesinin inhibisyonu IPP birikimine sebep olarak, osteoklast apoptozunu indükleyen Appp1 (ATP analogu) oluşumuna sebep olur. BP'lerin IV yoldan vücuda girmesinden hemen sonra BP'ler geçici olarak monositler tarafından alınır ve IPP birikimi artar. Bu durum da  $\gamma$  ve  $\delta$  – T- Hücrelerini tetikleyerek akut faz reaksiyonuna sebep olur (44) (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2** Bifosfonatların osteoklastlar üzerine etkisinin şematik görüntüsü.

BP'lerin başka bir etkisi ise anjiogenezi inhibe etmesidir. Pamidronat veya zoledronat tedavisinin vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) seviyelerini azalttığı bildirilmiştir (45,46). Santini ve arkadaşları tek doz pamidronat verilen ileri derecede kanser ve kemik metastazları olan hastaların dolaşımında VEGF seviyelerinde ciddi bir düşüş olduğunu bildirmişlerdir (45). Kapitola ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada ise pamidronatın sıçan femur ve tibiasında kemikteki kan dolaşımının azalttığı bildirilmiştir (47).

Ayrıca BP'ler kapiller neoanjiogenezi de inhibe etmektedirler. Fournier ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışmada, BP'lerin kapiller tüp oluşumunda azalmaya sebep olduğunu bildirmişlerdir (28).

Osteoklastlar kemik anjiogenezi için önem teşkil eden hücrelerdir (48). BP'lerin osteoklastların aktivitelerini inhibe etme özelliğinin, dolaylı olarak kemiklerdeki

damarlanmayı azaltabileceği düşünülmektedir. Shoutens ve arkadaşları osteoklastların sayısındaki artışla kemikteki kan dolaşımının arttığını; kemik rezorpsiyonunun baskılandığı durumda ise kemikteki kan dolaşımının azaldığını gözlemlemişlerdir (49).

### **2.1.6 Bifosfonatların Endikasyonları**

IV BP'ler maliniteye bağlı hiperkalseminin; meme, prostat ve akciğer kanseri gibi solid tümörlere bağlı osteolitik kemik metastazlarının; multipl miyeloma bağlı osteolitik lezyonların, fibröz displazinin tedavisinde kullanılmaktadır (16, 50-61). Kemik metastazları; ciddi kemik ağrıları, patolojik kırıklar, omurgada sıkışma ve maliniteye bağlı hiperkalsemi gibi birçok iskelet sistemi probleminin sebebidir. Bu iskeletsel komplikasyonlar, başta kemik rezorpsiyonu olmak üzere kemik metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. BP'ler kemik rezorpsiyonunu inhibe ederek, kemik metastazlarını ve buna bağlı iskeletsel komplikasyonları engellemektedir. Ayrıca BP'lerin kanser hücreleri üzerinde proliferasyonu engelleyici ve apoptozlarını indükleyici etkileri ile kemik metastazlarının görülme sıklığını azalttığı bildirilmiştir (62,63,64).

Oral BP'ler ise en çok osteoporozun tedavisinde kullanılmakla birlikte; osteopeninin tedavisinde de kullanılmaktadır (16). Osteoporoz hastalarında patolojik kırıkların önlenmesinde birinci basamak tedavi olarak kabul görmüştür (65,66,67,68). BP'lerin antirezorptif etkisi osteoporoz hastalarında patolojik kırık riskini % 40 ile 70 oranları arasında azaltmaktadır (65,69,70).

BP'lerin ayrıca Paget hastalığı gibi metabolik kemik hastalıklarında ve osteogenesis imperfecta gibi konjenital hastalıklarda faydalı olduğu kanıtlanmıştır (71).

### **2.1.7 Bifosfonatların Yan Etkileri**

BP'ler genellikle iyi tolere edilebilen ilaçlardır; fakat yüksek doz kullanım, tedavi süresinin uzun olabilmesi ve ilacın vücuttan tamamen atılamaması gibi sebepler; kemiklerde ağrının, hipokalseminin ve osteomalazinin yanı sıra gastrik ülser oluşumu, nefrotoksisite ve çenelerin bifosfonata bağlı osteonekrozu (ÇBON) gibi ciddi komplikasyonlara sebep olabilmektedir (72,73,74).

BP'lerin oral kullanımı; erozyon, ülser ve perforasyon gibi birçok gastrointestinal yan etkiye sebep olmaktadır. Bu yan etkilerin olma sıklığı ilacın kullanım dozuna, sıklığına ve verilmiş şekline bağlıdır. BP'lerin özellikle IV kullanımında, hastaların kemik

ağrılarından yakındığı ve kemiklerdeki bu ağrının influenza benzeri semptomlara sebep olan akut faz reaksiyonuna sekonder olarak interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozitan faktör-  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) gibi enflammatuvar sitokinlerin salınımına bağlı olarak gerçekleştiği bildirilmiştir (72). Ayrıca IV olarak pamidronat ve zoledronatı yüksek doz kullanan hastaların bir kısmında akut tübüler nekroz bildirilmiştir (75, 76). BP'lerin atılımı renal yol ile olduğundan dolayı, IV olarak kullanılan BP'ler olması gerekenden daha hızlı olarak hastaya verildiğinde, hastaların böbreklerinde hasara yol açmaktadır. İlacın kullanımı durdurulduğunda böbrek fonksiyonları normale dönmesine rağmen, literatürde geri dönüşü olmayan böbrek hasarı da bildirilmiştir (77). Son yıllarda yapılmış epidemiyolojik çalışmalarda BP kullanımı ile atriyal fibrilasyon arasında da bir ilişki olabileceği belirtilmiştir (78, 79, 80). Bu durumun olası sebepleri olarak ise BP kullanımına bağlı hipokalsemi gibi elektrolit dengesizliklerinin oluşması veya BP kullanımının başlattığı enflamasyonun, atriyal remodeling ve fibrozisi etkilemesi gösterilmiştir (81, 82, 83). Bunlara ek olarak, nadir olmakla birlikte BP kullanımının orbital enflamasyon, üveit, sklerit ve özellikle oral kullanımda kronik konjonktivit gibi oküler komplikasyonlara da yol açtığı bildirilmiştir (84, 85).

BP grubu ilaçlar hastaların hayat kalitelerini arttırmaktadırlar (86,87,88); fakat bununla beraber birçok yan etkiye de sahiptirler. Bahsedilen yan etkilere ek olarak BP kullanımı çenelerde osteonekroza sebep olabilmektedir.

## **2.2 Çenelerin Bifosfonata Bağlı Osteonekrozu**

Forfor içerikli kimyasallar sebebi ile osteonekroz oluşabileceğinden ilk olarak 19. yüzyılda bahsedilmektedir (89). Fabrikalarda beyaz fosfor ile çalışan ve bu kimyasalın buharına maruz kalan işçilerde görülmüştür. O zamanlarda çenelerin fosforlu nekrozu veya fosforlu çene olarak adlandırılmıştır (90). Bu işçilerde ağrı ve enfeksiyon ile birlikte çenelerde kemiğin ekspozе olduğu gözlenmiştir. Fabrikalarda beyaz fosforun kullanımının terk edilmesi ve çalışma koşullarının iyileştirilmesi ile birlikte bu durum azalmıştır.

Ancak 1999'da yayınlanan bir çalışmada BP türevi ilaçların kullanılması ile literatürde bu ilaçların yan etkisi olarak oral mukoza ülserlerinden bahsedilmektedir (91). İlk başlarda oluşan bu oral mukoza ülserlerinin, alendronatın başka bir yan etkisi olan ve direk travmadan kaynaklanan özefagal ülser ile benzer oldukları düşünülmüştür

(92). 2001 yılından itibaren BP türevi ilaçların kullanımının artması ile ‘Çenelerin Bifosfonata Bağlı Osteonekrozu (ÇBON) – Biphosphonate Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ) vakası artmış; fakat hiçbiri literatürde bu isimle yer almamıştır. ÇBON ilk olarak 2003 yılında Marx ve arkadaşları tarafından yayınlanmış ve literatürde yerini almıştır (15,93,94). AAOMS’un 2007 ve 2009 yıllarında ÇBON için yayınladığı görüş bildirgelerinde, ÇBON ‘daha önce baş boyun bölgesinden radyoterapi almamış, BP kullanmış ya da kullanmakta olan hastaların çenelerinde 8 haftadan daha uzun süredir ekspoze kemik varlığı ve spontan olarak iyileşememe durumu ile karakterize klinik tablo’ olarak tanımlanmıştır (95,96).

İlerleyen yıllarda BP’lerin çenelerde sebep olduğu bu duruma denosumab gibi antirezorptif (97,98,99,100) ve bevacizumab veya sunitinib gibi antianjiogenetik (101,102,103) ilaçların da sebep olduğu bildirilmiş ve AAOMS’un 2014 yılında yayınlamış olduğu son görüş bildirgelerinde tüm bu ilaçların sebep olduğu osteonekroz durumu ‘Çenelerin İlaça Bağlı Osteonekrozu (ÇİBON) - Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ)’ adı altında toplanmıştır (16).

### **2.2.1 ÇBON’un Epidemiyolojisi**

ÇBON’un sıklığı oral yoldan BP kullanan hastalarda milyonda 7 iken, IV yoldan BP kullananlarda bu oran %1-12’ye yükselmektedir (104).

2008 yılında yapılmış olan kapsamlı bir çalışmada ÇBON teşhisi konan hastaların %43’ünün zoledronat, %27’sinin pamidronat, %23’ünün zoledronat ve pamidronate, %4’ünün alendronat, %2’sinin ise ibandronat (IV yoldan) kullanıldığı bildirilmiştir. Bu hastaların %48’i multiple myelom, %36’sı göğüs kanseri, %7’si prostat kanseri, %3’ü diğer metastatik kanser, %5’i ise osteoporoz hastalarıdır. Vakaların %67’si mandibulda, %26’sı maksillada; %8’i ise her iki çenede birden görülmüştür. Maksillanın vaskülarizasyonunun mandibuladan daha fazla olmasının; mandibulda maksilladan daha fazla osteonekroz görülmesinin sebebi olabileceği bildirilmiştir (105).

ÇBON, hastaların %68’inde ekspoze olmuş kemik, %23’ünde dişlerde mobilite, %17’sinde ise fistül oluşumu şeklinde görülmektedir. Ekspoze olan kemik en çok mukozanın daha ince olduğu torus bölgesinde, kemik egzostozlarında ve mylohyoid çıkıntıda görülmektedir. Çene kemiklerinde osteonekroz gelişen hastaların anamnezleri



incelendiğinde; %36'sinde diş çekimi, %26'inde mevcut periodontal rahatsızlık, %10'inde periodontal cerrahi, %3'ünde implant cerrahisi, %1'inde ise apikal rezeksiyon öyküsü mevcuttur. Geri kalan %24'inin de spontan oluştuğu belirtilmiştir (96, 106).

### **2.2.2 ÇBON'un Patofizyolojisi ve Risk Faktörleri**

Literatürdeki ilk ÇBON vakasından bu yana geçen süreye rağmen bu hastalığın patofizyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır (15,107). Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda ÇBON'un patofizyolojisinde kemik remodelinginde değişiklik veya kemik rezorpsiyonunun aşırı baskılanması, anjiogenezin inhibe edilmesi, sürekli mikrotravma varlığı sonucu kemikte mikro kırık oluşumu ve periodonsiyum aracılığıyla bakteri invazyonunun kombinasyonu ile oluşan sinerjinin etkisi, doğuştan gelen veya edinilmiş bağışıklığın baskılanması, D vitamini yetersizliği, BP'lerin yumuşak dokularda sebep olduğu toksisite ve enflamasyon veya enfeksiyon varlığı gibi teorilerden bahsedilmektedir (16,108-119).

BP'ler ve diğer antirezorptif ilaçlar osteoklastların fonksiyonlarında değişikliklere ve osteoklast apoptozunun indüklenmesine sebep olarak kemik rezorpsiyonunu azaltmaktadırlar. Osteoklastlar tüm kemiklerin iyileşmesinde ve remodelinginde önemli bir role sahiptirler; fakat bu hücrelerin fonksiyonundaki değişikliklerinden kaynaklanan bir patoloji olan osteonekroz tablosu sadece çene kemiklerini etkilemektedir (44,120,121). Çenelerin diğer kemiklere oranla remodeling oranının daha fazla olması ve mikrobiyal travmaya daha açık olmaları osteonekroz riskinin daha fazla olmasını açıklayabilir (16).

ÇBON'a sebep olabilecek sistemik ve lokal risk faktörlerine bakıldığında, dental problemler ve bakteriyel enfeksiyonun da bu durumun başlıca nedenlerinden biri olabileceğini gösteren klinik çalışmaları bulunmaktadır (122,123,124). Bu çalışmalara ek olarak, sistemik antirezorptif kullanan hastalarda hem enflamasyonun hem de bakteriyel enfeksiyonun çenelerde osteonekroza sebep olabileceğini gösteren hayvan modelleri bulunmaktadır (125-130). Ayrıca ÇBON'u olan hastalardan alınan nekrotik kemik örneklerinde *Actinomyces* spp. bakterileri tespit edilmiştir (131).

Anjiogenezin inhibe olması da ÇBON patofizyolojisinde önemli role sahip etkenlerden biridir. Yapılan in vitro çalışmalarda zoledronatın anjiogenezini azalttığını

gösteren sonuçlar elde edilmiştir (119, 131). Ayrıca zoledronat kullanan kanser hastalarının kan serumlarındaki VEGF seviyelerine bakıldığı bir çalışmada, serum VEGF seviyelerinin zoledronat kullanan hastalarda düşüş gösterdiği bildirilmiştir (133).

BP türevi ilaçların kullanım yolu ve süresi ÇBON açısından en önemli risk faktörüdür. IV olarak 3 yılı aşkın sürekli kullanan hastalarda, ÇBON görülme olasılığı yüksektir. Kanser hikâyesi, sigara tüketimi, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, diyabet, kortikosteroid tedavisi, immün sistemin baskılanması, olası vasküler yetersizlikler ve hastanın yaşı gibi etkenler de bu komplikasyonun ortaya çıkmasında hazırlayıcı faktörlerdir (134-137). Kötü ağız hijyeni, dental enfeksiyonlar, periodontitis varlığı ve alveolar kemiğe yapılan her türlü cerrahi girişim de (diş çekimi, implant uygulaması, periodontal cerrahi, apikal rezeksiyon operasyonu vs.) ÇBON oluşmasına zemin hazırlayan faktörlerdendir. Ayrıca maksillada palatinal torusların, mandibulada da lingual torusların veya belirgin mylohyoid çıkıntı varlığı gibi lokal anatomik özellikler de ÇBON için risk teşkil edebilecek durumlar arasındadır.

ÇBON oluşumundaki risk faktörlerinden en önemlilerinden biri de BP'nin tipi ve verilen total dozdur. Özellikle IV BP ile tedavi edilen kanser hastalarında osteonekroz oluşma riski, oral BP kullanımına oranla çok daha yüksektir. Bununla birlikte oral BP kullanan hastalarda da osteonekroz olguları bildirilmiştir. Olgularla ilgili tipik semptomlar; ağrı, yumuşak dokuda ödem, enfeksiyon, dişlerde mobilite, halitozis, pürülan akıntı ve ekspozite nekrotik kemiktir. Semptomlar spontan olarak gelişebildiği gibi sıklıkla diş çekimi sonrasında da görülebilir. Bazen semptomlar dental veya periodontal hastalıkları da taklit edebilmektedir (16, 138).

Olguların yaklaşık %73'i mandibulada, %22,5'u maksillada, %4,5'i ise her iki çenede birden saptanmıştır (16). Olguların sadece maksilla ve mandibulada görülmesi, diş çekimi, periodontal lezyonlar, protez irritasyonu gibi nedenlerle bakterilerin kemiği kontamine etmesiyle ilişkilendirilmiştir. Uzun süre BP kullanımına bağlı olarak maksilla ve mandibuladaki kan dolaşımının bozulduğu ve diş çekimi sonrasında iyileşmekte olan socketin mevcut oral mikroflora içinde iyileşme gösteremediği düşünülmektedir. Vücuttaki diğer kemiklerin yumuşak doku ile iyi bir şekilde kapandığı ve mikrofloraları tarafından iyi bir şekilde korunduğu da göz önünde bulundurulmalıdır ki (138) daha önce de bahsedildiği gibi BP'ler çene kemikleri gibi yüksek metabolizma

hızı gösteren kemiklerde selektif olarak depolanmaktadır (139).

### 2.2.3 ÇBON'un Bulguları

ÇBON'un en sık karşılaşılan klinik bulgusu olan nekroze alveol kemiği osteoradyonekroz veya osteomyelit vakalarında da görülebileceğinden hastanın medikal ve dental anamnezi önem taşımaktadır. AAOMS'un 2007 yılında yayınlamış ve 2009 ve 2014 yıllarında güncellenmiş olduğu görüş bildirgelerine göre ÇBON'u bu diğer durumlardan ayırt etmek için aşağıdaki özelliklerin mevcut olması gereklidir (16,95,96):

- i. Halen veya daha önce BP tedavisi uygulanması
- ii. Çeneler bölgesinde 8 haftadan daha uzun süredir nekroze veya açığa çıkmış kemik varlığı (Eğer açığa çıkmış kemik 8 haftadan daha kısa süredir mevcutsa takip edilip yumuşak dokuların kapanıp kapanmadığı izlenmelidir.)
- iii. Çene kemiklerine radyasyon tedavisi uygulanmamış olması

AAOMS'un 2014 yılında yayınlamış olduğu yeni görüş bildirgesinde birinci madde halen veya daha önce 'antirezorptif veya antianjiogenetik' tedavisi uygulanması olarak güncellenmiştir (16).

ÇBON'da, lezyonlar genellikle sarımsı beyaz renkli kemik alanları şeklinde olup ekstraoral veya intraoral fistüller ve lezyon etrafında ülserasyonlar şeklinde de görülebilmektedir. Hastalarda, tipik olarak orofasiyal ağrı, diş ağrısı, trismus, enfeksiyon, fistülizasyon, dişlerde mobilite, dudakta parestezi ve hissizliktir. Bu belirti ve semptomlar; periodontal dokularda yıkım ve iyileşmeyen mukozal ülserler şeklinde görülebilir ve osteonekroz oluşumu klinik olarak belirgin hale gelmeden ortaya çıkabilir (107, 140). ÇBON vakalarında anatomik komşuluğa bağlı olarak mandibulada hissizlik oluşabileceği, inferior alveolar sinir tutulumunda Vincent belirtisinin oluşabileceği bildirilmektedir (93, 141, 142). Maksillada ise ÇBON vakalarında oroantral fistül oluşan hastalardan bahsedilmektedir (143).

ÇBON'un erken döneminde, radyolojik olarak belirgin bir değişiklik gözlenmemektedir. İlerleyen evrelerde periodontal aralıkların genişlediği, geniş radyolüsent alanlarla birlikte kemik sökestrasyonu, osteosklerozis, kortikal kemikte

bozulma, lamina dura kalınlığında ve periostal kemik yapımında artış, mineral densitesi, lakünleri ve trabekül oluşumunda değişiklikler gibi durumlar gözlenmektedir (144,145).

Radyolojik değerlendirmede osteosklerotik, osteolitik lezyonların, patolojik fraktürlerin teşhisinde panoramik radyografiler yeterli iken; manyetik rezonans görüntüleme, bilgisayarlı tomografi ve kemik sintigrafisi ÇBON'un erken tanısının konması ve nekrotik alanın sınırlarının anlaşılabilmesi için en iyi yöntemlerdir (145, 146, 147). ÇBON'un teşhisinde en etkili görüntüleme tekniğinin araştırıldığı bir çalışmada bilgisayarlı tomografinin en başarılı yöntem olduğu ve manyetik rezonans görüntülerinin bu başarıyı takip ettiği; panoramik radyografilerin ise en düşük başarı oranına sahip olduğu bildirilmiştir (146). Panoramik radyografi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme ve kemik sintigrafisinin ÇBON'un teşhisinde karşılaştırıldıkları bir çalışmada, teknesyum-99m-metilen difosfonat ( $^{99m}\text{Tc}$ -MDP) ile alınan kemik sintigrafilerinin, osteonekrozun erken teşhisinde en iyi görüntüleme metodu olduğu bildirilmiştir (148).

#### **2.2.4 ÇBON'un Evreleri ve Tedavi Yaklaşımları**

Günümüzde en çok kullanılan ve klinik evre göz önünde bulundurularak tedavi prensiplerini ortaya koyan evreleme sistemi 2007 yılında AAOMS tarafından oluşturulup 2009 yılında revize edilmiştir (95). 2014 yılında ise tüm antirezorptif ve antianjiyogenetik ilaçlar ile birlikte değerlendirilerek son halini almıştır (16) (Tablo 2.2).

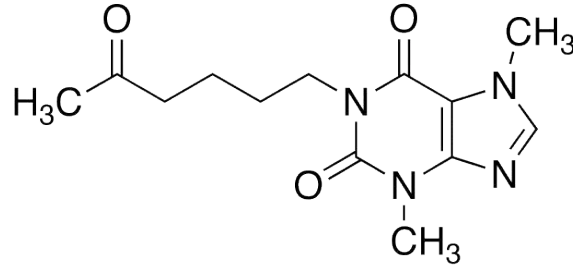
**Tablo 2.2** AAOMS'a göre ÇİBON evreleri ve tedavi yaklaşımları.

| ÇİBON evresi  | Tedavi yaklaşımı   |
|---|--|
| <i>Risk kategorisinde</i><br>Antirezorptif veya antianjiogenik ilaç kullanan hastalar   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Herhangi bir tedavi gerekli değildir.</li><li>• Hasta bilgilendirilmelidir .</li></ul>   |
| <i>Evre 0</i><br>Klinik olarak nekrotik kemik gözlenmemektedir. Spesifik olmayan semptomlar ve klinik bulgular mevcut   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Semptomatik tedavi</li><li>• Analjezik ve antibiyotik kullanımını da içeren sistemik tedavi</li></ul>  |
| <i>Evre 1</i><br>Asemptomatik hastada enfeksiyon bulgusu olmadan açığa çıkmış nekrotik kemik varlığı  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Oral antibakteriyel ağız gargarası</li><li>• Hastanın 3 aylık aralarla klinik takibi ve hasta eğitimi</li><li>• Bifosfonat tedavi endikasyonlarının hekimi tarafından tekrar değerlendirilmesi</li></ul> |
| <i>Evre 2</i><br>Açığa çıkmış nekrotik kemik varlığı<br>İlgili bölgede ağrı ve eritemle birlikte enfeksiyon varlığı<br>Pürülan direnaja olabilir.   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Oral antibakteriyel ağız gargarası</li><li>• Oral antibiyotiklerle semptomatik tedavi</li><li>• Ağrı kontrolü</li><li>• Yumuşak doku irritasyonunu ortadan kaldırmak için yüzeysel debridman</li></ul>   |
| <i>Evre 3</i><br>Ağrı ve enfeksiyonla birlikte açığa çıkmış nekrotik kemiğe aşağıdaki bulgulardan bir veya birkaçının eşlik etmesi:<br>Nekrotik kemiğin alveoler kemik sınırlarını aşarak patolojik kemik kırığına sebep olacak kadar büyük olması (örn. Maksillada maksiller sinüz ve zigomaya kadar uzanması)<br>Ekstraoral fistül varlığı<br>Oroantral/ronazal açıklık veya osteolizis varlığı | <ul style="list-style-type: none"><li>• Oral antibakteriyel ağız gargarası</li><li>• Ağrı kontrolü</li><li>• Antibiyotik tedavisi</li><li>• Cerrahi olarak nekrotik kemiğin debridmanı veya rezeksiyonu</li></ul>                                |

### 2.3 Pentoksifilin

Pentoksifilin (PEN), ksantin türevi fosfodiesteraz inhibitörü bir ilaçtır. Diğer adı oksipentifilindir (Şekil 2.3). PEN güçlü bir periferik vazodilatatördür (149). Periferik ve beyin damarlarına ait hastalıkların ve mikrosirkülasyon bozukluğu içeren hastalıkların tedavisinde kullanılan bir ajandır. Asıl terapötik etkinliği, hemoreolojik etkileriyle kan akımı ve dokuların oksijenasyonunu artırmasına bağlıdır (150). Bu hemoreolojik etkileri sonucu;

- i. Eritrositlerin esnekliğini (deformabilitesini) artırır.
- ii. Fibrinojen derişimini azaltır.
- iii. Trombosit agregasyonunu ve trombus oluşumunu azaltır.
- iv. Kan viskozitesini düşürür, kan akışkanlığını artırır.
- v. Lökositlerin endotele adezyonunu azaltır, lökosit aktivasyonu ve bunun neden olduğu endotel hasarını azaltır.



Şekil 2.3 Pentoksifilinin Kimyasal Yapısı

Böylece PEN, kanın akışkanlığını artırarak, antitrombotik etki göstererek ve mikrodolaşım perfüzyonunu artırarak kan dolaşımı ve dokuların oksijenlenmesini artırır.

Başlıca yan etkileri; bulantı, yüzde kızarma, baş ağrısı, baş dönmesi ve gastrointestinal bozukluklardır. Kan basıncı ve kalp hızına hafif etki eder. Ancak tedavi sırasında ortaya çıkan bu yan etkilerin şiddetinin çok hafif olduğu ve tedavinin ilerleyen günlerinde kendiliğinden azaldığı tespit edilmiştir (150).

PEN'in kullanım alanları içinde başlıcaları periferik vasküler hastalıklar ve serebrovasküler hastalıklardır. Ayrıca alt ekstremitte istirahat ağrısı, parestezi, kramplar ve ayak ülserleri tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (150). Serebrovasküler hastalıklarda klinik iyileşme %85 oranında saptanmıştır. Özellikle iskemik alanlara kan akımını artırarak etkisini göstermektedir. Nöromotor ve konuşma problemleri gibi semptomlarda iyileşme izlenmiştir. Geçici iskemik ataklar, serebral tromboz ve hemoraji sekellerinin tedavisi ve kronik iskemik hastalıklarda halen kullanılmaktadır. Çeşitli duyma bozukluklarında, göze ait vasküler dejeneratif süreçle seyreden dolaşım bozukluklarının tedavisinde kullanılmaktadır. PEN hematolojik malignitesi olan hastalarda, özellikle kemik iliği transplantasyonları sonrası ortaya çıkan toksik yan etkileri ve greft reddi reaksiyonlarının önlenmesinde halen koruyucu ajan olarak kullanılmaktadır (149).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda fosfodiesteraz inhibitörü olan PEN'in özellikle TNF- $\alpha$ 'yı azaltarak IL-1 ve IL-6 gibi kemotaktik mediatörlerin yapımını azalttığı, T ve B lenfositlerinin aktivasyonunu engellediğini ve nötrofil degranülasyonunu baskıladığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Bu yüzden de enflamatuvar reaksiyonları baskılamaktadır (149, 151, 152). Ayrıca intraselüler fosfodiesterazı inhibe ederek TGF- $\beta$  ailesinin üyesi olan BMP-2'yi arttırdığı ve böylelikle yeni kemik oluşumunu arttırdığı da bildirilmektedir (153). Başka bir çalışmada ise PEN'in siklik adenosin monofosfat (cAMP) sinyal yolu ile BMP-4 seviyesini arttırdığı ve böylece osteoprogenitor hücrelerin farklılaşmasını indükleyerek yeni kemik oluşumunu artırıyor olabileceği belirtilmiştir (154). Sıçanlar üzerinde oluşturulan bir kırık modelinde, kırık oluşturulduktan sonra sıçanlar farklı sürelerde PEN enjekte edilmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre ise PEN'in özellikle erken dönem kırık iyileşmesinde, iyileşmeyi hızlandırıcı bir ajan olabileceği sonucuna varılmıştır (155).

PEN'in, E vitamini ( $\alpha$ -Tokoferol) ile kombine olarak kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur (156-158). İlk olarak, Delanian ve ark. tarafından yayınlanan bir çalışmada PEN ve E vitamini kombinasyonunun osteoradyonekroz (ORN) tedavisinde kullanabileceği öne sürülmüştür (156).

Epstein ve ark. yayınlamış oldukları vaka serilerinde, PEN'in E vitamin ile kombinasyonunun antimikrobiyal tedaviye ek olarak verildiği ÇBON vakalarında, bu

medikal tedavinin ÇBON'un tedavi seçeneklerinden biri olabileceğinden bahsedilmiştir (159).

ÇBON'un patofizyolojisinde kemik remodelinginde meydana gelen değişiklikler, anjiogenezin inhibisyonu ve dokuların oluşturduğu enflamatuvar cevap gibi faktörler ile (16,108-119); PEN'in kemik iyileşmesine olan katkısı, kan dolaşımını artırarak dokuların beslenmesini artırması ve enflamasyona olan etkisi düşünüldüğünde, PEN'in ÇBON'un medikal tedavisinde etkili bir rol oynayabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada, hem BP'lerin dokularda kemik iyileşmesi, beslenme ve enflamatuvar sürece olan etkisinin incelenmesi; hem de oluşturulan bu model ile birlikte PEN'in sağlıklı dokulara etkisi ve BP verilerek osteonekroz oluşması beklenen dokulardaki proflaktik ve/veya tedavi edici özelliklerinin incelenmesi hedeflenmiştir.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 11.03.2014 tarihinde alınan 379 etik kurul karar numarası onayı ile Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde (YÜDETAM) 33 adet 12 haftalık, ortalama 225 gram ağırlığında Spraque- Dawley cinsi dişi sıçan üzerinde yürütüldü. Tüm sıçanlar, 21 C° sıcaklıkta %40 ile %60 nem oranında, sürekli ılık ve temiz hava olan, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklusda üçerli veya dörderli olarak metal kafeslerde barındırıldı. Sıçanların beslenmesi; sürekli ve sınırsız su olacak şekilde ve herhangi bir gıda kısıtlaması yapılmadan uygulandı. Sıçanlar rastgele seçilerek beş gruba ayrıldı (Resim 3.1).



**Resim 3.1** Çalışmada kullanılan sıçanlar.

- Grup 1 (n=6) Serum Fizyolojik + Diş Çekimi + Serum Fizyolojik (SF+SF)
- Grup 2 (n=6) Serum Fizyolojik + Diş Çekimi + Pentoksifilin (SF+PEN)
- Grup 3 (n=7) Zoledronik Asit + Diş Çekimi + Serum Fizyolojik (ZA+SF)
- Grup 4 (n=7) Zoledronik Asit + Diş Çekimi + Pentoksifilin (ZA+PEN)
- Grup 5 (n=7) Zoledronik Asit + Pentoksifilin+ Diş Çekimi + Pentoksifilin (ZA+PEN+PEN)

Grup 1 ve 2'deki sıçanlara çalışmanın ilk gününden başlayacak şekilde 8 hafta boyunca haftada 3 kez intraperitoneal (IP) serum fizyolojik (SF) (0,1 mg/ml) verilirken, Grup 3, 4 ve 5'teki sıçanlara yine çalışmanın ilk gününden itibaren 8 hafta boyunca haftada 3 kez SF ile karıştırılarak ZA (0.1 mg/kg) (Zolenat® 4mg/5 ml, Mustafa Nevzat, Türkiye) IP olarak uygulandı (Resim 3.2). Grup 5'teki sıçanlara diş çekimi öncesinde sekizinci haftada ilave olarak bir hafta boyunca hergün IP PEN (Trentillin® 100 mg/5 ml IV, Santa Farma, İstanbul, Türkiye (50 mg/kg) enjeksiyonu yapıldı (Resim 3.3). Tüm enjeksiyonlar orta hat (Linea Alba), bacağına vücuda bağlandığı bölge ile femur başından çekilen çizgi arasında kalan bölgeye yapıldı (Resim 3.4). Enjeksiyonlar peritonit riskini en aza indirmek amacı ile, birbirini takiben bahsedilen enjeksiyon alanında sıçanların farklı bölgelerinden yapıldı.



Resim 3.2 Zoledronik Asit



Reim 3.3 Pentoksifilin



**Resim 3.4** Sıçanlara enjeksiyonun IP olarak yapılması

Son enjeksiyonu takip eden haftada veteriner hekim denetiminde, sıçanlara 80-100 mg/kg Ketamin hidroklorid (Ketasol®, Richterpharma, Avusturya) ve hem analjezik hem de anestezik olarak %2'lik 10 mg/kg Ksilazin hidroklorid (Rompun®, Bayer) intramüsküler (IM) olarak enjekte edilerek diş çekimi öncesi genel anestezi sağlandı (Resim 3.5). Genel anestezi sırasında oftalmik komplikasyonların engellenmesi amacı ile sıçanların gözlerine basitrasin ve neomisin sülfat pomadı (Thiocillin® 5 g, Abdi İbrahim, Türkiye) sürüldü (Resim 3.6).



**Resim 3.5** Ketamin Hidroklorid ve Ksilazin Hidroklorid



**Resim 3.6** Sıçanların gözlerine oftalmik komplikasyonların önlenmesi amacı ile pomad sürüldü.

Genel anestezi altında, asepsi ve antisepsi şartlarına uyularak cerrahi işleme hazır hale getirilen sıçanların sol alt 2. moları steril cerrahi aletler ve lastik bantlar yardımı ile dil ve yanakları ekarte edilerek sond ve hemostat ile lükse edilerek çekildi. Diş çekiminden sonra çekim bölgesi steril gaz tamponla tampone edilip ilave herhangi bir işlem yapılmadan iyileşmeye bırakıldı (Resim 3.7, 3.8, 3.9, 3.10, 3.11, 3.12).



**Resim 3.7** Çenelerin lastik bantlar yardımı ile açılarak görüş alanının sağlanması.



**Resim 3.8** Diş çekimi öncesinde ağız içi görüntü.



**Resim 3.9** Sol alt ikinci moların sond ile lükse edilmesi.



**Resim 3.10** Sol alt ikinci moların klemp ile lükse edilmesi



**Resim 3.11** Sol alt ikinci molar.



**Resim 3.12** Diş çekim socketinin görüntüsü.

Diş çekimi sonrasında sıçanların beslenmesine yardımcı olabilmek amacı ile operasyonu takip eden ilk iki gün sıçanlara 5 ml subkutan % 5 dekstroz enjeksiyonu yapıldı ve kafeslere toz yem konuldu (Resim 3.13). Operasyon sırasında Grup 1'deki sıçanlardan biri kanama sebebi ile kaybedildi.



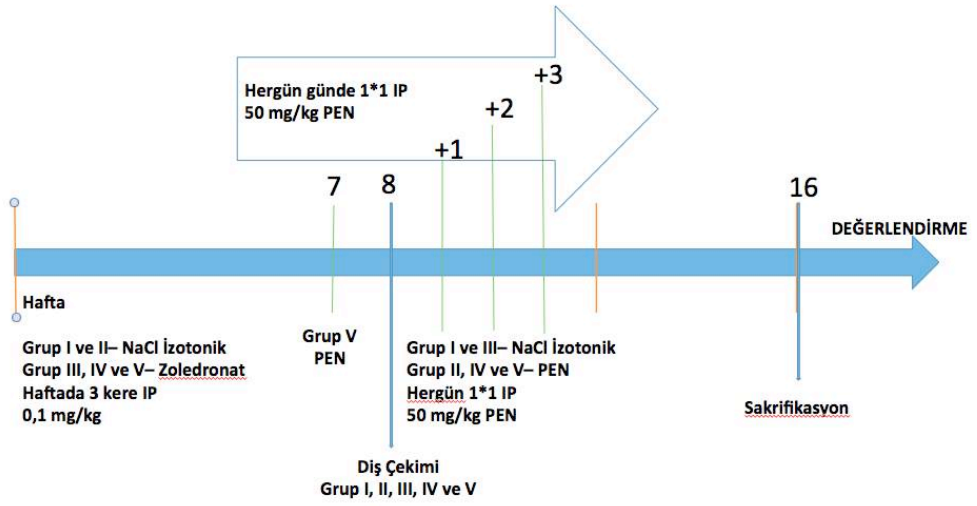
**Resim 3.13** Sıçanlara Subkutan % 5'lik Dekstroz Enjeksiyonu.

Diş çekimlerinin yapıldığı günden itibaren 3 hafta boyunca hergün IP, Grup 1 ve 3'teki sıçanlara SF (0,1 mg/ml); Grup 2, 4 ve 5'teki sıçanlara ise PEN (50 mg/kg) enjeksiyonu yapıldı. Tüm deney hayvanları diş çekimlerinden 8 hafta sonra yani çalışmanın başlangıcından 16 hafta sonra dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Daha sonra her bir sıçanın mandibulası diseke edilerek çıkarıldı. Histopatolojik ve histomorfometrik değerlendirmeler için %10'luk fosfat tamponlu nötral formaldehite (pH=7.4) konuldu ve dokular fiksasyon amacı ile 2 hafta kadar bu solüsyonun içinde bekletildi. Histopatolojik ve histomorfometrik değerlendirmeler Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yürütüldü.





**Resim 3.14** Diseke edilmiş sıçan mandibulası.



**Şekil 3.1** Çalışma Planı

### 3.1 Klinik Değerlendirme

Sıçanların mandibulasının ilgili bölgesi önce, abse, fistül ağzı, açığa çıkılmış kemik varlığının değerlendirilmesi için çıplak gözle muayene edildi.

### 3.2 Histopatolojik, ve Histomorfometrik Değerlendirme

Işık mikroskobunda incelenecek doku rnekleri, +4°C'de, %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içeren doku kaplarına alınmıştır. Fiksasyon aşamasından sonra dokular Morse solüsyonunda (%10 sodyum sitrat ve %22,5 formik asit) 4 hafta boyunca dekalsifiye edilmiştir. Dekalsifikasyon boyunca, solüsyon haftada 2 kez değiştirilmiştir. Dekalsifiye olan dokular alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilmiş, bunu takiben de parafine gmlmştir. Bloklar alınan örnekler üzerinde yapılan pilot çalışma sonrasında saptanan 1/8 sistematik rastgele örnekleme oranına göre seri olarak kesilmiştir. Kesitler bukkal yüzeyden lingual yüzeye doğru dişlerin dik eksenine paralel olacak şekilde 10  $\mu$ m kalınlığında sagittal olarak alınmıştır. Alınan kesitler poly-L-lysin kaplı lamlara aktarılmıştır. Lamlara alınan kesitlerden histomorfometrik olarak incelenecek dokular Trikrom Masson ile; histopatolojik olarak incelenecek dokular ise hematoksilen eosin ile boyanarak kapatılmıştır.

Hematoksilen eosin ile boyanan dokular ise işık mikroskobunda vaskülarizasyon, enflamasyon, kanama ve rejenerasyon dereceleri grupları bilmeyen bir histolog tarafından histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir. Değerlendirmede Karakoyun ve ark.'nın skorumlama kriterleri kullanılmıştır (160) (Tablo 3.1).

**Tablo 3.1** Histopatolojik Skorumlama Kriterleri

| Skor                                | Bulgu           |
|-------------------------------------|-----------------|
| 0 yok; 1 çok az; 2 orta; 3 şiddetli | Enflamasyon     |
| 0 yok; 1 çok az; 2 orta; 3 şiddetli | Vaskülarizasyon |
| 0 yok; 1 çok az; 2 orta; 3 şiddetli | Kanama          |
| 0 yok; 1 çok az; 2 orta; 3 şiddetli | Rejenerasyon    |

Trikrom Masson ile boyanan kesitler, CCD dijital kamera (Optronics Microfire 1600x1200P, Goleta, CA, USA), görüntü kartı (ATI FireGL Advance Micro Device, Camberly, UK), bilgisayar kontrollü motorize stage, (Bioprecision, Howtrone, NY, USA), Mikrokatör (Heidenhein, Traunreut, Germany) ve ışık mikroskobundan (Leica DM 4000B, Wetzlar, Germany) oluşan stereoloji çalışma istasyonunda incelenmiştir (Resim 3.15). Ölçümler yukarıda belirtilen mikroskopta Sterioinvestigator 7.0.5 (Microbrightfield, Williston, VT, USA) programı kullanılarak yapılmıştır. Hacim ölçümleri için Leica C Plan X10 objektif (NA = 0.22) kullanılmıştır. Alveol kemiğinin hacminin hesaplanmasında Sterioinvestigator görüntü analiz programının Cavalieri sondasından yararlanılmıştır. Cavalieri yöntemi, düzenli bir geometrik şekle sahip olmayan üç boyutlu nesnelerin hacimlerinin birbirine paralel dilimlere ayrılarak hesaplanmasına dayanır. Bu yöntem ile önce hacmi hesaplanacak yapı, dilimlere ayrılır ve her kesitin yüzey alanı bulunup, kesit kalınlığı ile çarpılarak ilgili dilimin hacmi hesaplanır. Nihayet dilimlerin hacimleri toplanarak ilgilenilen yapının toplam hacmi bulunur. Bu çalışmada birinci molar ile üçüncü molar rehberliğinde ikinci moların çekim soketindeki iyileşme hacmi hesaplanmıştır (Şekil 3.2).



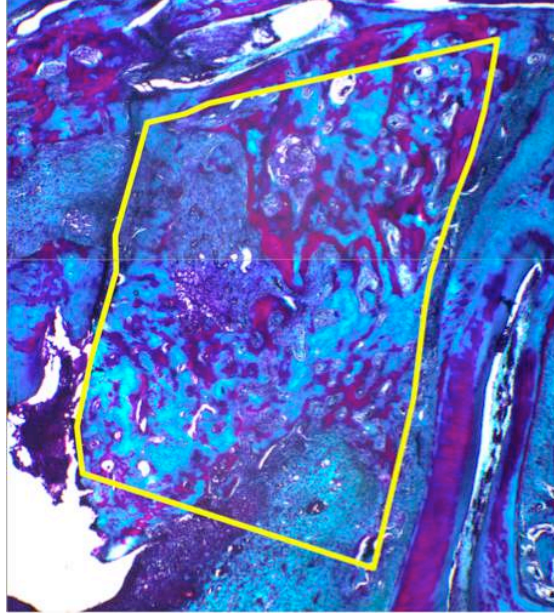
**Resim 3.15** Stereoloji Çalışma İstasyonu

Çalışmamızda alveolar kemiğin hacmi daha önce tanımlanan stereolojik çalışma istasyonu yardımıyla Cavalieri prensibi kullanılarak ölçülmüştür. Burada ilgilenilen yapıya, noktalı alan ölçüm cetveli uygulanmıştır. Noktalı alan cetvelinin

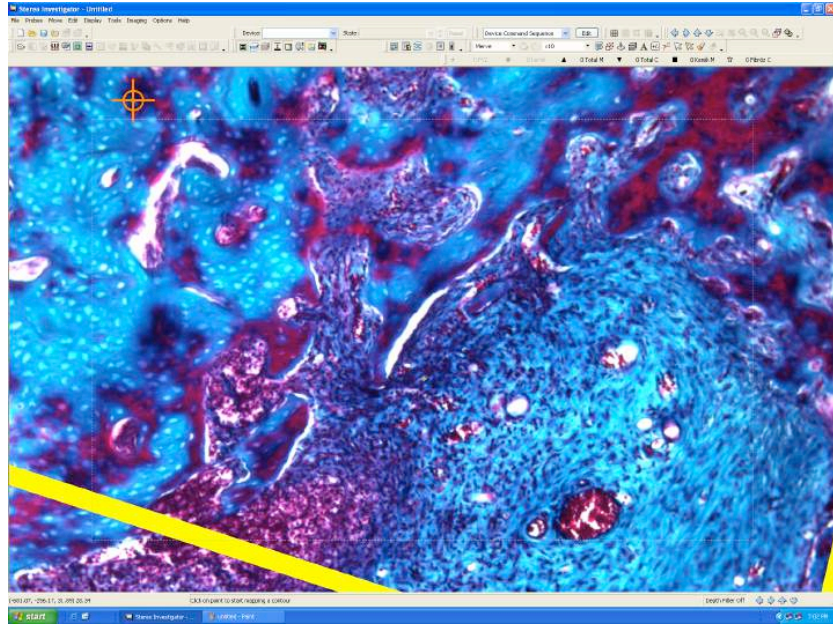
ölçüleri çalışmamızdan elde edilen mandibular örnekleri üzerinde yapılan pilot çalışma ile saptanmıştır ve  $d=100 \mu\text{m}$  olarak belirlenmiştir. Bu ölçüler ile maksimum etkinlik sağlanmıştır. Noktalı alan ölçüm cetvelinin her noktası  $10000 \mu\text{m}^2$  ye karşılık gelmektedir. Noktalı alan ölçüm cetveli ilgilenilen yapıya rastgele atılmış, ikinci moların çekim socketindeki alveolar kemiğe denk gelen noktalar sayılmıştır. Bu sayım sonuçları aşağıdaki formüldeki yerlerine konularak çekim socketini dolduran kemiğin hacmi tahmin edilmiştir.

$$\text{Hacim alveolar kemik} = t \times a/p \times \sum p$$

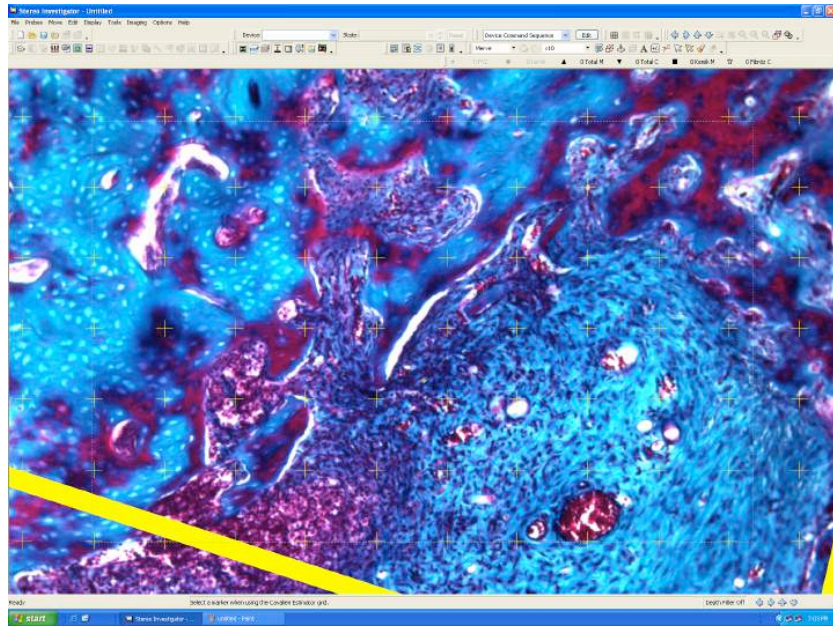
Formülde “t” ortalama kesit kalınlığını, “a/p” noktalı alan ölçüm cetvelindeki her bir noktanın gerçekte temsil ettiği alanı ifade etmektedir. Ölçülen her kesitin hacimleri toplanıp, örnekleme oranı ile çarpılarak çekim socketlerindeki iyileşen kemiğin toplam hacmi ortaya çıkarılmıştır.



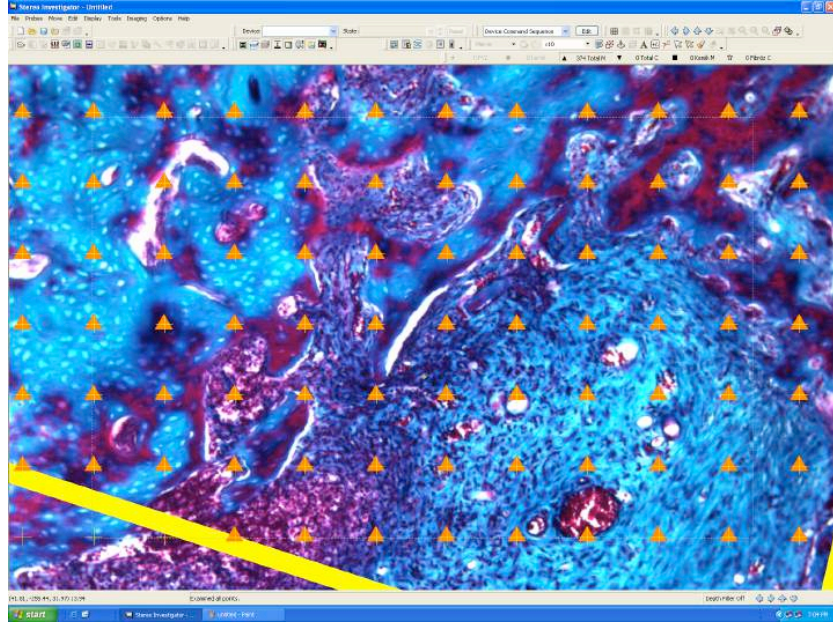
**Şekil 3.2** Histomorfometrik olarak ölçülecek alanın sınırlarının belirlenmesi (x4).



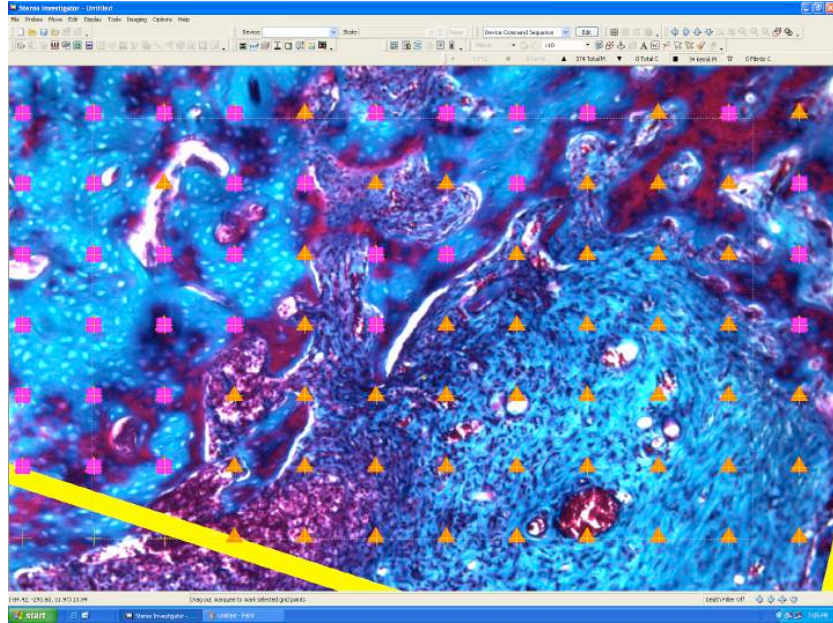
Şekil 3.3 Ölçüm yapılacak alanın büyütülmesi (x10).



Şekil 3.4 Cavalieri Prensipli ile değerlendirilecek alana ölçüm cetvelinin rastgele atılması (x10).



Şekil 3.5 Ölçüm cetveli ile total alana denk gelen nokta sayısının hesaplanması.



Şekil 3.6 Ölçüm cetveli ile kemik alanına denk gelen nokta sayısının hesaplanması.

Hacim ölçümleri yapılırken elde edilen kesit sayısının ve kullanılan nokta sıklığının yeterli olup olmadığını sorgulamak amacıyla hata katsayılarına bakılmıştır. Kontrol grubunun hata katsayısı ortalaması  $0,0074 \pm 0,0011$  (Ortalama  $\pm$ SH); SF/PEN grubunun hata katsayısı ise  $0,0088 \pm 0,0004$  (Ortalama  $\pm$ SH); ZA/SF

grubunun hata katsayısı ortalaması  $0,0086\pm0,0015$  (Ortalama  $\pm$ SH); ZA/PEN grubunun hata katsayısı ortalaması  $0,0112\pm0,0029$  (Ortalama  $\pm$ SH); ZA/PEN grubunun hata katsayısı ortalaması  $0,0092\pm0,0015$  (Ortalama  $\pm$ SH) olarak bulunmuştur. Ayrıca tüm çalışmanın her bir grubu için değişim katsayılarına bakılmıştır.

### **3.3 İstatistiksel Değerlendirme**

Çalışmamızın istatistiksel analizleri Statistical Package For The Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programının 18,0 sürümü kullanılarak yapılmıştır. Tüm gruplar için her bir parametrenin tanımlayıcı (ortalama, medyan, standart sapma, standart hata) istatistikleri hesaplanmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığın olduğu grubun belirlenmesinde Tukey HDS testi kullanılmıştır. Niteliksel, parametrik olmayan verilerin ikili karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık değeri  $p<0,05$  olarak alınmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Klinik Bulgular

Çalışma süresince yapılan enjeksiyonlar ve işlemler sıçanlar tarafından iyi tolere edilmiştir. Yalnızca kontrol grubundaki bir sıçan diş çekimi sonrasında kanama sebebi ile kaybedilmiştir.

Sıçanların sakrifiye edilmeden önce yapılan makroskopik incelemesinde, diş çekimi bölgesinde çalışma gruplarının hiçbirinde mukoza ülserasyonuna, dişetinde fistül oluşumuna veya açığa çıkmış nekrotik kemiğe rastlanmazken; ZA/SF ve ZA/PEN gruplarında bölgede ödeme, ZA/SF grubundaki 2 sıçanda ise diş çekimi sonrasında orofasiyal abseye rastlanmıştır. Bu sıçanlara hiçbir tedavi uygulanmamıştır.

Çalışma süresi boyunca tüm sıçanlara çalışmanın başlangıcında, diş çekiminden önce, PEN enjeksiyonu bittiğinde ve sakrifiye edilmeden önce olmak üzere dört defa ağırlık ölçümü yapılmıştır.

Yapılan ağırlık ölçümlerinde, başlangıç ölçümünde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $p=0,043$ ). Diş çekimi, tedavi bitimi ve sakrifikasyon öncesi yapılan vücut ağırlık ölçümlerinde, sıçanların vücut ağırlık ortalamalarında artış gözlenmiş ancak zamana göre ağırlık değişimleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.1).

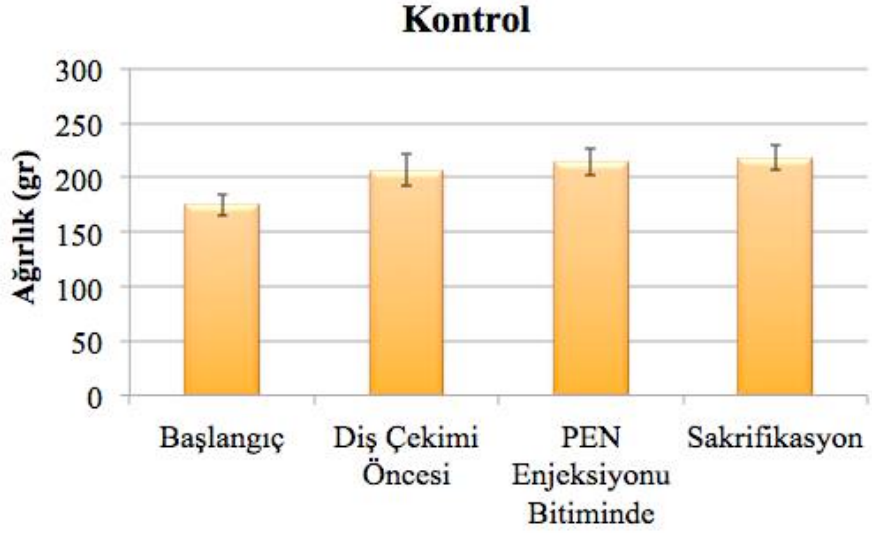
Farklılığa neden olan grubun tespiti için yapılan Tukey testinde, başlangıçta yapılan ağırlık ölçümlerinde ZA/PEN grubunun ağırlık ortalamasının kontrol grubunun ağırlık ortalamasından istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur ( $p=0,047$ ).



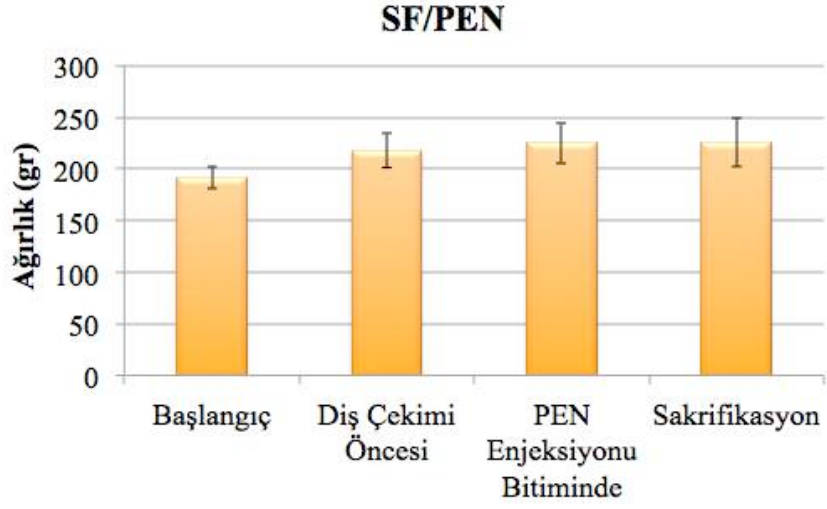
**Tablo 4.1** Grupların vücut ağırlık ölçüm değerleri

| <b>Ağırlık Ölçümü</b>                          | <b>Gruplar</b> | <b>Ortalama±SS</b> | <b>F</b> | <b>p</b> |
|--|----------------|--------------------|----------|----------|
| <b>Başlangıç</b>                               | KONTROL        | 172±7,58           | 2,843    | 0,043*   |
|  | SF/PEN         | 191,67±11,25       |          |          |
|  | ZA/SF          | 190±17,32          |          |          |
|  | ZA/PEN         | 192,86±12,20       |          |          |
|  | ZAPEN/PEN      | 192,14±6,36        |          |          |
| <b>Diş Çekimi Öncesinde<br/>(8. Hafta)</b>     | KONTROL        | 205±16,20          | 1,99     | 0,123    |
|  | SF/PEN         | 217,50±16,36       |          |          |
|  | ZA/SF          | 221,25±17,88       |          |          |
|  | ZA/PEN         | 228,57±13,14       |          |          |
|  | ZAPEN/PEN      | 218,57±6,27        |          |          |
| <b>PEN Enjeksiyonu Bitince<br/>(11. Hafta)</b> | KONTROL        | 214±12,45          | 1,908    | 0,137    |
|  | SF/PEN         | 225±20             |          |          |
|  | ZA/SF          | 225±16,04          |          |          |
|  | ZA/PEN         | 235,71±11,34       |          |          |
|  | ZAPEN/PEN      | 229,29±5,35        |          |          |
| <b>Sakrifikasyon<br/>(16.Hafta)</b>            | KONTROL        | 218±11,51          | 1,83     | 0,151    |
|  | SF/PEN         | 225,83±23,54       |          |          |
|  | ZA/SF          | 227,50±14,39       |          |          |
|  | ZA/PEN         | 240,71±14,56       |          |          |
|  | ZAPEN/PEN      | 225,71±8,86        |          |          |

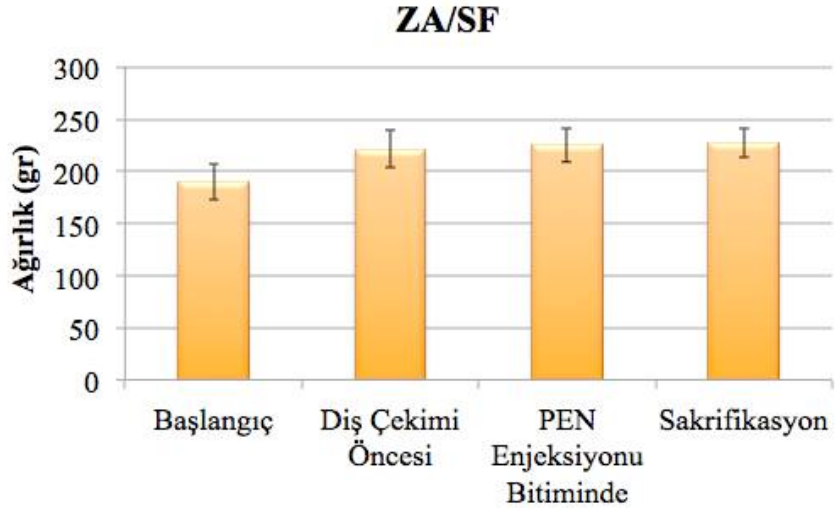
Tek yönlü varyans analizi testi - Anova \*p<0,05, SS: Standart Sapma.



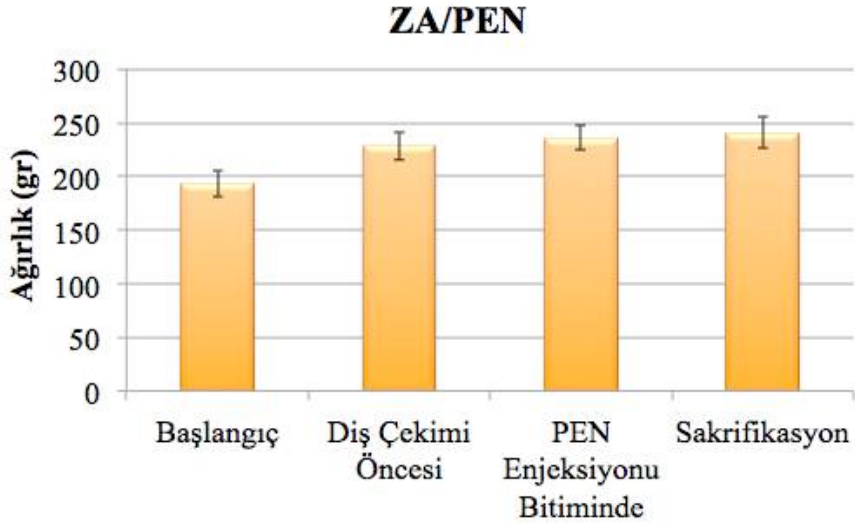
Şekil 4.1 Kontrol grubundaki sıçanların vücut ağırlık ölçüm değerleri.



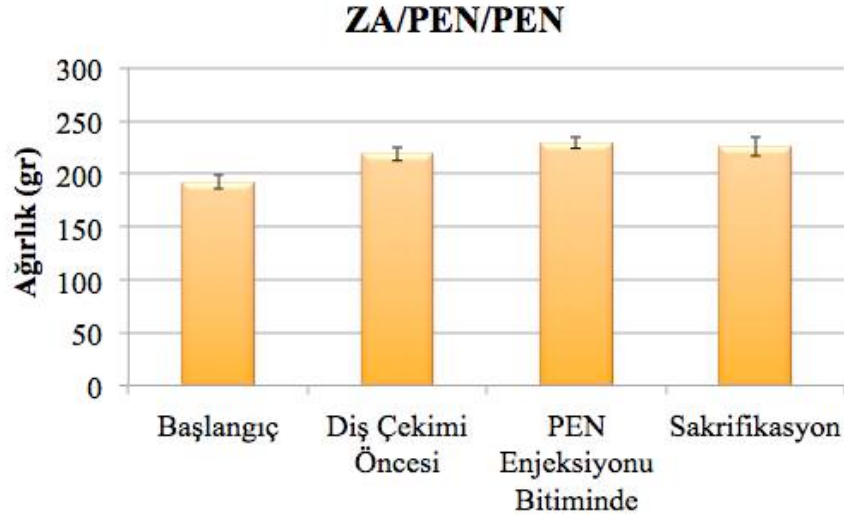
Şekil 4.2 SF/PEN grubundaki sıçanların vücut ağırlık ölçüm değerleri.



Şekil 4.3 ZA/SF grubundaki sıçanların vücut ağırlık ölçüm değerleri.



Şekil 4.4 ZA/PEN grubundaki sıçanların vücut ağırlık ölçüm değerleri.



Şekil 4.5 ZA/PEN/PEN grubundaki sıçanların ağırlık ölçüm değerleri.

## 4.2 Histolojik Bulgular

### 4.2.1 Histopatolojik Değerlendirme

#### 4.2.1.1 Enflamasyon

Tüm gruptaki hayvanlar histolojik olarak enflamasyon açısından değerlendirildiklerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Resim 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda (Tablo 4.2) (Şekil 4.6) Kontrol grubu ile SF/PEN grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamış ( $p=0,127$ ); Kontrol grubu ile ZA/SF ( $p=0,013$ ); ZA/PEN ( $p=0,046$ ) ve ZA/PEN/PEN ( $p=0,04$ ) grupları arasında anlamlı fark izlenmiştir.

SF/PEN grubu ile ZA/SF grubu karşılaştırıldığında ise ZA/SF grubunun enflamasyon değeri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p=0,018$ ). SF/PEN grubu ZA/PEN ( $p=0,222$ ) ve ZA/PEN/PEN ( $p=0,495$ ) grupları ile karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır.

ZA/SF grubu tedavi grupları ile enflamasyon açısından karşılaştırıldığında, ZA/PEN grubu ile anlamlı bir fark izlenemezken ( $p=0,536$ ); ZA/PEN/PEN grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p=0,017$ ).

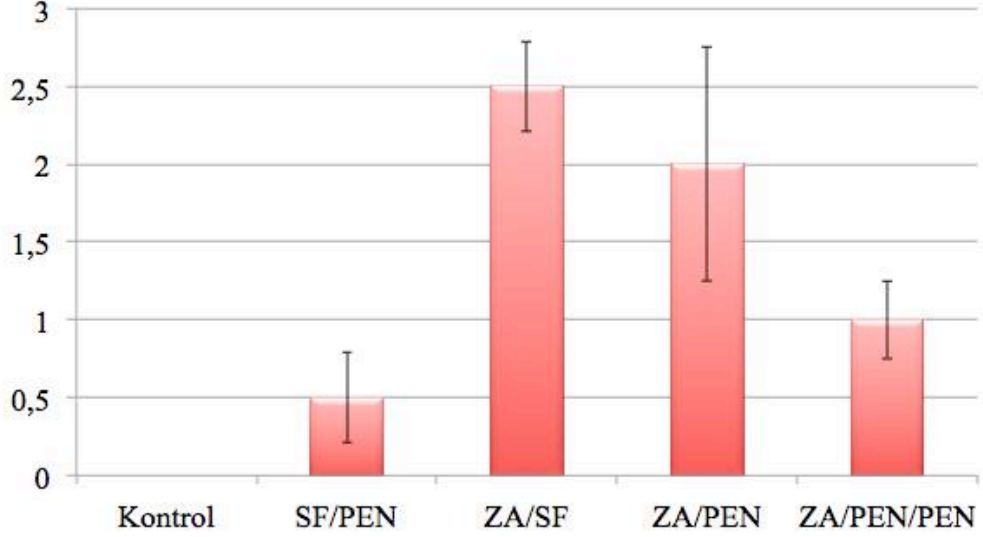
ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=0,35$ ).

**Tablo 4.2** Grupların enflamasyon şiddetlerinin karşılaştırılması

| <b>Grup</b> | <b>Medyan±SH</b> | <b>p</b> |
|-------------|------------------|----------|
| KONTROL     | 0±0              | 0,127    |
| SF/PEN      | 0,5±0,29         |          |
| KONTROL     | 0±0              | 0,013*   |
| ZA/SF       | 2,5±0,29         |          |
| KONTROL     | 0±0              | 0,046*   |
| ZA/PEN      | 2±0,75           |          |
| KONTROL     | 0±0              | 0,04*    |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0,25           |          |
| SF/PEN      | 0,5±0,29         | 0,018*   |
| ZA/SF       | 2,5±0,29         |          |
| SF/PEN      | 0,5±0,29         | 0,222    |
| ZA/PEN      | 2±0,75           |          |
| SF/PEN      | 0,5±0,29         | 0,495    |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0,25           |          |
| ZA/SF       | 2,5±0,29         | 0,536    |
| ZA/PEN      | 2±0,75           |          |
| ZA/SF       | 2,5±0,29         | 0,017*   |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0,25           |          |
| ZA/PEN      | 2±0,75           | 0,35     |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0,25           |          |

Mann Whitney U Testi (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001) ; SH: Standart Hata.

## Enflamasyon



Şekil 4.6 Grupların enflamasyon şiddetlerinin karşılaştırılması

### 4.2.1.2 Vaskülarizasyon

Tüm gruplardaki hayvanlar histolojik olarak vaskülarizasyon açısından değerlendirildiklerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Resim 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda (Tablo 4.3) (Şekil 4.7) Kontrol grubu ile SF/PEN grubu arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=1$ ). Kontrol grubu ile ZA/SF grubu karşılaştırıldığında; ZA/SF grubunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek vaskülarizasyon değerine sahip olduğu izlenmiştir ( $p=0,022$ ). Kontrol grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığında ZA/PEN grubu ile arasında anlamlı bir fark izlenemezken ( $p=0,321$ ); ZA/PEN/PEN grubu Kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p=0,04$ ).

SF/PEN grubu ZA/SF grubu ile karşılaştırıldığında, SF/PEN grubunun anlamlı derecede düşük bir değere sahip olduğu izlenmiştir ( $p=0,022$ ). SF/PEN grubu tedavi grupları ile karşılaştırıldığında, ZA/PEN grubu ile aralarında anlamlı bir fark bulunmazken ( $p=0,321$ ); ZA/PEN/PEN grubuna göre vaskülarizasyon derecesi anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p=0,04$ ).

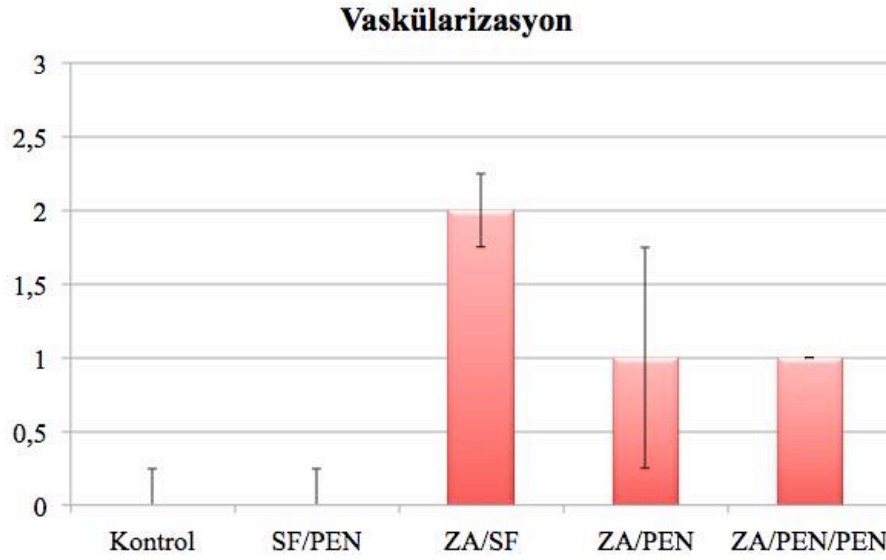
ZA/SF grubu tedavi grupları ile karşılaştırıldığında, ZA/PEN grubu ile aralarında anlamlı bir fark bulunmazken ( $p=0,642$ ); ZA/PEN/PEN grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p=0,04$ ).

ZA/PEN ile ZA/PEN/PEN grupları arasında vaskülarizasyon derecelerinin karşılaştırmasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir (p=1).

**Tablo 4.3** Grupların vaskülarizasyonlarının karşılaştırılması

| <b>Grup</b> | <b>Medyan±SH</b> | <b>p</b> |
|-------------|------------------|----------|
| KONTROL     | 0±0,25           | 1        |
| SF/PEN      | 0±0,25           |          |
| KONTROL     | 0±0,25           | 0,022*   |
| ZA/SF       | 2±0,25           |          |
| KONTROL     | 0±0,25           | 0,321    |
| ZA/PEN      | 1±0,75           |          |
| KONTROL     | 0±0,25           | 0,04*    |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0              |          |
| SF/PEN      | 0±0,25           | 0,022*   |
| ZA/SF       | 2±0,25           |          |
| SF/PEN      | 0±0,25           | 0,321    |
| ZA/PEN      | 1±0,75           |          |
| SF/PEN      | 0±0,25           | 0,04*    |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0              |          |
| ZA/SF       | 2±0,25           | 0,642    |
| ZA/PEN      | 1±0,75           |          |
| ZA/SF       | 2±0,25           | 0,04*    |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0              |          |
| ZA/PEN      | 1±0,75           | 1        |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0              |          |

Mann Whitney U Testi (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001) ; SH: Standart Hata.



**Şekil 4.7** Grupların vaskülarizasyonlarının karşılaştırılması

#### 4.2.1.3 Kanama

Tüm gruplardaki hayvanlar histolojik olarak kanama açısından değerlendirildiklerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Resim 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda (Tablo 4.4) (Şekil 4.8) Kontrol grubu ile SF/PEN grubu arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=1$ ). Kontrol grubu ile ZA/SF grubu karşılaştırıldığında ZA/SF grubunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek kanama değerine sahip olduğu izlenmiştir ( $p=0,025$ ). Kontrol grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığında ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları ile arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (Sırası ile:  $p=0,317$ ;  $p=0,186$ ).

SF/PEN grubu ZA/SF grubu ile karşılaştırıldığında, SF/PEN grubunun anlamlı derecede düşük bir değere sahip olduğu izlenmiştir ( $p=0,025$ ). SF/PEN grubu tedavi grupları ile karşılaştırıldığında ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları ile arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (Sırası ile:  $p=0,317$ ;  $p=0,186$ ).

ZA/SF grubu tedavi grupları ile karşılaştırıldığında, ZA/PEN grubu ile aralarında anlamlı bir fark bulunmazken ( $p=0,765$ ); ZA/PEN/PEN grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p=0,044$ ).

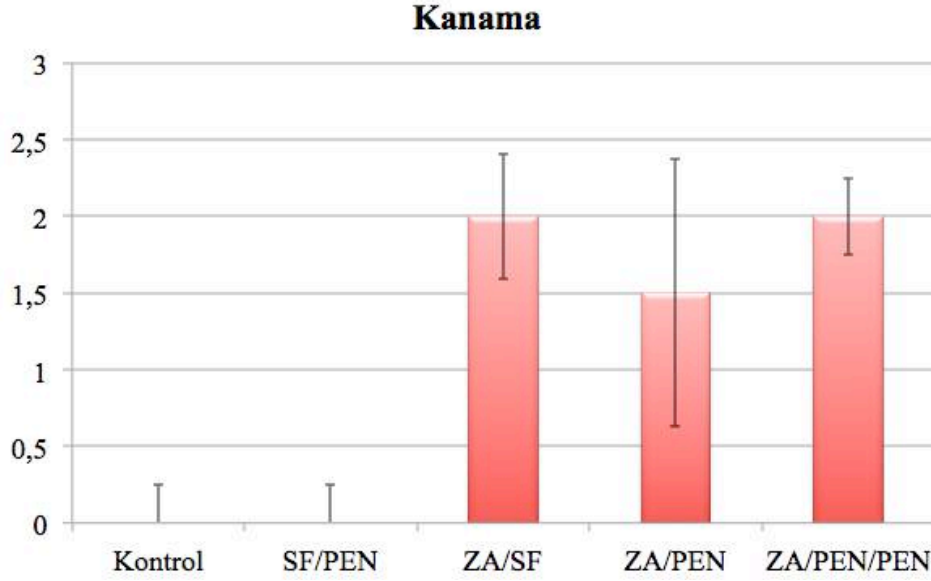
ZA/PEN ile ZA/PEN/PEN grupları arasında kanama derecelerinin karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=0,76$ ).



**Tablo 4.4** Grupların kanama şiddetlerinin karşılaştırılması.

| <b>Grup</b> | <b>Medyan±SH</b> | <b>p</b> |
|-------------|------------------|----------|
| KONTROL     | 0±0,25           | 1        |
| SF/PEN      | 0±0,25           |          |
| KONTROL     | 0±0,25           | 0,025*   |
| ZA/SF       | 2±0,41           |          |
| KONTROL     | 0±0,25           | 0,317    |
| ZA/PEN      | 1,5±0,87         |          |
| KONTROL     | 0±0,25           | 0,186    |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0,25           |          |
| SF/PEN      | 0±0,25           | 0,025*   |
| ZA/SF       | 2±0,41           |          |
| SF/PEN      | 0±0,25           | 0,317    |
| ZA/PEN      | 1,5±0,87         |          |
| SF/PEN      | 0±0,25           | 0,186    |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0,25           |          |
| ZA/SF       | 2±0,41           | 0,765    |
| ZA/PEN      | 1,5±0,87         |          |
| ZA/SF       | 2±0,41           | 0,044*   |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0,25           |          |
| ZA/PEN      | 1,5±0,87         | 0,76     |
| ZA/PEN/PEN  | 1±0,25           |          |

Mann Whitney U Testi (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001) ; SH: Standart Hata.



**Şekil 4.8** Grupların kanama şiddetlerinin karşılaştırılması.

#### 4.2.1.4 Rejenerasyon

Tüm gruplardaki hayvanlar histolojik olarak rejenerasyon açısından değerlendirildiklerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Resim 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda (Tablo 4.5) (Şekil 4.9) Kontrol grubu ile SF/PEN grubu arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=1$ ). Kontrol grubu ile ZA/SF grubu karşılaştırıldığında kontrol grubunun ZA/SF grubuna göre anlamlı derecede yüksek rejenerasyon derecesine sahip olduğu izlenmiştir ( $p=0,008$ ). Kontrol grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığında ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları ile arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (Sırası ile:  $p=0,127$ ;  $p=0,317$ ).

SF/PEN ile ZA/SF grupları karşılaştırıldığında, SF/PEN grubunun anlamlı derecede yüksek bir değere sahip olduğu izlenmiştir ( $p=0,008$ ). SF/PEN grubu tedavi grupları ile karşılaştırıldığında ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları ile arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (Sırası ile:  $p=0,127$ ;  $p=0,317$ ).

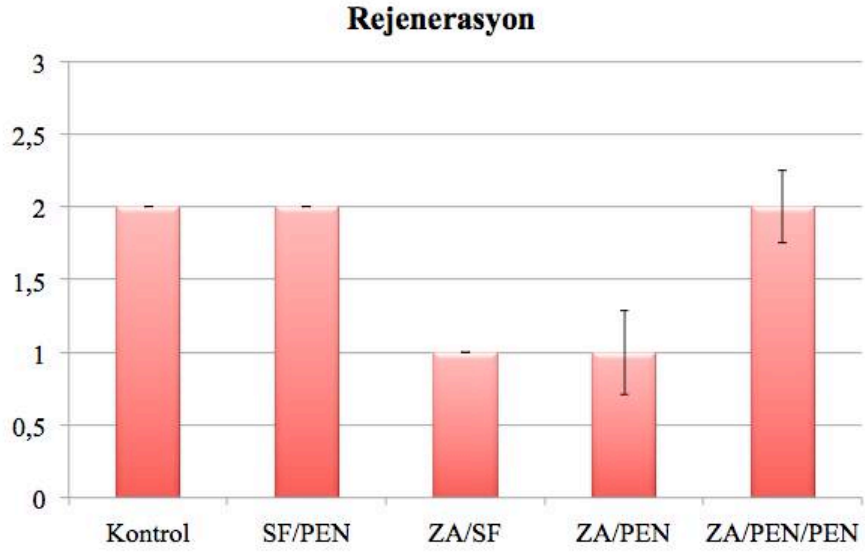
ZA/SF grubunun rejenerasyon derecesi tedavi gruplarınıninki ile karşılaştırıldığında, ZA/PEN grubu ile aralarında anlamlı bir fark bulunmazken ( $p=0,127$ ); ZA/PEN/PEN grubunun ZA/SF grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p=0,04$ ).

ZA/PEN ile ZA/PEN/PEN grupları arasında rejenerasyon derecelerinin karşılaştırmasında ise anlamlı bir fark izlenmemiştir (p=0,495).

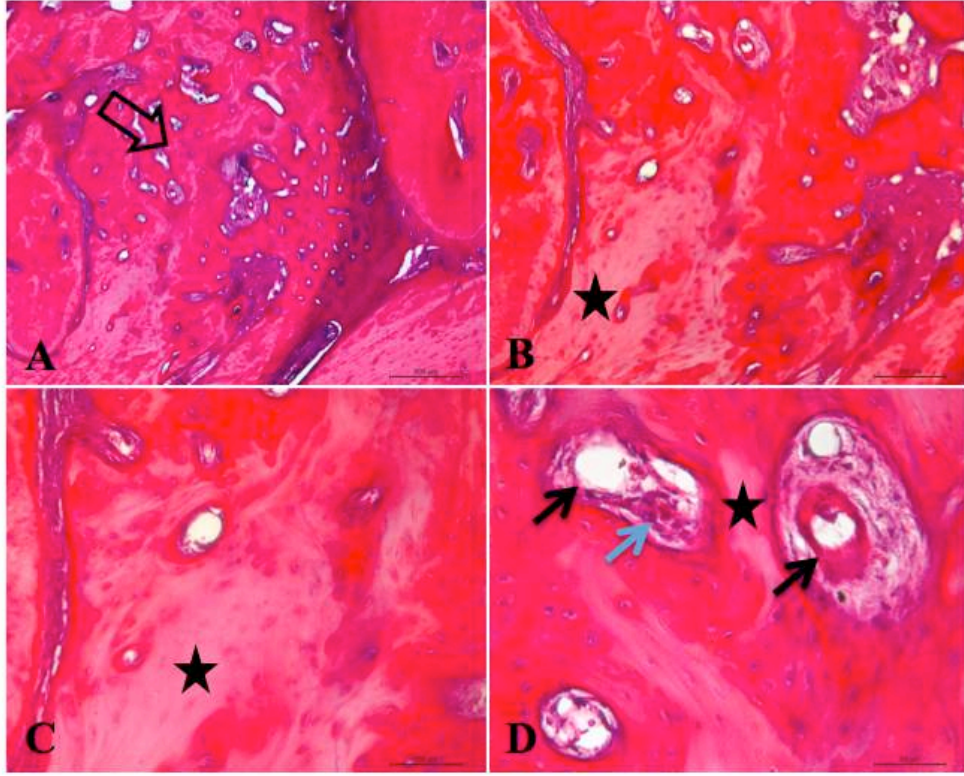
**Tablo 4.5** Grupların rejenerasyon derecelerinin karşılaştırılması.

| <b>Grup</b> | <b>Medyan±SH</b> | <b>p</b> |
|-------------|------------------|----------|
| KONTROL     | 2±0              | 1        |
| SF/PEN      | 2±0              |          |
| KONTROL     | 2±0              | 0,008**  |
| ZA/SF       | 1±0              |          |
| KONTROL     | 2±0              | 0,127    |
| ZA/PEN      | 1,5±0,29         |          |
| KONTROL     | 2±0              | 0,317    |
| ZA/PEN/PEN  | 2±0,25           |          |
| SF/PEN      | 2±0              | 0,008**  |
| ZA/SF       | 1±0              |          |
| SF/PEN      | 2±0              | 0,127    |
| ZA/PEN      | 1,5±0,29         |          |
| SF/PEN      | 2±0              | 0,317    |
| ZA/PEN/PEN  | 2±0,25           |          |
| ZA/SF       | 1±0              | 0,127    |
| ZA/PEN      | 1,5±0,29         |          |
| ZA/SF       | 1±0              | 0,04*    |
| ZA/PEN/PEN  | 2±0,25           |          |
| ZA/PEN      | 1,5±0,29         | 0,495    |
| ZA/PEN/PEN  | 2±0,25           |          |

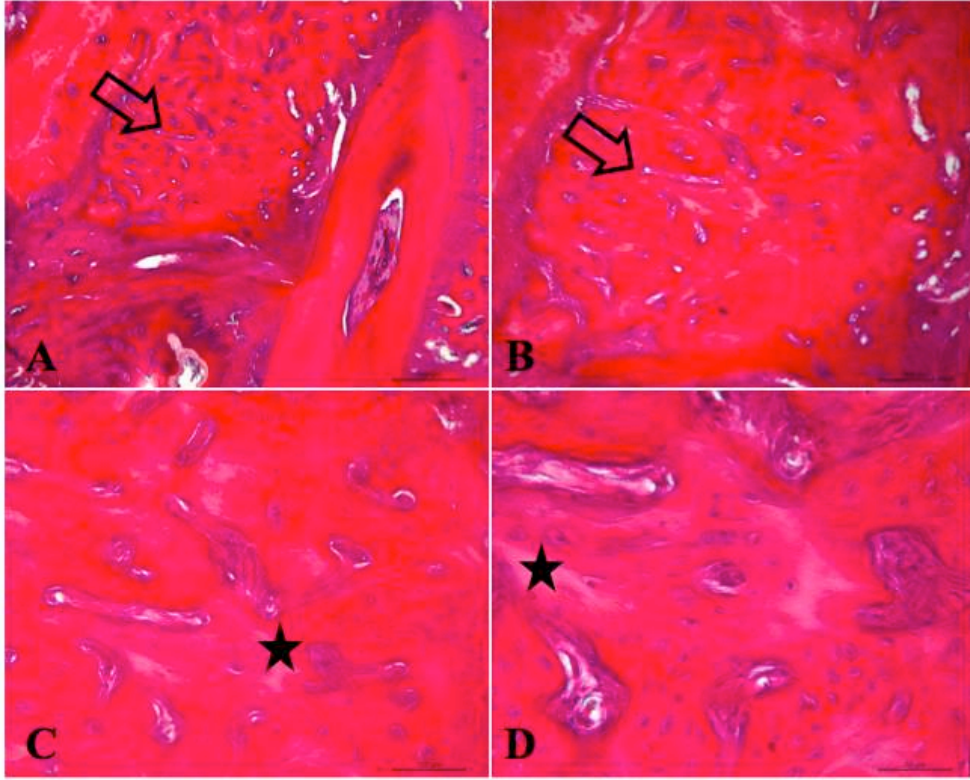
Mann Whitney U Testi (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001); SH: Standart Hata.



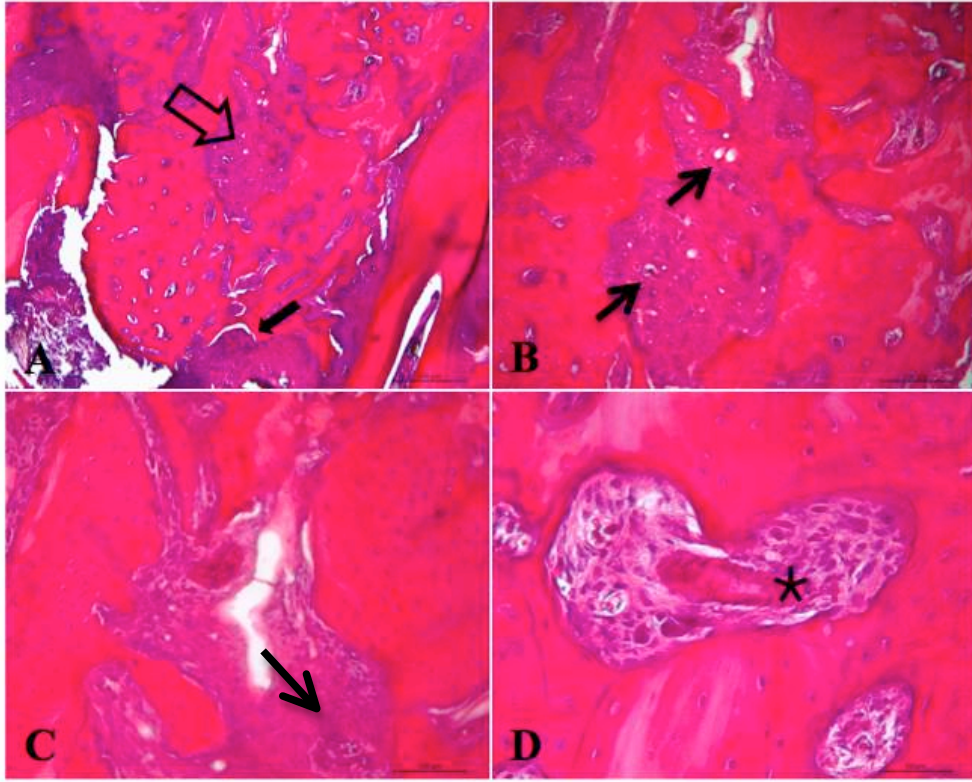
**Şekil 4.9** Grupların rejenerasyon derecelerinin karşılaştırılması.



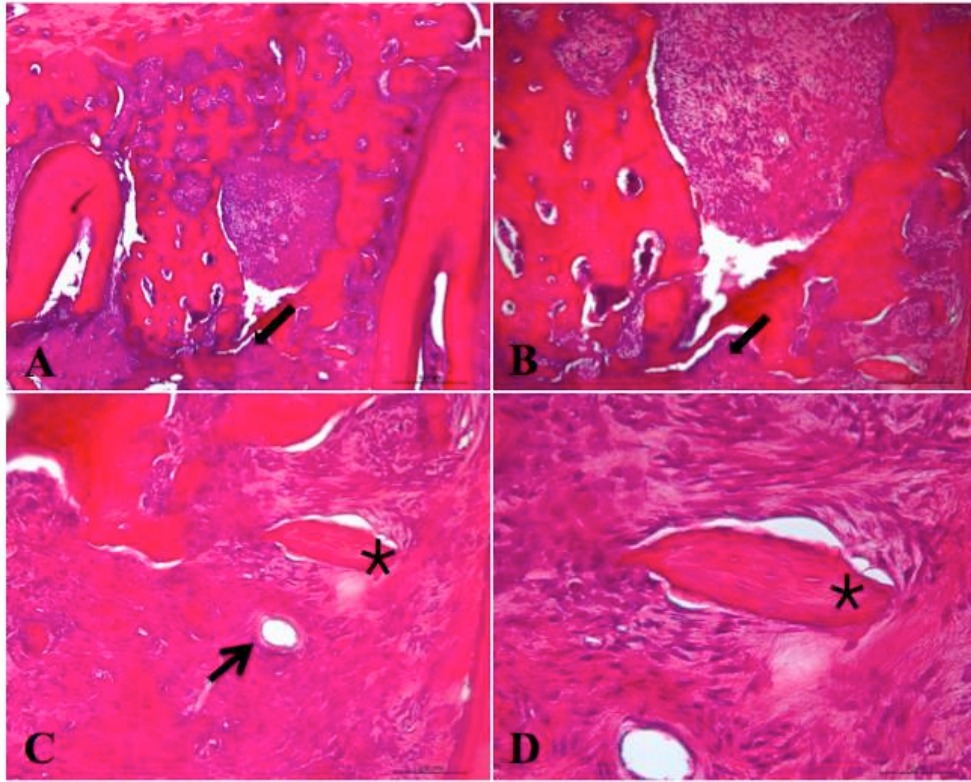
**Resim 4.1** Kontrol grubundaki bir sıçanın çekim soketinin histolojik görüntüsü  
A. İyileşmiş, kemikle dolmuş soketin görüntüsü (İçi boş ok) (x5 büyütmede; bar=400  $\mu\text{m}$ ). B. Yeni oluşan kemik (Yıldız) (x10 büyütmede; bar=200  $\mu\text{m}$ ). C. Yeni oluşan kemik (Yıldız) (x20 büyütmede; bar=100  $\mu\text{m}$ ). D. Yeni oluşan kemik (Yıldız); Yeni oluşan kemiği besleyen kapillerler (Siyah ok); Kemik yüzeyine temasta olan sağlıklı bir osteoklast (Mavi ok) (x40 büyütmede; bar=50  $\mu\text{m}$ ) Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.



**Resim 4.2** SF/PEN grubundaki bir sıçanın çekim soketinin histolojik görüntüsü  
A. İyileşmiş, kemikle dolmuş soketin görüntüsü (İçi boş ok) (x5 büyütmede; bar=400  $\mu$ m). B. İyileşmiş, kemikle dolmuş soketin görüntüsü (İçi boş ok) (x10 büyütmede; bar=200  $\mu$ m). C. Yeni oluşan kemik (Yıldız) (x20 büyütmede; bar=100  $\mu$ m). D. Yeni oluşan kemik (Yıldız) (x40 büyütmede; bar=50  $\mu$ m) Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.

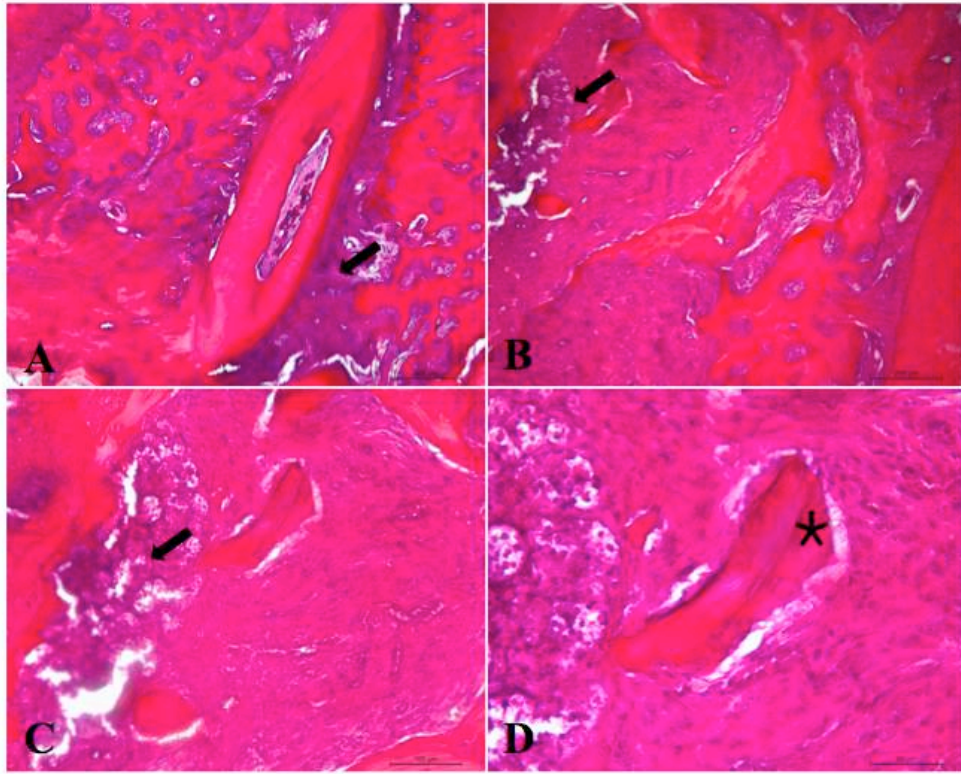


**Resim 4.3** ZA/SF grubundaki bir sıçanın çekim soketinin histolojik görüntüsü  
A. Tam olarak iyileşmemiş, kısmen kemikle dolmuş soketin görüntüsü (İçi boş ok)  
(x5 büyütmede; bar=400  $\mu$ m). B. Enflamasyon alanları (x10 büyütmede; bar=200  
 $\mu$ m). C. Enflamasyon alanları (x20 büyütmede; bar=100  $\mu$ m). D. Beslenmeyen ve  
kısmen yumuşak doku ve enflamatuvar hücreler ile çevrili kemik bölgesi (x40  
büyütmede; bar=50  $\mu$ m) Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.



**Resim 4.4** ZA/PEN grubundaki bir sıçanın çekim soketinin histolojik görüntüsü  
A. Tam olarak iyileşmemiş, kısmen kemikle dolmuş soketin görüntüsü, enflamasyon alanları (Siyah ok) (x5 büyütmede; bar=400  $\mu$ m). B. Enflamasyon alanları (x10 büyütmede; bar=200  $\mu$ m). C. Enflamasyon alanları ve enflamasyon bölgesine gelen kapiller (Siyah ok); beslenmeyen ve kısmen yumuşak doku ve enflamatuvar hücreler ile çevrili kemik bölgesi (Yıldız) (x20 büyütmede; bar=100  $\mu$ m). D. Beslenmeyen ve kısmen yumuşak doku ve enflamatuvar hücreler ile çevrili kemik bölgesi (x40 büyütmede; bar=50  $\mu$ m) Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.





**Resim 4.5** ZA/PEN/PEN grubundaki bir sıçanın çekim socketinin histolojik görüntüsü A. Tam olarak iyileşmemiş, kısmen kemikle dolmuş socketin görüntüsü, enflamasyon alanları (Siyah ok) (x5 büyütmede; bar=400  $\mu$ m). B. Enflamasyon alanları (Siyah ok) (x10 büyütmede; bar=200  $\mu$ m). C. Enflamasyon alanları ve (Siyah ok) (x20 büyütmede; bar=100  $\mu$ m). D. Beslenmeyen ve kısmen yumuşak doku ve enflamatuvar hücreler ile çevrili kemik bölgesi (Yıldız) (x40 büyütmede; bar=50  $\mu$ m) Hematoksilen Eozin ile boyanmıştır.

## 4.2.2 Histomorfometrik Değerlendirme

Çalışma gruplarında diş çekim boşluklarında ölçülen total kemik hacmi ve kemik yüzdeleri ortalama ve standart sapmaları Tablo 4.6 ve 4.7’de gösterilmiştir. Diş çekim boşluklarında ölçülen total kemik hacmi ve kemik yüzdeleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmiştir ( $p<0,001$ ).

### 4.2.2.1 Total Kemik Hacmi

Çalışma gruplarında diş çekim boşluklarında ölçülen total kemik hacim değerleri Tablo 4.6’da gösterilmiştir. Tüm gruplardaki hayvanların çekim soketleri histomorfometrik olarak incelendiğinde tüm gruplar arasında total kemik hacmi açısından anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0,001$ ) (Resim 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda (Şekil 4.9) kontrol grubu ile SF/PEN, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları arasında anlamlı bir fark izlenirken (Sırası ile:  $p=0,009$ ;  $p=0,01$ ;  $p=0,002$ ); Kontrol grubu ile ZA/SF grubu arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=0,999$ ) (Şekil 4.10).

SF/PEN grubu ZA/SF grubu ile karşılaştırıldığında, SF/PEN grubunun anlamlı derecede düşük total kemik hacmine sahip olduğu izlenmiştir ( $p=0,005$ ). SF/PEN grubu tedavi grupları ile karşılaştırıldığında ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları ile arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (Sırası ile:  $p=1$ ;  $p=0,967$ ) (Şekil 4.11).

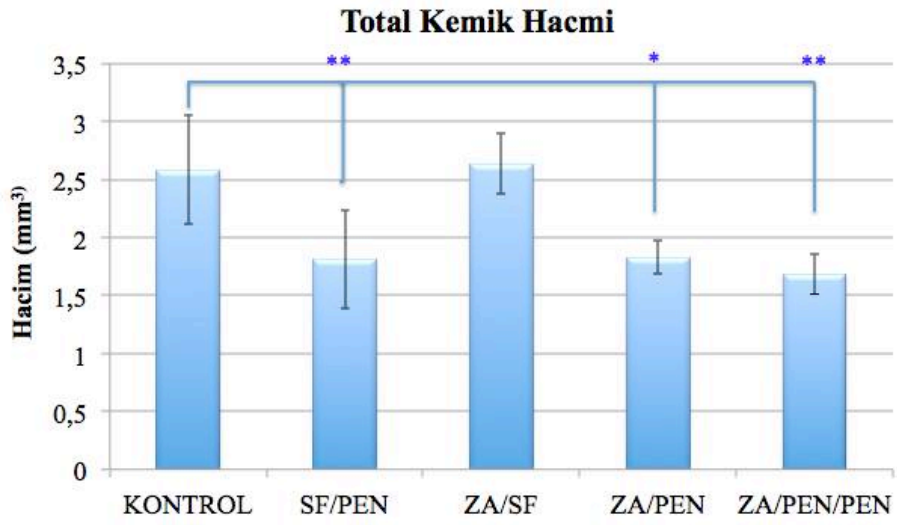
ZA/SF grubunun total kemik hacmi tedavi grupları ile karşılaştırıldığında, ZA/SF grubunun, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarına göre anlamlı olarak daha yüksek total kemik hacmine sahip olduğu izlenmiştir (Sırası ile:  $p=0,006$ ;  $p=0,001$ ) (Şekil 4.12).

ZA/PEN ile ZA/PEN/PEN gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılmasında ise anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=0,95$ ) (Şekil 4.13).

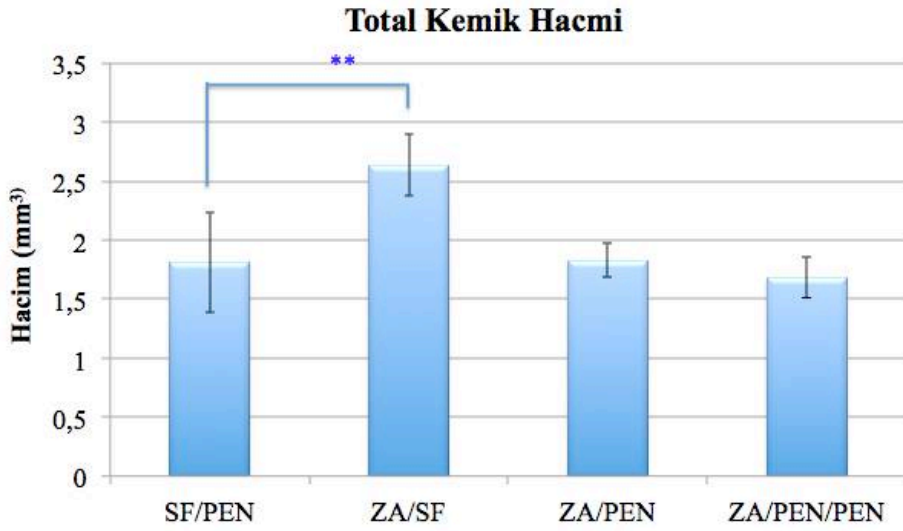
**Tablo 4.6** Diş çekim boşluklarında ölçülen total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.

| <b>Grup</b> | <b>n</b> | <b>Ort±SS (mm<sup>3</sup>)</b> | <b>p</b> |
|-------------|----------|--------------------------------|----------|
| KONTROL     | 5        | 2,5834±0,46697                 | 0,009**  |
| SF/PEN      | 5        | 1,8108±0,4265                  |          |
| KONTROL     | 5        | 2,5834±0,46697                 | 0,999    |
| ZA/SF       | 5        | 2,6347±0,2583                  |          |
| KONTROL     | 5        | 2,5834±0,46697                 | 0,01*    |
| ZA/PEN      | 5        | 1,8273±0,14194                 |          |
| KONTROL     | 5        | 2,5834±0,46697                 | 0,002**  |
| ZA/PEN/PEN  | 5        | 1,6814±0,17033                 |          |
| SF/PEN      | 5        | 1,8108±0,4265                  | 0,005**  |
| ZA/SF       | 5        | 2,6347±0,2583                  |          |
| SF/PEN      | 5        | 1,8108±0,4265                  | 1        |
| ZA/PEN      | 5        | 1,8273±0,14194                 |          |
| SF/PEN      | 5        | 1,8108±0,4265                  | 0,967    |
| ZA/PEN/PEN  | 5        | 1,6814±0,17033                 |          |
| ZA/SF       | 5        | 2,6347±0,2583                  | 0,006**  |
| ZA/PEN      | 5        | 1,8273±0,14194                 |          |
| ZA/SF       | 5        | 2,6347±0,2583                  | 0,001**  |
| ZA/PEN/PEN  | 5        | 1,6814±0,17033                 |          |
| ZA/PEN      | 5        | 1,8273±0,14194                 | 0,95     |
| ZA/PEN/PEN  | 5        | 1,6814±0,17033                 |          |

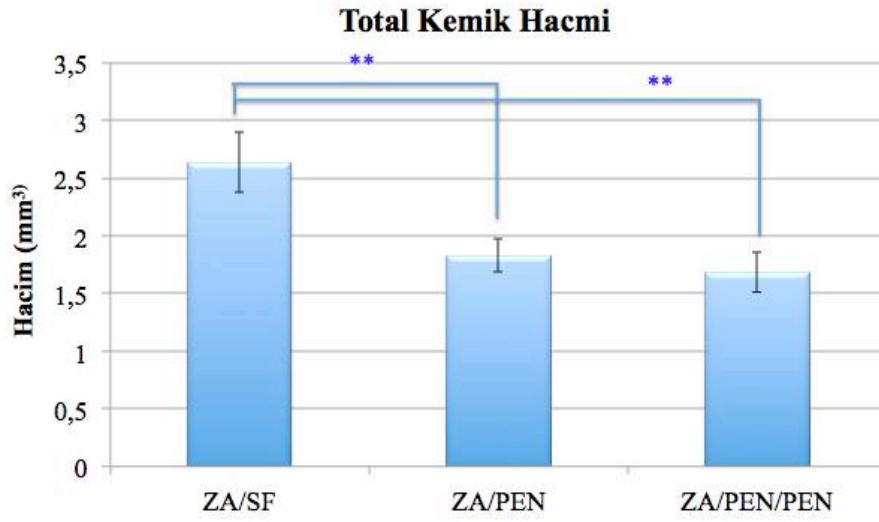
Tukey Testi (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001) ; SS: Standart Sapma.



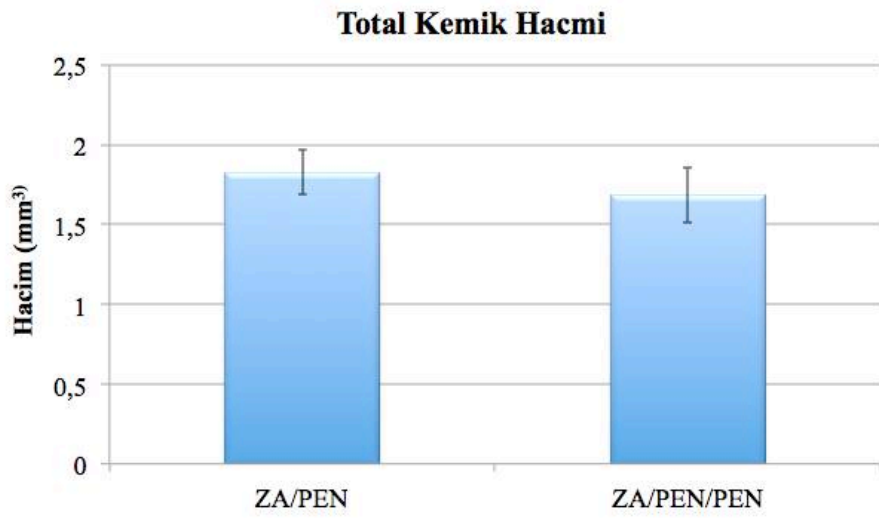
**Şekil 4.10** Kontrol grubu ile SF/PEN, ZA/SF, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.



**Şekil 4.11** SF/PEN grubu ile ZA/SF, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.12 ZA/SF grubu ile ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.13 ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.

#### 4.2.2.2 Kemik Yüzdesi

Çalışma gruplarında diş çekim boşluklarında ölçülen kemik yüzdeleri Tablo 4.7'de gösterilmiştir. Tüm gruplar arasında diş çekim boşluklarındaki kemik yüzdeleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p < 0,001$ ) (Resim 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda (Şekil 4.9) Kontrol grubu ile SF/PEN, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları arasında anlamlı bir fark izlenmezken (Sırası ile:  $p=0,935$ ;  $p=0,108$ ;  $p=0,530$ ); ZA/SF grubu ile karşılaştırıldığında ise anlamlı derecede yüksek kemik yüzdesine sahip olduğu görülmüştür. ( $p < 0,001$ ) (Şekil 4.14).

SF/PEN grubu ZA/SF grubu ile karşılaştırıldığında, SF/PEN grubunun anlamlı derecede yüksek kemik yüzdesine sahip olduğu izlenmiştir ( $p < 0,001$ ). SF/PEN grubu tedavi grupları ile karşılaştırıldığında ZA/PEN grubuna göre anlamlı derecede yüksek kemik yüzdesi gösterirken ( $p=0,022$ ) ve ZA/PEN/PEN grubu ile arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=0,967$ ) (Şekil 4.15).

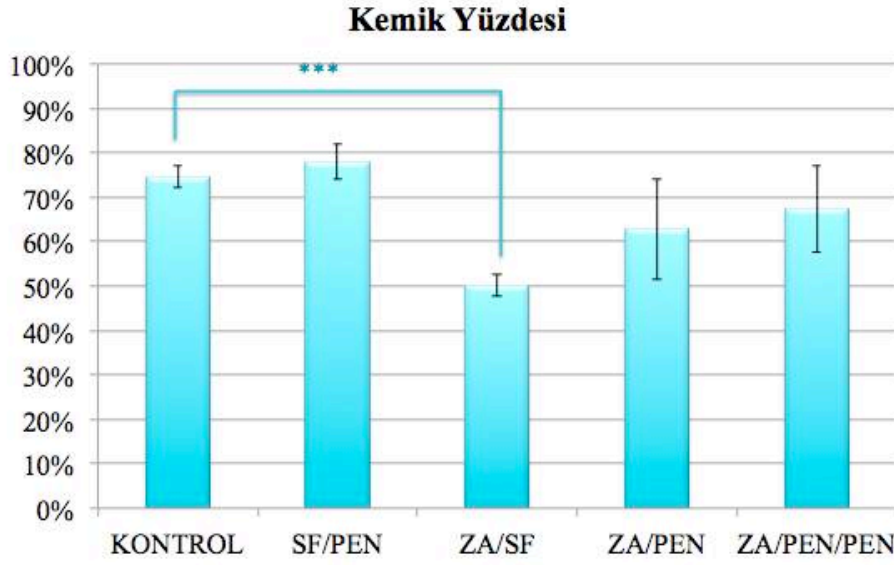
ZA/SF grubunun kemik yüzdesi tedavi grupları ile karşılaştırıldığında, ZA/SF grubu ile ZA/PEN grubunun arasında anlamlı bir fark bulunmadığı ( $p=0,69$ ); ZA/PEN/PEN grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunduğu görülmüştür ( $p=0,008$ ) (Şekil 4.16).

ZA/PEN ile ZA/PEN/PEN gruplarının kemik yüzdeleri karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=0,839$ ) (Şekil 4.17).

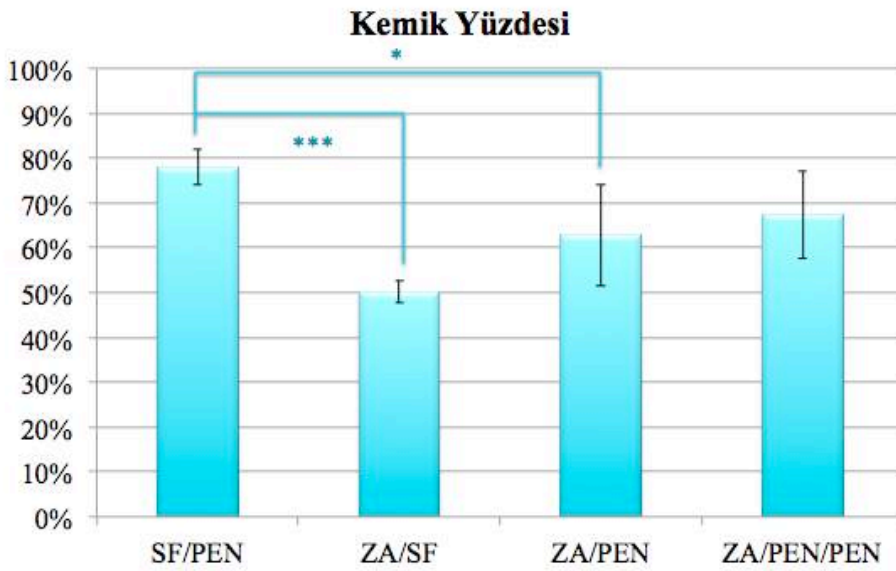
**Tablo 4.7** Diş çekim boşluklarında ölçülen kemik yüzdeleri.

| <b>Grup</b> | <b>n</b> | <b>Ort±SS (%)</b> | <b>P</b> |
|-------------|----------|-------------------|----------|
| KONTROL     | 5        | 74,4864±2,42038   | 0,935    |
| SF/PEN      | 5        | 77,9696±3,94098   |          |
| KONTROL     | 5        | 74,4864±2,42038   | 0,000*** |
| ZA/SF       | 5        | 50,0461±2,4168    |          |
| KONTROL     | 5        | 74,4864±2,42038   | 0,108    |
| ZA/PEN      | 5        | 62,7881±11,3843   |          |
| KONTROL     | 5        | 74,4864±2,42038   | 0,530    |
| ZA/PEN/PEN  | 5        | 67,4154±9,77348   |          |
| SF/PEN      | 5        | 77,9696±3,94098   | 0,000*** |
| ZA/SF       | 5        | 50,0461±2,4168    |          |
| SF/PEN      | 5        | 77,9696±3,94098   | 0,022*   |
| ZA/PEN      | 5        | 62,7881±11,3843   |          |
| SF/PEN      | 5        | 77,9696±3,94098   | 0,171    |
| ZA/PEN/PEN  | 5        | 67,4154±9,77348   |          |
| ZA/SF       | 5        | 50,0461±2,4168    | 0,069    |
| ZA/PEN      | 5        | 62,7881±11,3843   |          |
| ZA/SF       | 5        | 50,0461±2,4168    | 0,008**  |
| ZA/PEN/PEN  | 5        | 67,4154±9,77348   |          |
| ZA/PEN      | 5        | 62,7881±11,3843   | 0,839    |
| ZA/PEN/PEN  | 5        | 67,4154±9,77348   |          |

Tukey Testi (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001) ; SS: Standart Sapma.

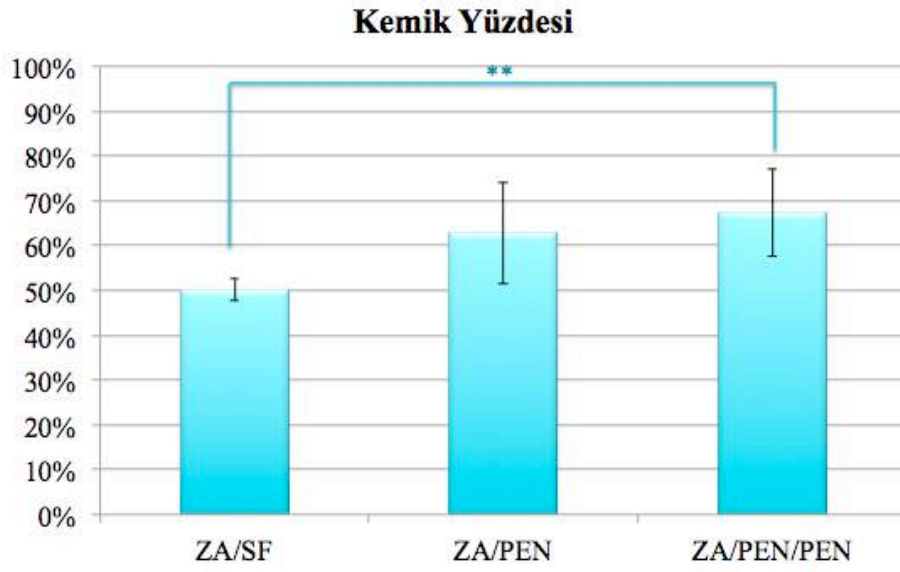


**Şekil 4.14** Kontrol grubu ile SF/PEN, ZA/SF, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupların kemik yüzdelerinin karşılaştırılması.

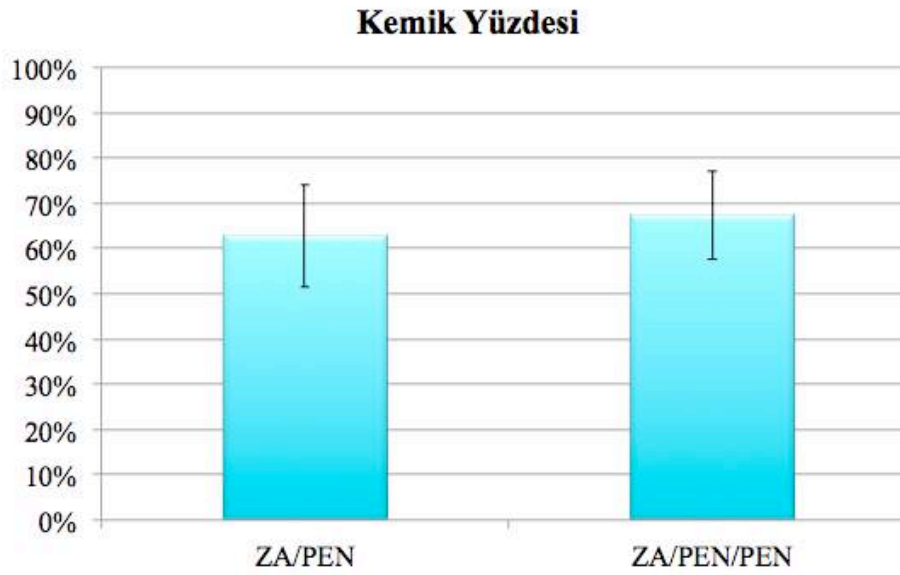


**Şekil 4.15** SF/PEN grubu ile ZA/SF, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN kemik yüzdelerinin karşılaştırılması.

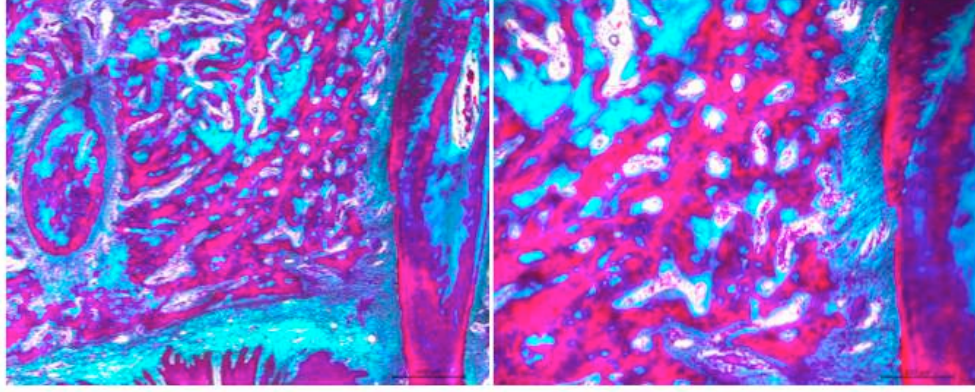




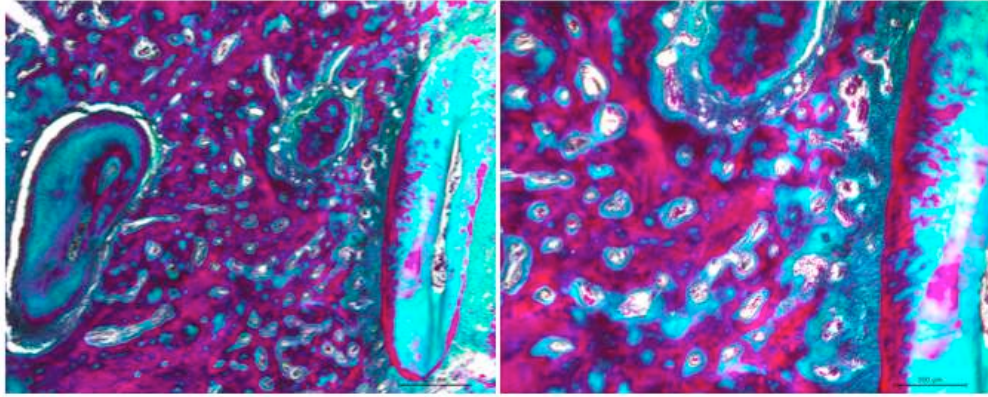
Şekil 4.16 ZA/SF grubu ile ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN kemik yüzdelerinin karşılaştırılması.



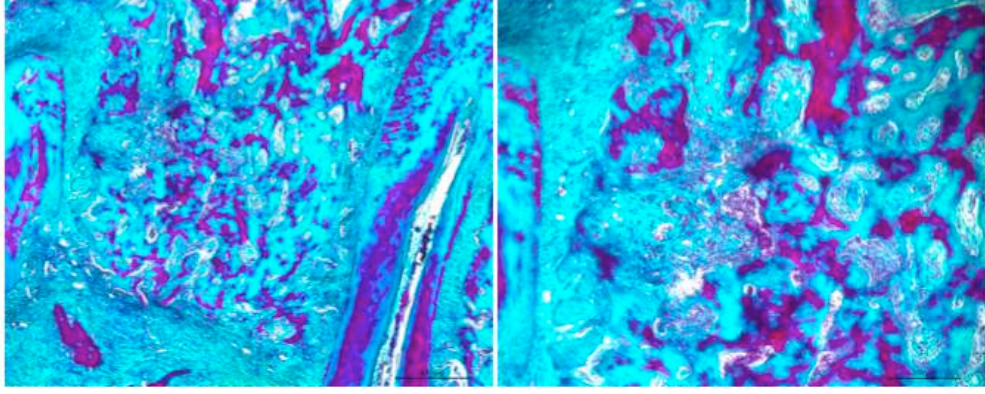
Şekil 4.17 ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarının kemik yüzdelerinin karşılaştırılması.



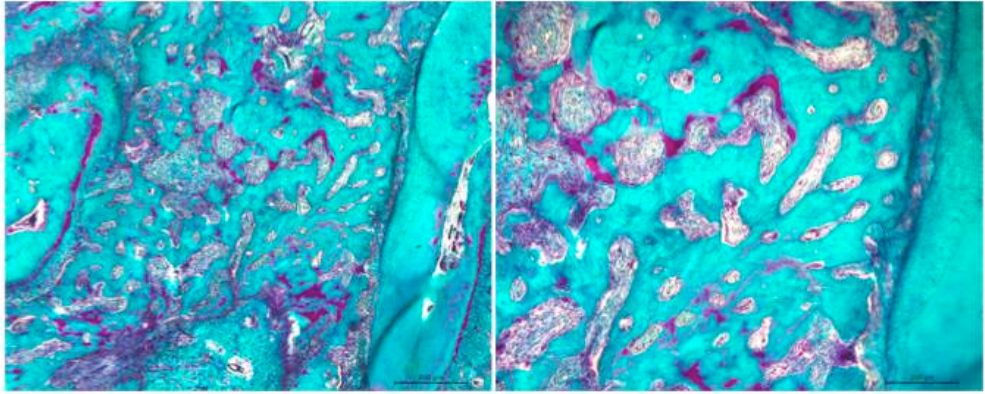
**Resim 4.6** Kontrol grubundaki bir sıçanın çekim soketine ait histolojik görüntü. Çekim soketinin yeni kemik ile dolduğu görülmektedir. (x5 ve x10 büyütme; bar=400  $\mu\text{m}$  ve bar=200  $\mu\text{m}$ ). Trikrom Masson ile boyanmıştır.



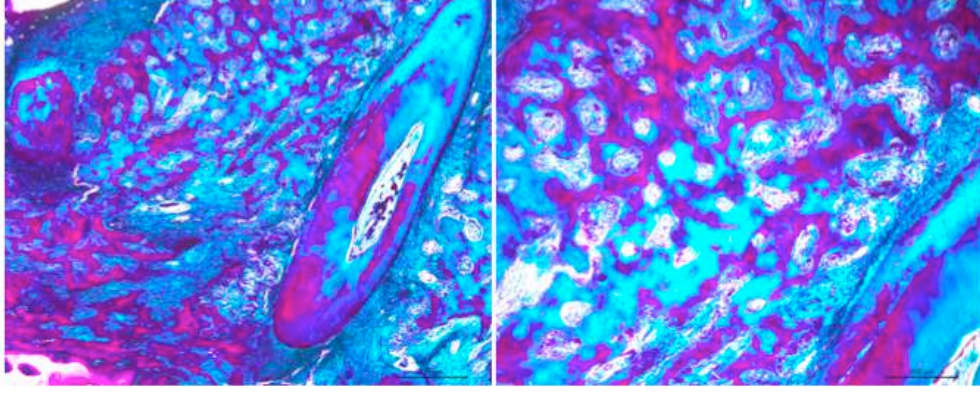
**Resim 4.7** SF/PEN grubundaki bir sıçanın çekim soketine ait histolojik görüntü. Çekim soketinin yeni kemik ile dolduğu görülmektedir. (x5 ve x10 büyütme; bar=400  $\mu\text{m}$  ve bar=200  $\mu\text{m}$ ). Trikrom Masson ile boyanmıştır.



**Resim 4.8** ZA/SF grubundaki bir sıçanın çekim soketine ait histolojik görüntü. Çekim soketinde yumuşak doku varlığı mevcuttur. Sokette sağlıklı iyileşme gerçekleşmediği görülmektedir (x5 ve x10 büyütme; bar=400  $\mu$ m ve bar=200  $\mu$ m). Trikróm Masson ile boyanmıştır.



**Resim 4.9** ZA/PEN grubundaki bir sıçanın çekim soketine ait histolojik görüntü. Kısmen iyileşmiş soketin görüntüsü (x5 ve x10 büyütme; bar=400  $\mu$ m ve bar=200  $\mu$ m). Trikróm Masson ile boyanmıştır.



**Resim 4.10** ZA/PEN/PEN grubundaki bir sıçanın çekim soketine ait histolojik görüntü. Kısmen iyileşmiş soketin görüntüsü. (x5 ve x10 büyütme; bar=400  $\mu$ m ve bar=200  $\mu$ m). Trikrom Masson ile boyanmıştır.

## 5. TARTIŞMA

Kemik mineralizasyonunun fizyolojik bir inhibitörü olan PPI'lerin stabil ve sentetik karbon analogları olan BP'ler (2), maliniteye bağlı hiperkalseminin; meme, prostat ve akciğer kanseri gibi solid tümörlere bağlı osteolitik kemik metastazlarının; multipl miyeloma bağlı osteolitik lezyonların, fibröz displazinin, osteoporozun, osteopeninin, Paget hastalığı gibi metabolik kemik hastalıklarının ve osteogenesis imperfecta gibi konjenital hastalıkların tedavisinde kullanılan etkin ve güvenilir bir ilaç grubunu oluştururlar (16, 50-71).

BP grubu ilaçlar, bahsedilen birçok durumun tedavisinde başarı ile kullanılmalarına ve hastaların hayat kalitelerini arturmalarına rağmen (86-88), ÇBON gibi birçok yan etkiyi de beraberinde getirirler. ÇBON ilk olarak 2003 yılında Marx ve arkadaşları tarafından debridman yapıldığında daha da kötüye giden ve miktarında artış görülen iyileşmeyen ekspoze kemiğe ait bir bulgu olarak tanımlanmış ve literatürde yerini almıştır (15).

Günümüzde ÇBON, patofizyolojisinde henüz fikir birliğine varılamayan; ağız, yüz ve çene cerrahisi pratiğinde tedavi edilmesi veya kontrol altına alınması gereken bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Literatürde ÇBON'un oluşmasına neden olabilecek birçok faktörden bahsedilmektedir (15, 96, 161). Buna rağmen bu durumun oluşmasında spesifik olarak rol oynayan etiyolojik faktörler tam anlamı ile anlaşılammıştır. Ayrıca ÇBON'un patogenezi ve risk faktörlerini inceleyen çalışmalar, insanlar üzerinde klinik deneylerin yapılamaması ve klinik öngörülebilirliğinin yokluğu nedeniyle kısıtlı olmaktadır. Bu nedenle, özellikle kemik metabolizması ve/veya kanser hastalarında görülen ÇBON'u taklit etmek amacıyla gerçekleştirilen hayvan modelleri etiyolojik faktörlerin ve sebeplerin anlaşılmasında önem kazanmaktadır (155).

ÇBON için yapılmış bir hayvan modelinde amaç, insanlara özdeş olacak şekilde uygulanan BP protokolünü takiben meydana gelen lezyonlarda osteonekrozun klinik durumunun taklit edilmesidir. Spesifik olarak bir hayvan modeli; AAOMS'un yayınlamış olduğu son görüş bildirgesinde olduğu gibi, radyasyon verilmeden BP tedavisi uygulanan hastada 8 haftadır iyileşmeyen çene kemiği ekspoze kriterini yerine getirmelidir (16). Ancak ekspoze kemik varlığı olmayan ÇBON lezyonları da mevcuttur. Bu çalışmalarda, nekroz varlığı ekspoze

kemik olmadan da söz konusu olabileceğinden, kesin teşhis için sert ve yumuşak dokunun histolojik incelenmesinin gerekli olduğu belirtilmektedir. (163, 164).

ÇBON etiyolojisinin ve patogenezinin anlaşılabilmesi için yapılan çalışmalarda kemirgenler (Fare; Rice, Wistar ve daha sıklıkla Sprague-Dawley cinsi sıçan) ve beagle cinsi köpek, minipig gibi daha büyük hayvan modelleri kullanılmıştır (162). Bu uzun ve kısa dönemli çalışmalarda hem IV hem de oral BP'ler kullanılmıştır. Ancak bu çalışmalarda ortak olan en büyük dezavantaj, ÇBON'un ağrı gibi subjektif bir bulgusunun gözlemlenememesidir. Bu sebepten dolayı bu modeller kullanıldığında ÇBON'un tanısı için klinik ve histolojik değerlendirme gereklidir. Günümüzde ÇBON oluşumuna yönelik standart bir hayvan modeli mevcut değildir. Ayrıca insanlar ve hayvanların kemik metabolizmasında görülen farklılıklar ve yapılan çalışmalarda herhangi bir standardizasyon olmaması ve birçok farklı sonuç elde edilmiş olması, ÇBON modeli olarak hangi hayvan modelinin kullanılması gerektiğini daha da karmaşık hale getirmektedir (113, 114, 116, 129, 165-167). Allen ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada intrakortikal remodeling baskılanmasının ÇBON'un patofizyolojisinde rol oynadığını temeli üzerinde durulmuştur. Bu sebepten dolayı bütün iskelet yapısında intrakortikal remodeling gözlenen köpekler model olarak seçilmiştir (168). Biasotto ve ark. ise kemikte defekt oluşturdukları sıçan modelini kullanmışlardır. Bu modelin en büyük avantajı sıçanların küçük hayvanlar olmalarından dolayı üretimlerinin kolay olması ve çalışmada çok sayıda hayvan kullanılabilmesidir. Ayrıca, sıçanlarda ZA gibi potensi yüksek bir BP'nin uygulanması ile ÇBON patofizyolojisinin daha iyi anlaşılabilmesi ve tedavi yöntemleri üzerinde çalışılabilmesi için güvenilir olduğu gibi tekrarlanabilir bir ÇBON modeli oluşturulabileceğini belirtmişlerdir (169).

Ayrıca diş çekimi gibi işlemlerin kolay uygulanabilirliği açısından da sıçanlar çene yüz patolojileri çalışmalarında tercih edilmektedir (162). Çalışmamızda, deney prosedürünün uygulanacağı zamana, hayvan sayısına, YÜDETAM koşullarına uygun olarak ve ÇBON modeli literatürlerle desteklenebilen Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan tercih edilmiştir.

BP'lerin uygulama yolu, dozu ve zamanı açısından birbirinden farklı birçok

hayvan çalışması bulunmaktadır. Senel ve ark. 60 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada; 0,1 mg/kg ZA haftada 3 kez olmak üzere 6 hafta ve 8 hafta boyunca IP yoldan uygulamıştır (170). Biasotto ve ark. ise ÇBON modeli geliştirmek amacıyla, 10 adet Wistar cinsi dişi sıçan üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, haftada 1 kez 0,04 mg/kg olmak üzere toplam 5 hafta boyunca IV yoldan ZA uygulamıştır. Bu çalışmada, ZA dozuna yönelik herhangi bir standardizasyona rastlanmadığı, çalışmada seçilen ZA miktarını insanlarda hematolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan doz ve insan ile sıçan arasında bulunan kemik metabolizmasındaki farklılıklar göz önüne alınarak belirlenmiştir (169). Barba-Recreo ve ark. (171) çalışmalarında, Hikita ve ark. (172); Huja ve ark. (173) yapmış oldukları çalışmalarda önerilen 0,1 mg/kg'lık ZA dozunu uygulamıştır. Barba-Recreo ve ark. yapmış olduğu çalışmada, iki gruba 0,1mg/kg ZA'yı IP yoldan haftada 3 kez uygularlarken; diğer bir gruba ise aynı dozu IV yoldan haftada 1 kez, 9 hafta boyunca sürdürmüşlerdir. IP yoldan ZA uygulanan gruplardan birinde ve IV yoldan ZA uygulanan grupta diş çekimi gerçekleştirirken; IP yoldan ZA uyguladıkları diğer grupta diş çekimi gerçekleştirmemişlerdir. Diş çekimi gerçekleştirmedikleri grupta nekroz gözlenmezken, IP yoldan ZA uygulanan ve diş çekimi gerçekleştirilen deney grubundaki nekroz oranı IV yoldan ZA uygulanan gruptan %55 daha fazla görülmüştür (171). Ersan ve ark.'nın yapmış oldukları bir çalışmada ise 6 hafta boyunca haftada 3 kez IP yoldan 0,2 mg/kg ZA uygulanmıştır (174). Atalay'ın yapmış olduğu tez çalışmasında hayvanlarda osteopeninin gelişmesi için ovariectomi yapılmış ve 4 hafta beklenmiştir. Bu 4 haftalık sürecin sonunda çalışma gruplarına 2 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg ZA ve her gün 1mg/kg deksametazon uygulanmıştır. İlk yapılan ZA dozundan iki hafta sonra sıçanların sağ maksiller ve mandibular moları çekilmiştir. Yapılan histopatolojik incelemede enflamasyon bulgularına rastlanırken, kemik sökestr varlığı gözlenmiştir (175). Dayısoylu ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada, 8 hafta boyunca haftada 3 kez IP yoldan 0,1 mg/kg ZA uygulanmıştır (176). Dayısoylu ve ark. yapmış oldukları başka bir çalışmada ise 8 hafta boyunca haftada 3 kez IP yoldan 0,1 mg/kg ZA uygulanmış ve sıçanların bu 8 hafta sonunda mandibular birinci molarlarının çekimi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada ZA uygulanan ve diş çekimi yapılan grupta hem makroskopik; hem de mikroskopik

incelemede osteonekroz bulgularına rastlanmıştır (177). Yapılmış çalışmaların tümünde ZA'nın sıçanlarda kullanımıyla ilgili belirlenmiş ortak bir doz, süre veya verilme yöntemi bulunmamaktadır.

Çalışmamızda sıçanlara uygulanacak ZA dozunun belirlenmesinde, yapılan literatür taraması sonucunda, hem makroskopik hem de mikroskopik incelemeler sonucunda osteonekroz bulgularının elde edildiği bir çalışma olan Dayısoylu ve ark. (177) yapmış olduğu çalışma örnek alınmış ve gruplar arası standardizasyonun sağlanması amacı ile; kontrol gruplarına 8 hafta boyunca haftada 3 kez IP yoldan 0,1 mg/kg steril serum fizyolojik (SF) (Grup 1 ve 2), ZA gruplarına ise 8 hafta boyunca haftada 3 kez IP yoldan 0,1 mg/kg ZA (Grup 3, 4 ve 5) uygulanmıştır.

Yapılan literatür taramasında ÇBON modellerinde, diş çekimi yapılmayan çalışmalarda sadece periodontal dokularda enflamasyon izlenip, herhangi bir osteonekroz bulgusuna rastlanmazken, diş çekiminin uygulandığı modellerin deney gruplarının histolojik incelemelerinde osteonekrotik alanlara rastlanmıştır ve BP'nin diş çekim yarasının iyileşmesi üzerinde olumsuz etkisi olduğu gösterilmiştir (114, 167-175, 177-179). Bu nedenle diş çekimi, osteonekroz oluşumunun amaçlandığı sıçan modellerinde sıklıkla uygulanmaktadır. Biasotto ve ark., dentoalveolar cerrahi uygulanan hastalarda, ÇBON gelişme riskinin 44 kat artması nedeniyle, sıçanlarda diş çekimi yaparak kemik defekti oluşturmuşlardır (166). Ayrıca AAOMS'un yayınlamış olduğu son görüş bildirgesinde de, diş çekimi gibi dentoalveolar cerrahi girişimlerin BP kullanan hastalarda, ÇBON oluşma riskini anlamlı derecede arttıran faktörler arasında yer aldığı bildirilmiştir (16). Bu nedenle biz de çalışmamızda sıçanlara uygulanan ZA sonrasında diş çekimi yapmayı tercih ettik. Literatürde ÇBON çalışılan ve diş çekimi yapılan sıçan modelleri incelendiğinde, araştırmacıların bazılarının maksiller molar çekimini; bazı araştırmacıların da mandibular molar çekimini tercih ettiğini görülmektedir. Genellikle sıçanların ya birinci molarları ya da o tarafta bulunan tüm molarlarının çekildiği görülmektedir (114, 167-175, 177-179). ÇBON'un klinik olarak daha çok mandibulada görülmesinden dolayı, diş çekimi sonrasında hayvanların beslenmesinde oluşabilecek sıkıntıların engellenmesi ve yapılması planlanan histomorfometrik incelemede çekim soketi sınırlarının belirlenmesinde birinci ve üçüncü molarların rehber olabilmesi amacı ile ikinci moların çekimi



tercih edilmiştir. Sol tarafı seçmemizdeki sebep ise aletlerin ve sıçanın manipülasyonu ve görüş alanı açısından daha rahat bir bölge olmasıydı. Biasotto ve ark. potensi en yüksek olan BP türü olarak kabul edilmekte olan ZA uygulanmasının ardından diş çekiminin osteonekroz oluşumu üzerindeki etkisinin görülebilmesi için 8 haftalık sürenin yeterli olabileceğini belirttiğinden (169), çalışmamızda diş çekimi sonrasında hayvanların sakrifikasyonuna kadar geçen süre 8 hafta olarak belirlendi.

Literatürde BP'lere ek olarak kortikosteroid kullanımı ve D vitamini eksiliği gibi etkenlerin de ÇBON oluşumunu indükleyebileceği belirtildiğinden (114, 116), çalışmamız bu tür sistemik faktörlerin eliminasyonu için ilave etkenler dahil etmeden planlandı.

Bir fosfodiesteraz inhibitörü olan PEN periferik vasodilatör bir ilaç olup kanın akışkanlığı arttırmakta ve kanın viskozitesini azaltmaktadır (150). Klinik olarak etkinliği esas olarak dokulardaki vaskülarizasyonu artırarak; dokuların oksijenasyonunu ve beslenmesini artırmasıdır (149). Ayrıca trombositlerin agregasyon yeteneğini de azaltmaktadır (149, 150).

Literatürde, PEN'in antiinflamatuvar özelliğinin esas olarak dokularda TNF- $\alpha$  üretimini engellemesine bağlı olduğu düşünülmektedir (180-184). Bunun yanı sıra PEN'in inflamatuvar durumlarda gelişen IL-1, IL-6 ve IL-10'un ekspresyonunu azalttığı, lökositlerin İnterferon- $\alpha$  üretimini indüklediği (149, 150, 153) ve nötrofil migrasyonunu engellediği bildirilmektedir (185). Maiti ve ark. PEN'in oksidatif stresi azalttığı (186), Silva ve ark. artrit modelinde ise inflamatuvar eklem hasarını azalttığını göstermişlerdir (187). Garcia ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada ise diabetik Wistar sıçanlarında PEN kullanılmasının; PEN'in TNF- $\alpha$  ve IL-6'nın ekspresyonunu engelleyerek diabete bağlı komplikasyonları azaltabileceğini ortaya koymuşlardır (188).

Abdel Salam ve ark. PEN'in antiinflamatuvar özelliklerini araştırdıkları deneyde, Sprague Dawley cinsi sıçanlarda deneysel enflamasyon modelinde PEN'in antiinflamatuvar bir ilaç olarak kullanılabilirliği; hatta nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar veya kortikosteroidler ile kombine olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (180).

Lima ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada, PEN'in oral mukozitin semptomlarını azalttığını (189), yapmış oldukları başka bir çalışmada ise alveolar kemik kaybını azalttığını bildirmektedirler (190). Queiroz - Junior ve ark. yapmış oldukları bir artrit modelinde farklı gruplara hem koruyucu hem de tedavi edici olması amacı ile; artrit yaratılmadan önce ve sonra PEN enjeksiyonu yapılmıştır. Her iki grup da artrit grubu ile karşılaştırıldıklarında PEN gruplarında anlamlı derecede, serum C-reaktif proteininin düşük olduğu ve TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-17 seviyelerini her iki grupta da anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Ancak koruyucu ve tedavi edici gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (191). PEN'in oluşturulan enflamasyon modellerinde, TNF- $\alpha$  ve sitokinleri baskılayarak, enflamasyon sürecini düzenlendiği düşünülmektedir.

Literatürde PEN'in radyoterapinin bazı yan etkilerinin eliminasyonunda da faydalı olabileceğinden bahseden çalışmalar bulunmaktadır. Aygenç ve ark., baş-boyun bölgesinde skuamoz hücreli karsinom tanısı ile opere edilmiş ve radyoterapi uygulanmış 78 hasta üzerinde yürüttükleri bir çalışmada, günlük oral 1200 mg PEN kullanımının; geç dönemde oluşan deri komplikasyonlarını, fibrozisi ve yumuşak doku toksisitesini azalttığını göstermişlerdir (192). Chua ve ark.'nın çalışmasında ise nazofarenks kanseri tanısı ile opere edilip radyoterapi uygulanan ve radyoterapi sonrasında trismus gelişen hastalara 8 hafta boyunca 800-1200 mg PEN kullanılmış ve bu 8 hafta sonucunda interinsizal açıklıklarında anlamlı derecede bir artış gözlemişlerdir (193).

PEN'in, E vitamini ( $\alpha$ -Tokoferol) ile kombine olarak kullanıldığı çalışmalardan ilki olan Delanian ve ark. tarafından yayınlanan bir çalışmada PEN ve E vitamini kombinasyonunun osteoradyonekroz (ORN) tedavisinde kullanabileceği öne sürülmüştür (156). Yine aynı çalışmacıların yaptıkları bir çalışmada PEN ve E vitamini kombinasyonunun ortalama  $13.4 \pm 8$  mm ekspoz olmuş ORN tedavisinde kullanmışlar ve ileri vakalarda ise tedaviye bir BP grubu ilaç olan klondronatı da eklemişlerdir. Çalışmanın sonucunda bu tedavi kombinasyonunun ortalama 6 ay içerisinde hastaların % 89'unda tamamen iyileşme görüldüğü bildirilmiştir (157). PEN, E vitamini ve klondronatın kombine olarak kullanımının ORN lezyonlarının tedavisinde geçerli yöntem olduğu da belirtilmektedir (158).

PEN'in ayrıca kemik iyileşmesine pozitif yönde katkısının olduğunun bildirildiği çalışmalar da mevcuttur. Horiuchi ve ark. farelerde yapmış oldukları bir çalışmada 3 hafta boyunca günde en az 50 mg/kg subkutan PEN enjeksiyonunun BMP-2'yi indükleyerek yeni kemik oluşumunun arttırdığı ve oluşan yeni kemikteki kalsiyum konsantrasyonunun PEN verilmeyen gruba göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu bildirilmiştir (153). Tsutsumimoto ve ark. yapmış oldukları in vitro bir çalışmada ise, PEN'in siklik adenozin monofosfat (cAMP) sinyal yolu ile BMP-4 seviyesini arttırdığı ve böylece osteoprogenitor hücrelerin farklılaşmasını indükleyerek yeni kemik oluşumunu arttıyor olabileceği belirtilmiştir (154). Aydın ve ark. sıçanlar üzerinde oluşturdukları bir kırık modelinde, kırık oluşturulduktan sonra sıçanlar 1, 2 ve 3 hafta olmak üzere günde 50 mg/kg PEN enjekte edilmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre ise PEN'in özellikle erken dönem kırık iyileşmesinde, iyileşmeyi hızlandırıcı bir ajan olabileceği sonucuna varılmıştır (155).

Çalışmamızda, PEN kullanımının antiinflamatuvar etkisinin, yeni kemik oluşumuna ve dokuların beslenmesine pozitif etkisinin ÇBON tedavisinde ve/veya profilaksisinde rolünün incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan sıçanların çalışma başlangıcında, diş çekiminden önce (8. Hafta), grupların SF ve PEN enjeksiyonları bitiminde (11. Hafta) ve sakrifikasyondan önce (16. Hafta) vücut ağırlıkları kaydedilmiştir. Yapılan ağırlık ölçümlerinde, başlangıç ölçümünde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $p=0,043$ ). Diş çekimi, tedavi bitimi ve sakrifikasyon öncesi yapılan vücut ağırlık ölçümlerinde, sıçanların vücut ağırlık ortalamalarında artış gözlenmiş ancak zamana göre ağırlık değişimleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Çalışmamız sıçanların vücut ağırlıkları artışı açısından literatürdeki diğer çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Yamashita ve ark., farklı dozlarda ZA uyguladıkları Sprague Dawley cinsi sıçanlarda, 14 haftalık bir süre sonunda çalışma grupları ile kontrol grupları arasında sıçanların vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemişlerdir (194). Aghaloo ve ark., periodontal hastalık modeli oluşturdukları ve 15 hafta boyunca ZA uyguladıkları Sprague-Dawley cinsi sıçanlara haftada 3 kere vücut ağırlık ölçümü yapmışlar ve kontrol grubuyla

kiyasladıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlamadıklarını bildirmişlerdir (125). Sonis ve ark., Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda ÇBON modeli oluşturmayı amaçladıkları çalışmalarında her gün vücut ağırlık ölçümü yapmış; fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlamamışlardır (116).

Histopatolojik açıdan bizim çalışmamıza baktığımızda: kontrol grubu ile SF/PEN grubu; enflamasyon ( $p=0,127$ ), vaskülarizasyon ( $p=1$ ), kanama ( $p=1$ ) ve rejenerasyon ( $p=1$ ) açısından karşılaştırıldıklarında, bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu durum PEN'in sağlık durumunda, yani ZA verilmeyen sıçanlarda histopatolojik olarak bu parametrelere bir etkisinin olmadığını desteklemektedir.

Kontrol grubu ile ZA/SF grubu ile karşılaştırıldığında ise enflamasyon ( $p=0,013$ ), vaskülarizasyon ( $p=0,022$ ), kanama ( $p=0,025$ ) ve rejenerasyon ( $p=0,008$ ) açısından, istatistiksel olarak her bir parametrede anlamlı fark bulunmuştur. Bu bulgular ve ÇBON'un patogenezinde enflamasyonun rolü düşünüldüğünde (72), ZA'nın enflamatuvar reaksiyonun aşırı uyarılmasına sebep olarak, bölgedeki ödemi arttırdığı; bu ödemin mikropillerde staza sebep olarak ve yara bölgesindeki beslenmeyi bozarak, rejenerasyonu engellemiş olabileceği görüşünü desteklemektedir. Kanama odakları ise birçok çalışmada da (109,110,117,119) belirtildiği üzere ZA'nın anjiogenez sürecini bozmasına bağlanmıştır.

ZA/SF grubu, diş çekimi sonrasında PEN uygulanan ZA/PEN grubu ile karşılaştırıldığında, enflamasyon ( $p=0,536$ ), vaskülarizasyon ( $p=0,642$ ), kanama ( $p=0,765$ ) ve rejenerasyon ( $p=0,127$ ) açısından bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ZA/SF grubu diş çekimi öncesinde koruyucu olarak bir hafta PEN uygulanan ve diş çekiminden sonra üç hafta PEN enjeksiyonu devam edilen ZA/PEN/PEN grubu ile karşılaştırıldığında ise, enflamasyon ( $p=0,017$ ), vaskülarizasyon ( $p=0,04$ ), kanama ( $p=0,044$ ) ve rejenerasyon ( $p=0,04$ ) açısından, tüm bulgularda anlamlı bir fark izlenmiştir. Bu bulgular, tedavi amaçlı verilen PEN'in (ZA/PEN), enflamasyona ve buna bağlı diğer durumlara iyileştirici yönde etkisi bulunmasına rağmen tedavi edici değildir. Ancak diş çekimi yapılmadan 1 hafta önce verilip sonrasında da 3 hafta devam

edilen PEN'in (ZA/PEN/PEN) koruyucu ve tedavi edici etkisi bulunmaktadır. Queiroz-Junior ve ark. yapmış oldukları bir artrit modelinde farklı gruplara hem koruyucu hem de tedavi edici olması amacı ile; artrit yaratılmadan önce ve sonra PEN enjeksiyonu yapılmıştır. Ancak bu çalışmada her iki tedavi grubunun enflamasyona etkileri, hastalık grubu ile karşılaştırıldıklarında; her iki grubun da hastalık grubuna olan etkisi aynı bulunmuştur (191). Biz çalışmamızda tedavi amaçlı verilen PEN'i (ZA/PEN) diş çekiminden, yani enflamatuvar süreç tetiklendikten sonra 3 hafta boyunca verdik. Profilaksi grubunda ise (ZA/PEN/PEN), diş çekiminden bir hafta önce başlayarak, diş çekiminden sonra 3 hafta daha devam ettik. Osteonekroz oluşma nedenlerinin başında BP kullanan hastalara uygulanan diş çekimi, periodontal cerrahi gibi dentoalveolar cerrahi işlemler gelmektedir (16). Uygulanan bu işlemler bir anlamda dokularda travma teşkil ederler ve enflamasyona neden olurlar. ZA kullanımının sağlıklı doku da bile enflamasyona neden olduğu bilinmektedir (171). Çalışmamızın tedavi gruplarındaki bu bulgu farklılıklarını, diş çekimi ile enflamatuvar süreç tetiklenmeden önce verilen PEN'in, henüz ZA'nin etkisi ile şiddetli bir enflamasyon cevabı oluşmadan verildiğinde, enflamatuvar süreci düzenleyerek, iyileşmeye pozitif yönde katkısının olabileceğine bağladık. Diş çekimi ile bölgede oluşan şiddetli enflamatuvar reaksiyon, bölgede ödemin de şiddetli olmasına, böylece dolaşımın bozulmasına neden olabileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle, ZA/SF ile ZA/PEN grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmamış olması; enflamatuvar süreç başladıktan sonra verilen PEN'in her ne kadar iyileşmeyi pozitif yönde etkilemiş olsa bile tedavi edici olamayabileceği görüşünü desteklemektedir.

Histomorfometrik bulgular incelendiğinde, bu bulguların da histopatolojik bulgular ile paralel olduğu görülmektedir. Grupların total kemik hacimleri incelendiğinde; Kontrol grubu ile SF/PEN, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları arasında anlamlı bir fark izlenmiştir (Sırası ile:  $p=0,009$ ;  $p=0,01$ ;  $p=0,002$ ). ZA/SF grubunun total kemik hacmi tedavi grupları ile karşılaştırıldığında ise ZA/SF grubunun, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN gruplarına göre anlamlı olarak daha yüksek total kemik hacmine sahip olduğu izlenmiştir (Sırası ile:  $p=0,006$ ;  $p=0,001$ ) Bu durum PEN'in hem sağlıklı hem de ZA enjekte edilen sıçanların diş çekim

soketindeki kemiğin toplam hacmini azalttığını göstermektedir. Yara iyileşmesinde kontraksiyon evresi iyileşen dokunun nihai şeklini ve hacmini belirleyen önemli bir basamaktır (195). Kontraksiyon evresi yara iyileşmesinin yaklaşık yedinci gününde gerçekleşir (196). Babei ve ark.'nın diyabetik sıçanlarda yapmış oldukları bir yara iyileşmesi modelinde, PEN enjeksiyonu yapılmayan grup ile PEN enjeksiyonu yapılan grubun karşılaştırılmasında; yara iyileşmesinin yedinci gününde PEN enjeksiyonu yapılmayan grupta kontraksiyonun PEN enjeksiyonu yapılan gruba göre histolojik olarak daha az görüldüğünü bildirmişlerdir. Aynı çalışmada PEN enjeksiyonu gerçekleştirilen ve gerçekleştirilmeyen grup yara iyileşme bölgesindeki fibroblast sayısı ve neovaskülarizasyon açısından karşılaştırıldıklarında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bildirilmiştir (197). Çalışmamız PEN'in yara bölgesindeki iyileşmeyi hızlandırarak, yara iyileşmesinin kontraksiyon evresinde dış çekim socketinin hacmini küçültmüş olabileceği görüşünü desteklemektedir. Kontrol grubu ile ZA/SF grubu arasında total kemik hacmi açısından anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=0,999$ ). SF/PEN grubu tedavi grupları ile karşılaştırıldığında ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları ile arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (Sırası ile:  $p=1$ ;  $p=0,967$ ). Bu bulgular ZA enjeksiyonunun dış çekim socketinin total kemik hacmi üzerinde bir etkisi olmadığını düşündürmüştür.

Gruplar arasında dış çekim socketlerindeki kemik yüzdeleri karşılaştırıldığında ise; kontrol grubu ile SF/PEN, ZA/PEN ve ZA/PEN/PEN grupları arasında anlamlı bir fark izlenmemiş (Sırası ile:  $p=0,935$ ;  $p=0,108$ ;  $p=0,530$ ); ZA/SF grubu ile karşılaştırıldığında ise anlamlı derecede yüksek kemik yüzdesine sahip olduğu görülmüştür ( $p<0,001$ ). ZA/SF grubunun yeni kemik oluşumu tedavi gruplarınınki ile karşılaştırıldığında, ZA/SF grubu ile ZA/PEN grubunun arasında anlamlı bir fark bulunmadığı ( $p=0,69$ ); ZA/PEN/PEN grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunduğu görülmüştür ( $p=0,008$ ). PEN sağlıklı dokuda kullanıldığında, dış çekimi sonrasında kemikleşmeyi arttırmaktadır; fakat istatistiksel olarak bir anlam teşkil etmemektedir. Kontrol grubu ile ZA/SF grubu karşılaştırıldığında çıkan anlamlı fark, ZA'nın dış çekim socketlerinde yeni kemik oluşumunu, yani iyileşmeyi engellediğini ortaya koymaktadır ve bu birçok yapılmış olan ÇBON hayvan modeli sonuçları ile paralellik göstermektedir (113, 114, 116, 129, 161-163). ZA/SF

grubunun kemik yüzdesi tedavi grupları ile karşılaştırıldığında, ZA/SF grubu ile ZA/PEN grubunun arasında anlamlı bir fark bulunmadığı ( $p=0,69$ ); ZA/PEN/PEN grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunduğu görülmüştür ( $p=0,008$ ). ZA/PEN grubunun, ZA uygulanan sıçanların diş çekim socketinde her ne kadar yeni kemik oluşumunun arttırıp iyileşmeyi pozitif yönde etkilese de anlamlı olarak tedavi edici olmadığı; proflaktik olarak PEN verilen ZA/PEN/PEN grubunda ise kemik iyileşmesi açısından hem proflaktik hem de tedavi edici olabileceği sonucuna varılmıştır. Tüm bulgulara genel olarak bakıldığında diş çekiminden bir hafta önce PEN uygulanmasının ZA uygulanan sıçanlarda enflamatuvar reaksiyonu optimum hale getirerek iyileşmeyi pozitif yönde etkilediği söylenebilir.

## 6. SONUÇLAR

- Çalışmamız pentoksifilin çenelerin bifosfonata bağlı osteonekrozuna proflaktik ve terapötik etkisinin incelendiği ilk deneysel çalışmadır.
- Çalışmamızda sistemik olarak bifosfonat uygulanan hayvanların histolojik değerlendirmesinde, sistemik verilen pentoksifilin enflamatuvar süreç tetiklendikten sonra, yani diş çekiminden sonra, yeni kemik yapımı ve enflamasyon üzerinde pozitif yönde etkisinin olduğu; fakat proflaktik ve/veya terapötik bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Diş çekiminden bir hafta önce sistemik verilen pentoksifilin ise enflamasyonu düzenleyerek; bifosfonatlar tarafından bozulan kemik iyileşmesini tedavi edici seviyede düzelttiği sonucuna varılmıştır. Diş çekimi öncesinde sistemik olarak verilen pentoksifilin hem proflaktik hem de tedavi edici olabileceği sonucuna varılmıştır.
- Pentoksifilin kemik iyileşmesi üzerinde pozitif ve hızlandırıcı bir etkisi bulunmaktadır.
- Çalışmamızda pentoksifilin üç ve dört hafta boyunca sürekli enjeksiyon şeklinde yapılmıştır. Bu yöntemin hem deneysel çalışmalarda; hem de klinik çalışmalarda zorluk yaratabileceği düşünüldüğünden, enjeksiyon sayısının azaltığı ve yeniden doz ayarlamasının yapıldığı başka çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz.



## 7. KAYNAKÇA

1. Menschutkin, M. Über die Einwirkung des Chloracetyles auf phosphorige Säure. *Ann Chem Pharm*, 133:317-320, 1865'ten naklen Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone* 2011;49(1):2-19.
2. Rogers M J, Gordon S, Benford H L, Coxon F P, Luckman S P, Monkkonen J, Frith J C. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer*, (Suppl 12) 2000;88:2961-78.
3. Blomen LJMJ. In: Bisphosphonates on bones. Bijvoet OLM, Fleisch HA, Canfield RE, Russell RGG, editor. Amsterdam: Elsevier; 1995;5 History of the bisphosphonates: discovery and history of the non-medical uses of bisphosphonates; pp. 111-124.
4. Russell RG, Xia Z, Dunford JE, Oppermann U, Kwaasi A, Hulley PA, Kavanagh KL, Triffitt JT, Lundy MW, Phipps RJ, Barnett BL, Coxon FP, Rogers MJ, Watts NB, Ebetino FH. Bisphosphonates: an update on mechanisms of action and how these relate to clinical efficacy. *Ann NY Acad Sci* 2007;1117:209-257.
5. Bassett CAL, Donath A, Macagno F, Preisig R, Fleisch H, Francis MD. Diphosphonates in the treatment of myositis ossificans. *Lancet*, 18;2(7625):845, 1969'dan naklen Fleisch H. Bisphosphonates: Mechanism of Action. *Endocrine Reviews* 1998;19(1):80-100.
6. Smith R, Russell RG, Bishop M. Diphosphonates and Paget's disease of bone. *Lancet*, 8;1(7706):945-7, 1971'den naklen Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone* 2011;49(1):2-19.
7. Baeyer HV, Hofmann KA. Acetodiphosphorige Säure. *Beitr Dtsch Chem Ges*, 20:1973-78, 1897'den naklen Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone* 2011;49(1):2-19.
8. Fleisch HA, Russell RG, Francis M. Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science*, 165:1262-64, 1969'dan naklen Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone* 2011;49(1):2-19.

9. Fleisch HA, Russell RG, Bisaz S, Mühlbauer RC, Williams DA. The inhibitory effect of phosphonates on the formation of calcium phosphate crystals in vitro and on aortic and kidney calcification in vivo. *Eur J Clin Invest* 1970;1:12-18.
10. Reid IR. Anti-resorptive therapies for osteoporosis. *Semin Cell Dev Biol* 2008;19:473- 478.
11. Jung A, Bisaz S, Fleisch H. The binding of pyrophosphate and two diphosphonates by hydroxyapatite crystals. *Calcif Tissue Res* 1973;11: 269-280,.
12. Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev* 1998;19: 80-100.
13. Russell RG, Croucher PI, Rogers MJ. Bisphosphonates: pharmacology, mechanisms of action and clinical uses. *Osteoporos Int* 1999;9 Suppl 2: S66-80.
14. Lacy CF, Armstrong LL, Goldman Mp, Lance LL. Drug Information Handbook. Lexi-Comp. Inc P.:53-54, 2003.
15. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61(9):1115- 1117.
16. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Gordday R, Aghaloo T, Mehrotra B, O’Ryan F. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw–2014 Update. *J Oral Maxillofac Surg* 2014;72(10):1938–1956.
17. Lacy CF, Armstrong LL, Goldman Mp, Lance LL. Drug Information Handbook. Lexi-Comp. Inc P.:53-54, 2003.
18. Kayaalp SO. Kalsiyotropik İlaçlar. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji’ de, Editör: S.O Kayaalp, 13.Baskı, Pelikan Yayıncılık, Ankara 2012, s:1178-1181.
19. Sato M. Bisphosphonate action: alendronate localization in rat bone osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest* 1991;88: 2095-2105. 25.
20. Masarachia P, Weinreb M, Balena R, Rodan GA. Comparison of the distribution of 3H-alendronate and 3H-etidronate in rat and mouse bones. *Bone* 1996;19: 281-290.
21. Lin JH. Bisphosphonates: A review of their pharmacokinetic properties. *Bone* 1996;18: 75-85.

22. Flanagan AM, Chambers TJ. Inhibition of bone resorption by bisphosphonates: interactions between bisphosphonates, osteoclasts, and bone. *Calcif Tissue Int* 1991;49: 407-415.
23. Boonekamp PM, van der Wee-Pals LJ, van Wijk-van Lennep MM, Thesing CW, Bijvoet OL. Two modes of action of bisphosphonates on osteoclastic resorption of mineralized matrix. *Bone Miner* 1986;1: 27-39. 29.
24. Colucci S, Minielli V, Zambonin G, Cirulli N, Mori G, et al. Alendronate reduces adhesion of human osteoclast-like cells to bone and bone protein-coated surfaces. *Calcif Tissue Int* 1998;63: 230-235. 30.
25. Piper K, Boyde A, Jones SJ. The effect of 3-amino-1-hydroxypropylidene-1,1-bisphosphonate (ADP) on the resorptive function of osteoclasts of known nuclear number. *Calcif Tissue Int* 1994;54: 56-61.167
26. Hughes DE, Wright KR, Uy HL, Sasaki A, Yoneda T, et al. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res* 1995;10: 1478-1487.
27. Reszka AA, Halasy-Nagy JM, Masarachia PJ, Rodan GA. Bisphosphonates act directly on the osteoclast to induce caspase cleavage of mst1 kinase during apoptosis. A link between inhibition of the mevalonate pathway and regulation of an apoptosis-promoting kinase. *J Biol Chem* 1999;274: 34967-34973.
28. Fournier P, Boissier S, Filleur S, Guglielmi J, Cabon F, et al. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res* 2002;62: 6538-6544.
29. Ledoux D, Hamma-Kourbali Y, Di Benedetto M, Foucault-Bertaud A, Oudar O, et al. A new dimethyl ester bisphosphonate inhibits angiogenesis and growth of human epidermoid carcinoma xenograft in nude mice. *Anticancer Drugs* 2006;17: 479-485.
30. Rogers MJ, Watts DJ, Russell RG. Overview of bisphosphonates. *Cancer* 1997;80: 1652-1660.

31. Sparidans RW, Twiss IM, Talbot S. Bisphosphonates in bone diseases. *Pharm World Sci* 1998;20:206-213.
32. Fleisch H. Development of bisphosphonates. *Breast Cancer Res* 2002;4:30- 34.
33. Green JR. Bisphosphonates: preclinical review. *Oncologist* 2004;9:4:3-13.
34. Frith JC, Monkkonen J, Auriola S, Monkkonen H, Rogers MJ. The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption and causes osteoclast and macrophage apoptosis. *Arthritis Rheum* 2001;44: 2201-2210.
35. Luckman SP, Coxon FP, Ebetino FH et al. Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J744 macrophages. *J Bone Miner Res* 1998;13:1668-1678.
36. Roelofs AJ, Thompson K, Gordon S, Rogers MJ. Molecular mechanisms of action of bisphosphonates: current status. *Clin Cancer Res* 2006;12: 6222s-6230s.
37. Amin D, Cornell SA, Perrone MH, Bilder GE. 1-Hydroxy-3-(methylpentylamino)-propylidene-1,1-bisphosphonic acid as a potent inhibitor of squalene synthase. *Arzneimittel-Forschung* 1996;46: 759-762.
38. Amin D, Cornell SA, Gustafson SK, Needle SJ, Ullrich JW, et al. Bisphosphonates used for the treatment of bone disorders inhibit squalene synthase and cholesterol biosynthesis. *J Lipid Res* 1992;33: 1657- 1663.
39. Gibbs JB, Oliff A. The potential of farnesyltransferase inhibitors as cancer chemotherapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997;37: 143- 166.
40. Clark EA, King WG, Brugge JS, Symons M, Hynes RO. Integrin-mediated signals regulated by members of the rho family of GTPases. *J Cell Biol* 1998;142: 573-586.

41. Ridley AJ, Hall A. The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 1992;70: 389-399.
42. Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, Diekmann D, Hall A. The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 1992;70: 401-410.
43. Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Graham R, Russell G, et al. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res* 1998;13: 581-589.
44. Russell RG, Watts NB, Ebitino FH, Rogers MJ. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporis Int* 2008;19: 733-759.
45. Santini D. Pamidronate induces modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res* 2002;8: 1080-1084.
46. Vincenzi B, Santini D, Rocci L, Tonini G. Bisphosphonates: new antiangiogenic molecules in cancer treatment? *Ann Oncol* 2003;14: 806-807.
47. Kapitola J, Zak J. Effect of pamidronate on bone blood flow in oophorectomized rats. *Physiol Res* 1998;47: 237-240.
48. Cackowski FC, Anderson JL, Patrene KD, Choksi RJ, Shapiro SD, et al. Osteoclasts are important for bone angiogenesis. *Blood* 2010;115: 140-149.
49. Schoutens A VM, L Hermite M, Tricot A, Verschaeren A, Dourov N, Heilporn A. Increase of bone blood flow, an initial step of bone demineralization in the rat. *Calcif Tiss Int* 1984;36: 53.
50. Nussbaum SR, Younger J, Vandepol CJ, et al: Single-dose intravenous therapy with pamidronate for the treatment of hypercalcemia of malignancy: comparison of 30-, 60-, and 90-mg dosages. *Am J Med* 1993;95:297.

51. Major P, Lortholary A, Hon J, et al: Zoledronic acid is superior to pamidronate in the treatment of hypercalcemia of malignancy: a pooled analysis of two randomized, controlled clinical trials. *J Clin Oncol* 2001;19:558.
52. Hortobagyi GN, Theriault RL, Porter L, et al: Efficacy of pamidronate in reducing skeletal complications in patients with breast cancer and lytic bone metastases. Protocol 19 Aredia Breast Cancer Study Group. *N Engl J Med* 1996;335:1785.
53. Hortobagyi GN, Theriault RL, Lipton A, et al: Long-term prevention of skeletal complications of metastatic breast cancer with pamidronate. Protocol 19 Aredia Breast Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1998;16:2038.
54. Hillner BE, Ingle JN, Chlebowski RT, et al: American Society of Clinical Oncology 2003 update on the role of bisphosphonates and bone health issues in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:4042.
55. Saad F, Gleason DM, Murray R, et al: A randomized, placebo-controlled trial of zoledronic acid in patients with hormone-refractory metastatic prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1458.
56. Saad F, Gleason DM, Murray R, et al: Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:879.
57. Rosen LS, Gordon D, Tchekmedyian NS, et al: Long-term efficacy and safety of zoledronic acid in the treatment of skeletal metastases in patients with nonsmall cell lung carcinoma and other solid tumors: a randomized, Phase III, double-blind, placebo-controlled trial. *Cancer* 2004;100:2613.
58. Berenson JR, Lichtenstein A, Porter L, et al: Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. Myeloma Aredia Study Group. *N Engl J Med* 1996;334:488.

59. Berenson JR, Lichtenstein A, Porter L, et al: Long-term pamidronate treatment of advanced multiple myeloma patients reduces skeletal events. Myeloma Aredia Study Group. *J Clin Oncol* 1998;16:593.
60. 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.
61. Berenson JR, Hillner BE, Kyle RA, et al: American Society of Clinical Oncology clinical practice guidelines: the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2002;20:3719.
62. Diel IJ, Solomayer EF, Bastert G. Bisphosphonates and the prevention of metastasis: first evidences from preclinical and clinical studies. *Cancer* 2000;88: 3080-3088.
63. Senaratne SG, Pirianov G, Mansi JL, Arnett TR, Colston KW. Bisphosphonates induce apoptosis in human breast cancer cell lines. *Br J Cancer* 2000;82: 1459-1468.
64. Tassone P, Forciniti S, Galea E, Morrone G, Turco MC, et al. Growth inhibition and synergistic induction of apoptosis by zoledronate and dexamethasone in human myeloma cell lines. *Leukemia* 2000;14: 841- 844.
65. Liberman UA, Weiss SR, Broll J, Minne HW, Quan H, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *N Engl J Med* 1995;333: 1437-1443.
66. Bone HG, Hosking D, Devogelaer JP, Tucci JR, Emkey RD, et al. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2004;350: 1189-1199.

67. Hochberg MC, Greenspan S, Wasnich RD, Miller P, Thompson DE, et al. Changes in bone density and turnover explain the reductions in incidence of nonvertebral fractures that occur during treatment with antiresorptive agents. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87: 1586-1592.
68. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet* 1996;348: 1535-1541.
69. Black DM (1996) Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet* 348: 1535-1541.
70. Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, et al. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2007;356: 1809-1822.
71. Reid IR. Comparison of a single infusion of zoledronic acid with risedronate for Paget's disease. *N Engl J Med* 2005;353: 898-908.
72. Conte P, Guarneri V. Safety of intravenous and oral bisphosphonates and compliance with dosing regimens. *Oncologist* 9 Suppl 2004;4: 28-37.
73. Strampel W, Emkey R, Civitelli R. Safety considerations with bisphosphonates for the treatment of osteoporosis. *Drug Safety : an international journal of medical toxicology and drug experience* 2007;30: 755-763.
74. Adami S, Zamberlan N. Adverse effects of bisphosphonates. A comparative review. *Drug Safety : an international journal of medical toxicology and drug experience* 1996;14: 158-170.
75. Hewitt RE, Lissina A, Green AE, Slay ES, Price DA, et al. The bisphosphonate acute phase response: rapid and copious production of proinflammatory cytokines by peripheral blood gd T cells in response to aminobisphosphonates is inhibited by statins. *Clin Exp Immunol* 2005;139: 101- 111.



76. Markowitz GS. Toxic acute tubular necrosis following treatment with zoledronate (Zometa). *Kidney Int* 2003;64: 281-289.
77. Bounameaux HM, Schifferli J, Montani JP, Jung A, Chatelanat F. Renal failure associated with intravenous diphosphonates. *Lancet* 1983;1: 471.
78. Black DM Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2007;356: 1809-1822.
79. Cummings SR, Schwartz A V , Black DM. Alendronate and atrial fibrillation. *The N Engl J Med* 2007;356: 1895-1896.
80. Heckbert SR, Li G, Cummings SR, Smith NL, Psaty BM. Use of alendronate and risk of incident atrial fibrillation in women. *Arch Intern Med* 2008;168: 826-831.
81. Aviles RJ, Martin DO, Apperson-Hansen C, Houghtaling PL, Rautaharju P, et al. Inflammation as a risk factor for atrial fibrillation. *Circulation* 2003;108: 3006-3010.
82. Boos CJ, Anderson RA, Lip GY. Is atrial fibrillation an inflammatory disorder? *Eur Heart J* 2006;27: 136-149.
83. Dicuonzo G, Vincenzi B, Santini D, Avvisati G, Rocci L, et al. Fever after zoledronic acid administration is due to increase in TNF-alpha and IL-6. *J Interferon Cytokine Res: the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 2003;23: 649-654.
84. McKague M, Jorgenson D, Buxton KA. Ocular side effects of bisphosphonates: A case report and literature review. *Can Fam Physician*. 2010 Oct;56(10):1015-7.
85. Etminan M, Forooghian F, Maberley D. Inflammatory ocular adverse events with the use of oral bisphosphonates: a retrospective cohort study. *CMAJ*. 2012 May; 15;184(8):E431-4. doi: 10.1503/cmaj.111752.

86. Endo N. QOL evaluation for osteoporosis. *Clin Calcium*. 2012;22(6):845-851.
87. Kerschhan-Schindl K, Patsch J, Kudlacek S, Gleiss A, Pietschmann P. Measuring quality of life with the German Osteoporosis Quality of Life Questionnaire in women with osteoporosis. *Wien Klin Wochenschr*. 2012;124(15-16):532-537.
88. Wilson S, Sharp CA, Davie MW. Health-related quality of life in patients with osteoporosis in the absence of vertebral fracture: a systematic review. *Osteoporos Int*. 2012;23(12):2749-2768.
89. Marx RE. Uncovering the cause of "phossy jaw" Circa 1858 to 1906: oral and maxillofacial surgery closed case files-case closed. *J Oral Maxillofac Surg: official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 2008;66: 2356-2363.
90. Miles AE. Phosphorus necrosis of the jaw: 'phossy jaw'. *Br Dent J* 1972;133: 203-206.
91. Demerjian N, Bolla G, Spreux A. Severe oral ulcerations induced by alendronate. *Clinical rheumatology* 1999;18: 349-350.
92. de Groen PC, Lubbe DF, Hirsch LJ, Daifotis A, Stephenson W, et al. Esophagitis associated with the use of alendronate. *N Engl J Med* 1996;335: 1016-1021.
93. Migliorati CA. Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. *J Clin Oncol : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2003;21: 4253-4254.
94. Wang J, Goodger NM, Pogrel MA. Osteonecrosis of the jaws associated with cancer chemotherapy. *J Oral Maxillofac Surg: official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 2003;61: 1104-1107.
95. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65: 369-376.

96. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, et al: American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--2009 update. *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67:2.
97. Aghaloo TL, Chaichanasakul T, Bezouglaia O, Kang B, Franco R, Dry SM, Atti E, Tetradis S. Osteogenic potential of mandibular vs. long-bone marrow stromal cells. *J Dent Res*. 2010;89(11):1293-1298.
98. Niibe K, Ouchi T, Iwasaki R, Nakagawa T, Horie N. Osteonecrosis of the jaw in patients with dental prostheses being treated with bisphosphonates or denosumab. *J Prosthodont Res*. 2014. pii: S1883-1958(14)00091-7.
99. O'Halloran M, Boyd N, Smith A. Denosumab and osteonecrosis of the jaws - the pharmacology, pathogenesis and a report of two cases. *Aust Dent J*. 2014 Aug 16. doi: 10.1111/adj.12217.
100. Vyas S, Hameed S, Murugaraj V. Denosumab-associated osteonecrosis of the jaw--a case report. *Dent Update*. 2014;41(5):449-450.
101. Serra E, Paolantonio M, Spoto G, Mastrangelo F, Tetè S, Dolci M. Bevacizumab- related osteonecrosis of the jaw. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2009;22(4):1121- 1123.
102. Van Poznak C. Osteonecrosis of the jaw and bevacizumab therapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;122(1):189-191.
103. Koch FP, Walter C, Hansen T, Jäger E, Wagner W. Osteonecrosis of the jaw related to sunitinib. *Oral Maxillofac Surg*. 2011;15(1):63-66.
104. Tsurushima, H., Kokuryo, S., Sakaguchi, O., Tanaka, J., Tominaga, K. Bacterial promotion of bisphosphonate-induced osteonecrosis in Wistar rats. *Int J Oral Maxillofac. Surg* 2013;42, 1481–1487.
105. Abu-Id, M.H., Warnke, P.H., Gottschalk, J, Springer, I, Wiltfang, J, Acil, Y et al. Bis-phosphy jaws” — high and low risk factors for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Craniomaxillofac Surg* 2008;36, 95–103.

106. Marx, R.E., 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.
107. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, et al: Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62:527.
108. Reid IR, Bolland MJ, Grey AB: Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity? *Bone* 2007;41:318.
109. Allen MR, Burr DB: The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: so many hypotheses, so few data. *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67:61.
110. Landesberg R, Woo V, Cremers S, et al: Potential pathophysiological mechanisms in osteonecrosis of the jaw. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1218:62.
111. Yamashita J, McCauley LK: Antiresorptives and osteonecrosis of the jaw. *J Evid Based Dent Pract* 2012;12:233.
112. 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.
113. Bi Y, Gao Y, Ehrichtiou D, et al: Bisphosphonates cause osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *Am J Pathol* 2010;177:280.
114. Hokugo A, Christensen R, Chung EM, et al: Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res* 2010;25:1337.
115. Mortensen M, Lawson W, Montazem A: Osteonecrosis of the jaw associated with bisphosphonate use: Presentation of seven cases and literature review. *Laryngoscope* 2007;117:30.

116. Sonis ST, Watkins BA, Lyng GD, et al: Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients. *Oral Oncol* 2009;45:164.
117. Mehrotra B, Ruggiero S: Bisphosphonate complications including osteonecrosis of the jaw. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*: 2006;356.
118. Ruggiero SL, Fantasia J, Carlson E: Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:433.
119. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, et al: Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302:1055.
120. Roelofs AJ, Thompson K, Gordon S, et al: Molecular mechanisms of action of bisphosphonates: current status. *Clin Cancer Res* 2006;12:6222s.
121. Russell RG, Rogers MJ: Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone* 1999;25:97.
122. Dimopoulos MA, Kastiris E, Bamia C, et al: Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid. *Ann Oncol* 2009;20:117.
123. Hoff AO, Toth BB, Altundag K, et al: Frequency and risk factors associated with osteonecrosis of the jaw in cancer patients treated with intravenous bisphosphonates. *J Bone Miner Res* 2008;23:826.
124. Ripamonti CI, Maniezzo M, Campa T, et al: Decreased occurrence of osteonecrosis of the jaw after implementation of dental preventive measures in solid tumour patients with bone metastases treated with bisphosphonates. The experience of the National Cancer Institute of Milan. *Ann Oncol* 2009;20:137.
125. Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, et al: Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J Bone Miner Res* 2011;26:1871.

126. Aguirre JI, Akhter MP, Kimmel DB, et al: Oncologic doses of zoledronic acid induce osteonecrosis of the jaw-like lesions in rice rats (*Oryzomys palustris*) with periodontitis. *J Bone Miner Res* 2012;27:2130.
127. Kang B, Cheong S, Chaichanasakul T, et al: Periapical disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in mice. *J Bone Miner Res* 2013;28:1631.
128. Mawardi H, Treister N, Richardson P, et al: Sinus tracts--an early sign of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws? *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67:593.
129. Lopez-Jornet P, Camacho-Alonso F, Martinez-Canovas A, et al: Perioperative antibiotic regimen in rats treated with pamidronate plus dexamethasone and subjected to dental extraction: a study of the changes in the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2011;69:2488.
130. Gotcher JE, Jee WS: The progress of the periodontal syndrome in the rice rat. I. Morphometric and autoradiographic studies. *J Periodontal Res* 1981;16:275.
131. Hansen T, Kunkel M, Weber A, et al: Osteonecrosis of the jaws in patients treated with bisphosphonates - histomorphologic analysis in comparison with infected osteoradionecrosis. *J Oral Pathol Med* 2006;35:155.
132. Bezzi M, Hasmim M, Bieler G, et al: Zoledronate sensitizes endothelial cells to tumor necrosis factor-induced programmed cell death: evidence for the suppression of sustained activation of focal adhesion kinase and protein kinase B/Akt. *J Biol Chem* 2003;278:43603.
133. Santini D, Vincenzi B, Dicuonzo G, et al: Zoledronic acid induces significant and long-lasting modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res* 2003;9:2893.

134. Junquera L, Gallego L, Cuesta P, Pelaz A, de Vicente JC. Clinical experiences with bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: analysis of 21 cases. *Am J Otolaryngol*. 2009 ;30(6):390-5.
135. Kos M, Kuebler JF, Luczak K, Engelke W. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: A review of 34 cases and evaluation of risk. *J Craniomaxillofac Surg*. 2010 Jun;38(4):255-9.
136. 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 ;65(12):2397-410.
137. 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(12):1658-68.
138. Crawford B.S. , McNulty R.M., Kraut E.H. and Turowski R.C. Extended Use of Intravenous Bisphosphonate Therapy for the Prevention of Skeletal Complications in Patients with Cancer. *Cancer Investigation* 2009;27(10): 984-988.
139. Gill SB, Valencia MP, Sabino ML, Heideman GM, Michel MA. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible and maxilla: clinical and imaging features. *J Comput Assist Tomogr*. 2009;33(3):449-54.
140. Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y et al. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J Oral Pathol Med*, 2005;34:120–123.
141. Otto, S., Hafner, S., Grötz, K.A. The role of inferior alveolar nerve involvement in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67, 589-92.

142. Migliorati CA, Schubert MM, Peterson DE, Seneda LM. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bone: an emerging oral complication of supportive cancer therapy. *Cancer*. 2005;Jul 1;104(1):83-93.
143. Mast, G., Otto, S., Mücke ,T., Schreyer, C., Bissinger, O., Kolk, A., Wolff, K.D., Ehrenfeld, M., Stürzenbaum, S.R., Pautke, C. Incidence of maxillary sinusitis and oro-antral fistulae in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Craniomaxillofac Surg* 2012;40, 568-71.
144. Bianchi SD, Scoletta M, Cassione FB, Migliaretti G, Mozzati M. Computerized tomographic findings in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in patients with cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2007;104:249- 58.
145. Rocha, G.C., Jaguar, G.C., Moreira, C.R., Neves, E.G., Fonseca, F.P., Pedreira, E.N. Radiographic evaluation of maxillofacial region in oncology patients treated with bisphosphonates. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2012;114, 19-25
146. Stockmann, P., Hinkmann, F.M., Lell, M.M., Fenner, M., Vairaktaris, E., Neukam, F.W., Nkenke, E. Panoramic radiograph, computed tomography or magnetic resonance imaging. Which imaging technique should be preferred in bisphosphonate- associated osteonecrosis of the jaw? A prospective clinical study. *Clin Oral Investig* 2010;14, 311-7.
147. Adjemian, B.C., Lausten, L, Ang, D.B., Johnson, M, Katz, J, Bonewald, L.F. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: model and diagnosis with cone beam computerized tomography. *Cells Tissues Organs* 2009;189, 284-8.
148. Chiandussi, S., Biasotto, M., Dore, F., Cavalli, F., Cova, M.A. and Lenarda, R.D. Clinical and diagnostic imaging of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Dentomaxillofac Rad* 2006;35, 236–243.
149. Ward A, Clissold S. Pentoxifylline: A review of its Pharmacodynamics and Pharmacokinetic Properties, and its Therapeutic efficacy. *Drugs* 1987;34: 50–97.



150. Kayaalp Oğuz S. Tıbbi Farmakoloji. Feryal Matbaacılık, Ankara, Cilt 2. 1200–1201, 1992.
151. Zargari O. Pentoxifylline: a drug with wide spectrum applications in dermatology. *Dermatol Online J* 2008;14(11):2.
152. Ries C, Kolb H, Petrides PE. Regulation of 92-kD gelatinase release in HL-60 leukemia cells: tumor necrosis factor-alpha as an autocrine stimulus for basal- and phorbol ester-induced secretion. *Blood* 1994;83(12):3638-3646.
153. Horiuchi H, Saito N, Kinoshita T, Wakabayashi S, Tsutsumimoto T, Takaoka K. Enhancement of bone morphogenetic protein-2-induced new bone formation in mice by the phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline. *Bone*. 2001 Mar;28(3):290–4.
154. Tsutsumimoto T, Wakabayashi S, Kinoshita T, Horiuchi H, Takaoka K. A phosphodiesterase inhibitor, pentoxifylline, enhances the bone morphogenetic protein-4 (BMP-4)-dependent differentiation of osteoprogenitor cells. *Bone*. 2002 Sep;31(3):396-401.
155. Aydın K, Sahin V, Gürsu S, Mercan AS, Demir B, Yildirim T. Effect of pentoxifylline on fracture healing: an experimental study. *Eklemler Hastalıkları Cerrahisi*. 2011 Dec;22(3):160-5.
156. Delanian S, Lefaix JL. Complete healing of severe osteoradionecrosis with treatment combining pentoxifylline, tocopherol and clodronate. *Br J Radiol*. 2002 May;75(893):467-9.
157. Delanian S, Depondt J, Lefaix JL. Major healing of refractory mandible osteoradionecrosis after treatment combining pentoxifylline and tocopherol: a phase II trial. *Head Neck*. 2005 Feb;27(2):114-23.
158. Robard L, Louis MY, Blanchard D, Babin E, Delanian S. Medical treatment of osteoradionecrosis of the mandible by PENTOCLO: preliminary results. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2014 Dec;131(6):333-8.

159. Epstein MS, Wicknick FW, Epstein JB, Berenson JR, Gorsky M. Management of bisphosphonate-associated osteonecrosis: pentoxifylline and tocopherol in addition to antimicrobial therapy. An initial case series. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 Nov;110(5):593-6.
160. Karakoyun B, Uslu U, Ercan F, Aydin MS, Yuksel M, Ogunc AV, Alican I. The effect of phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil citrate on inflammation and apoptosis in rat experimental colitis. *Life Sci.* 2011 Sep 12;89(11-12):402-7
161. Otto S, Schreyer C, Hafner S et al. Bisphosphonate- related osteonecrosis of the jaws – Characteristics, risk factors, clinical features, localization and impact on oncological treatment. *J Craniomaxillofac Surg* 2012;40: 303–309.
162. Sharma D, Hamlet S, Petcu E, Ivanovski S. Animal models for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--an appraisal. *Oral Dis.* 2013 Nov;19(8):747-54.
163. Fedele S, Porter SR, D’Aiuto F et al. Non-exposed variant of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a case series. *Am J Med* 2010;123: 1060–1064.
164. Yarom N, Fedele S, Lazarovici TS, Elad S. Is exposure of the jawbone mandatory for establishing the diagnosis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw? *J Oral Maxillofac Surg.* 2010 Mar;68(3):705.
165. Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA. The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comp Med* 2008;58:424–30.
166. Recker RR, Kimmel DB, Dempster D, Weinstein RS, Wronski TJ, Burr DB. Issues in modern bone histomorphometry. *Bone* 2011;49:955–64.
167. Ali-Erdem M, Burak-Cankaya A, Cemil-Isler S, Demircan S, Soluk M, Kasapoglu C, Korhan-Oral C. Extraction socket healing in rats treated with bisphosphonate: animal model for bisphosphonate related osteonecrosis of jaws in multiple myeloma patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011 Nov 1;16(7):e879-83.

168. Allen MR, Kubek DJ, Burr DB, Ruggiero SL, Chu TM. Compromised osseous healing of dental extraction sites in zoledronic acid-treated dogs. *Osteoporos Int* 2011;22(2):693-702.
169. Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, Moimas S, Dore F, Pozzato G, Cavalli F, Zanconati F, Contardo L, Giacca M, Di Lenarda R. A novel animal model to study nonspontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *J Oral Pathol Med* 2010;35(5):390–396.
170. Senel, F.C., Kadioglu Duman, M., Muci, E., Cankaya, M., Pampu, A.A., Ersoz, S., Gunhan, O. Jaw bone changes in rats after treatment with zoledronate and pamidronate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2010;109, 385-91.
171. Barba-Recreo, P., Del Castillo Pardo de Vera, J.L., García-Arranz, M., Yébenes, L., Burgueño, M. Zoledronic acid - related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *J Craniomaxillofac Surg* 2014;42, 744-50.
172. Hikita, H., Miyazawa, K., Tabuchi, M., Kimura, M., Goto, S. Bisphosphonate administration prior to tooth extraction delays initial healing of the extraction socket in rats. *J Bone Miner Metab* 2009;27, 663-72.
173. Huja, S.S., Fernandez, S.A., Phillips, C., Li, Y. Zoledronic acid decreases bone formation without causing osteocyte death in mice. *Arch Oral Biol*, 2009;54, 851-6.
174. Ersan N, van Ruijven LJ, Bronckers AL, Olgaç V, Ilgüy D, Everts V. Teriparatide and the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a rat model. *Dentomaxillofac Radiol*. 2014;43(1):20130144.
175. Atalay B. Zolendronik Asit Uygulanan Ovarektomili Sıçanlarda RhKMP-2'nin Diş Çekim Bölgesindeki Yara İyileşmesine Etkisinin Deneysel İncelenmesi. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul, 2010.

176. Dayisoğlu EH, Şenel FÇ, Üngör C, Tosun E, Çankaya M, Ersöz S, Taskesen F. The effects of adjunctive parathyroid hormone injection on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: an animal study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2013 Nov;42(11):1475-80.
177. Dayisoğlu EH, Üngör C, Tosun E, Ersöz S, Kadioglu Duman M, Taskesen F, Senel FÇ. Does an alkaline environment prevent the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw? An experimental study in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2014 Mar;117(3):329-34.
178. Vasconcelos AC, Berti-Couto SA, Azambuja AA, Salum FG, Figueiredo MA, da Silva VD, Cherubini K. Comparison of effects of clodronate and zoledronic acid on the repair of maxilla surgical wounds - histomorphometric, receptor activator of nuclear factor-kB ligand, osteoprotegerin, von Willebrand factor, and caspase-3 evaluation. *J Oral Pathol Med*, 2012;41(9):702-12.
179. Marino KL, Zakhary I, Abdelsayed RA, Carter JA, O'Neill JC, Khashaba RM, Elsalanty M, Stevens MR, Borke JL. Development of a rat model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *J Oral Implantol*, 2012;38Spec No:511-8.
180. Abdel-Salam OM, Baiuomy AR, El-Shenawy SM, Arbid MS. The anti-inflammatory effects of the phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline in the rat. *Pharmacol Res*. 2003 Apr;47(4):331-40.
181. Fernandes JL, de Oliveira RT, Mamoni RL, Coelho OR, Nicolau JC, Blotta MH, Serrano CV Jr. Pentoxifylline reduces pro-inflammatory and increases anti-inflammatory activity in patients with coronary artery disease--a randomized placebo-controlled study. *Atherosclerosis*. 2008 Jan;196(1):434-42.
182. Schmidt-Choudhury A, Furuta GT, Lavigne JA, Galli SJ, Wershil BK. The regulation of tumor necrosis factor-alpha production in murine mast cells: pentoxifylline or dexamethasone inhibits IgE-dependent production of TNF-alpha by distinct mechanisms. *Cell Immunol*. 1996 Jul 10;171(1):140-6.

183. van Furth AM, Verhard-Seijmonsbergen EM, van Furth R, Langermans JA. Effect of lisofylline and pentoxifylline on the bacterial-stimulated production of TNF-alpha, IL-1 beta IL-10 by human leucocytes. *Immunology*. 1997 Jun;91(2):193-6.
184. Zabel P, Schade FU, Schlaak M. Inhibition of endogenous TNF formation by pentoxifylline. *Immunobiology*. 1993 Apr;187(3-5):447-63. Review.
185. Bombini G, Canetti C, Rocha FA, Cunha FQ. Tumour necrosis factor-alpha mediates neutrophil migration to the knee synovial cavity during immune inflammation. *Eur J Pharmacol*. 2004 Aug 2;496(1-3):197-204.
186. Maiti R, Agrawal NK, Dash D, Pandey BL. Effect of Pentoxifylline on inflammatory burden, oxidative stress and platelet aggregability in hypertensive type 2 diabetes mellitus patients. *Vascul Pharmacol*. 2007 Aug-Sep;47(2-3):118-24.
187. Silva JC, Rocha MF, Lima AA, Brito GA, de Menezes DB, Rao VS. Effects of pentoxifylline and nabumetone on the serum levels of IL-1beta and TNFalpha in rats with adjuvant arthritis. *Inflamm Res*. 2000 Jan;49(1):14-9.
188. Garcia FA, Rebouças JF, Balbino TQ, da Silva TG, de Carvalho-Júnior CH, Cerqueira GS, Brito GA, Viana GS. Pentoxifylline reduces the inflammatory process in diabetic rats: relationship with decreases of pro-inflammatory cytokines and inducible nitric oxide synthase. *J Inflamm (Lond)*. 2015 Apr 23;12:33.
189. Lima V, Brito GA, Cunha FQ, Rebouças CG, Falcão BA, Augusto RF, Souza ML, Leitão BT, Ribeiro RA. Effects of the tumour necrosis factor-alpha inhibitors pentoxifylline and thalidomide in short-term experimental oral mucositis in hamsters. *Eur J Oral Sci*. 2005 Jun;113(3):210-7.
190. Lima V, Vidal FD, Rocha FA, Brito GA, Ribeiro RA. Effects of tumor necrosis factor-alpha inhibitors pentoxifylline and thalidomide on alveolar bone loss in short-term experimental periodontal disease in rats. *J Periodontol*. 2004 Jan;75(1):162-8.

191. Queiroz-Junior CM, Bessoni RL, Costa VV, Souza DG, Teixeira MM, Silva TA. Preventive and therapeutic anti-TNF- $\alpha$  therapy with pentoxifylline decreases arthritis and the associated periodontal co-morbidity in mice. *Life Sci.* 2013 Sep 17;93(9-11):423-8.
192. Aygenc E, Celikkanat S, Kaymakci M, Aksaray F, Ozdem C. Prophylactic effect of pentoxifylline on radiotherapy complications: a clinical study. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004 Mar; 130(3):351-6.
193. Chua DT, Lo C, Yuen J, Foo YC. A pilot study of pentoxifylline in the treatment of radiation-induced trismus. *Am J Clin Oncol.* 2001 Aug; 24(4): 366-9.
194. Yamashita J, Koi K, Yang DY, McCauley LK. Effect of zoledronate on oral wound healing in rats. *Clin Cancer Res* 2011; 17(6): 1405-14.
195. Hinz B. Masters and servants of the force: the role of matrix adhesions in myofibroblast force perception and transmission. *Eur J Cell Biol.* 2006 Apr; 85(3-4):175-81.
196. Eichler MJ, Carlson MA. Modeling dermal granulation tissue with the linear fibroblast-populated collagen matrix: a comparison with the round matrix model. *J Dermatol Sci.* 2006 Feb; 41(2):97-108.
197. Babaei S, Bayat M, Nouruzian M, Bayat M. Pentoxifylline improves cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 2013 Jan 30; 700(1-3): 165-72.

## EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi



T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU  
(YÜDHİK)

### ETİK KURUL KARARI

| Toplantı Tarihi | Karar No | İlgili                     | Proje Yürütücüsü               |
|-----------------|----------|----------------------------|--------------------------------|
| 11.03.2014      | 379      | 18.02.2014<br>Tarihli Yazı | Prof. Dr. Mehmet Kemal ŞENÇİFT |

'Sıçanlarda Oluşturulan Bifosfonata Bağlı Çenelerin Osteonekrozu Modelinde Pentoksifilin ve Alfa-Tokoferol'un Diş Çekimi Sonrasında Profilaktik Etkisinin İncelenmesi' adlı bilimsel çalışma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 1 Yıl

| GÖREVİ            | ADI SOYADI                     | İMZA      |
|-------------------|--------------------------------|-----------|
| Başkan            | Prof. Dr. M. Ece GENÇ          |           |
| Başkan Yardımcısı | Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA       |           |
| Raportör          | Prof. Dr. Işıl Aksan KURNAZ    |           |
| Üye               | Prof. Dr. Bayram YILMAZ        |           |
| Üye               | Prof. Dr. Başar ATALAY         | KATILMADI |
| Üye               | Yard.Doç.Dr.Soner DOĞAN        |           |
| Üye               | Yard. Doç. Dr. Ediz DENİZ      |           |
| Üye               | Doç. Dr. C. Narter YEŞİLDAĞLAR | KATILMADI |
| Üye               | Sumru KIRAZCI                  |           |

## ÖZGEÇMİŞ

Gül Merve Yalçın, 30.10.1986 yılında İstanbul'da doğmuştur. İlköğrenimini Erenköy İlkokulu'nda, ortaokul ve lise öğrenimini İstanbul (Erkek) Lisesi'nde tamamlamıştır. 2005 yılında girmiş olduğu Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden 2011 yılında mezun olmuştur. 2011 yılında Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda başladığı doktora eğitimine devam etmektedir.