



**T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DIŞ VE ÇENE RADYOLOJİSİ
(ORAL DİAGNOZ VE RADYOLOJİ)
ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA BİFOSFONAT KULLANIMI SONRASI
DIŞ ÇEKİMİYLE OLUŞAN OSTEONEKROZ ÜZERİNDE
TERİPARATİDİN ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

**DIŞ HEKİMİ
NİLÜFER ERSAN**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. DİLHAN İLGÜY**

İSTANBUL, 2013

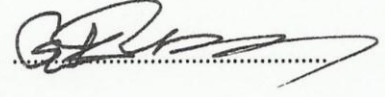
Doktora öğrencisi Dt. Nilüfer ERSAN'ın çalışması jürimiz tarafından Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi Anabilim Dalı doktora tezi olarak uygun görülmüştür.

İMZA

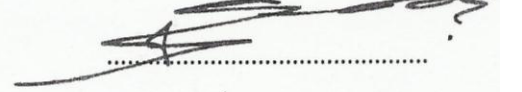
Başkan : Doç. Dr. Dilhan İLGÜY
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



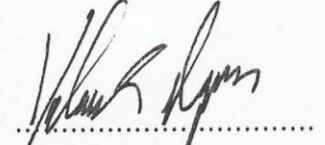
Üye : Prof. Dr. Gülçin ERSEVEN
Üniversite : Aydın Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Mehmet İLGÜY
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Vakur OLGAC
Üniversite : İstanbul Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Erdoğan FİŞEKÇİOĞLU
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi

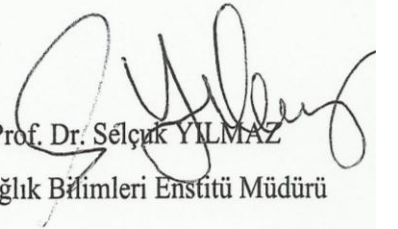


ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun/01/2013
sayılı kararı ile onaylanmıştır.

tarikh ve2-3.....

Prof. Dr. Selçuk YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü



ÖZET

Ersan N. Sıçanlarda Bifosfonat Kullanımı Sonrası Diş Çekimiyle Oluşan Osteonekroz Üzerinde Teriparatidin Etkisi. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş ve Çene Radyolojisi (Oral Diagnoz ve Radyoloji) Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul 2013.

Giriş ve Amaç

Çenenin bifosfonat kullanımına bağlı osteonekrozu (BRONJ), kemik rezorpsiyonunu önleyen bifosfonat (BP) türevi ilaçlara bağlı görülebilen ciddi yan etkilerden biridir. Konservatif tedaviye cevap vermeyen ileri evre BRONJ hastalarının tedavisinde teriparatidin (TP) tedavi edici etkisi bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmada amaç, sistemik zoledronik asit (ZA) uygulanan sıçanlarda diş çekim yerindeki osteonekroz üzerinde TP kullanımının etkilerinin incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, 30 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan üzerinde yürütüldü. Sıçanlar, ZA (n=10), ZA+TP (n=10) ve Kontrol (CON, n=10) olmak üzere üç gruba ayrıldı. İlk 6 hafta boyunca haftada 3 kez, ZA ve ZA+TP gruplarına serum fizyolojik ile karıştırılarak zoledronik asit, CON grubuna ise serum fizyolojik periton içine uygulandı. Son enjeksiyonlardan 1 hafta sonra alt sol birinci azı dişleri çekildi. Diş çekiminden 4 hafta sonra ZA+TP grubuna 28 gün boyunca serum fizyolojik ile karıştırılarak teriparatid deri altına uygulandı. Bu süre sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edilerek, diş çekim bölgesine yönelik klinik, radyolojik, histopatolojik ve histomorfometrik incelemeler yapıldı.

Bulgular

Klinik incelemede çekim soketi bölgesinde mukoza ülserasyonuna, dişetinde fistül oluşumuna veya açığa çıkmış nekrotik kemiğe rastlanmamıştır. Yapılan ağırlık ölçümlerinde, ZA grubunun sakrifikasyon öncesi ortalama ağırlık ölçülerinin CON grubuna kıyasla daha düşük çıktığı görülmüştür ($p<0.05$). Mikro bilgisayarlı tomografi (μ CT) ile yapılan radyolojik incelemede ZA grubunun çekim boşluğundan ölçülen kemik mineral yoğunluğu (BMD), ZA+TP grubundan daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Histopatolojik incelemelerde, ZA ve ZA+TP gruplarındaki sıçanların tümünde

osteonekroz geliştiği izlenirken, CON grubunda nekroz görülmemiştir. Osteonekroz alanlarına yönelik yapılan histomorfometrik ölçümlerde ZA grubundaki osteonekroz alanı oranı, ZA+TP grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Uygulanan tartrata dirençli asit fosfataz (TRAcP) enzim histokimyası yönteminde, kemik yüzeyine tutunan osteoklastların sayısı ve kemik üzerinde kapladığı alanın, toplam kemik yüzey alanına oranının ZA grubuyla kıyaslandığında, ZA+TP ve CON gruplarında daha yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). ZA grubundaki TRAcP pozitif boyanan apoptotik ve dev osteoklastik hücreler, diğer gruplardakine göre daha fazla görülmüştür ($p<0.05$).

Sonuç

Bu çalışmada elde edilen bulgular teriparatidin BRONJ tedavisinde etkili olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Bifosfonat, Osteonekroz, Teriparatid, μ CT, TRAcP.

ABSTRACT

Ersan N. Teriparatide as an Alternative Treatment Modality in Nonspontaneous Bisphosphonate Related Osteonecrosis of the Jaws (BRONJ): a Rat Model. Yeditepe University Health Sciences Institute PhD Thesis in Dentomaxillofacial Radiology (Oral Diagnosis and Radiology), Istanbul, 2013.

Background and Objective

Bisphosphonates (BP) are widely used in several metabolic and malignant bone diseases because of their antiresorptive effect on bone. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws (BRONJ) presents as a serious side effect of nitrogen containing bisphosphonates. Some studies indicated the healing effect of teriparatide (TP) in refractory BRONJ cases, which do not respond conservative treatment. The objective of this study is to establish the role of teriparatide in treatment of bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw in a zoledronic acid (ZA) induced rat BRONJ model.

Study Design

Thirty adult female Sprague-Dawley rats were divided randomly in three groups: I- ZA (n=10), II- ZA+TP (n=10), and III- Control (CON, n=10). BRONJ was induced by administering zoledronic acid 3 times a week for 6 weeks intraperitoneally to groups ZA and ZA+TP. Saline was administered to the CON group intraperitoneally. A week after the injections, rats underwent extraction of the mandibular left first molar teeth. Following a 4 weeks period teriparatide was administered subcutaneously to rats in group ZA+TP for 28 days. Extraction sockets were examined clinically, radiologically and histopathologically.

Results

Clinical examination revealed mucosal ulceration, sinus tract formation, necrotic bone exposure or apparent infection in the region of extraction socket in none of the animals. In terms of weight measurements, prior to sacrificing, measurements of CON group was greater than ZA group ($p<0.05$). Radiological examination, performed with micro Computed Tomography (μ CT) showed that volumetric bone mineral density (vBMD) of ZA group measured in the extraction sockets, was lower than the vBMD of ZA+TP

group ($p < 0.05$). Histopathological examination revealed that animals in groups ZA and ZA+TP, which were injected with zoledronic acid developed osteonecrosis, whereas no osteonecrosis developed in the CON group. Histomorphometric measurements of the osteonecrotic bone showed that, in ZA group osteonecrotic bone area was larger compared to ZA+TP group ($p < 0.05$). Tartrate resistant acid phosphatase (TRAcP) enzyme histochemistry, performed to visualize osteoclasts, revealed that in ZA+TP ve CON groups the number of osteoclasts attached to the bone surface and the bone surface area occupied with osteoclasts were greater compared to ZA group ($p < 0.05$). The number of TRAcP positive apoptotic and giant osteoclasts were higher in ZA group ($p < 0.05$).

Conclusion

Our data suggest that teriparatide might be an effective treatment modality for BRONJ patients.

Keywords: Bisphosphonate, Osteonecrosis, Teriparatide, μ CT, TRAcP.

TEŞEKKÜR

Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ni kurarak bu modern fakültede eğitim görmemizi sağlayan ve bana olan güvenine ve desteğine layık olmaya çalıştığım sayın dekanımız **Prof. Dr. Türker Sandallı**'ya,

Doktora eğitimim boyunca her konuda tecrübesi ve bilgisi ile bana yol gösteren, ayaklarımı yere daha sağlam basmamı sağlayan ve başarılı olmam için büyük özveri ve fedakarlık göstererek yardımlarını benden esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanım, sakin, sabırlı, anlayışlı ve sevgili hocam **Doç. Dr. Dilhan İlgüy'e**,

Hem lisans hem de doktora eğitimim sırasında öğrencisi olma şansına sahip olduğum, hocaların hocası, çok kıymetli hocam **Prof. Dr. Gündüz Bayırlı**'ya,

Diş hekimliği alanında dünyanın en önemli araştırma merkezlerinden biri olan ACTA'ya beni davet ederek onurlandıran ve tez çalışmamı ACTA'nın kaynaklarına ek olarak, kendi değerli bilgi ve tecrübesiyle de destekleyen ve örnek aldığım değerli akademisyen **Prof. Dr. Vincent Everts**'e,

Her ihtiyacım olduğunda bana yardımcı olan ve desteğini benden esirgemeyen hocam **Doç. Dr. Mehmet İlgüy'e**,

Kendimi eksik hissettiğim konularda danıştığım ve bilgilerini paylaştığım hocalarım **Yrd. Doç. Dr. Erdoğan Fişekçioğlu** ve **Doç. Dr. Semanur Dölekoğlu**'ya,

Tezimin histopatoloji kısmını yaparken benden bilgi ve desteklerini esirgemeyen kıymetli hocalarım **Prof. Dr. Gülçin Erseven** ve **Doç. Dr. Vakur Olgaç** ile patolojiye olan yoğun ilgimin daha da güçlenmesini sağlayan hocalarım **Prof. Dr. Canan Alatlı**, **Yrd. Doç. Dr. Nihan Aksakallı** ve **Yrd. Doç. Dr. Merva Soluk Tekkeşin**'e,

ACTA'da bulunduğum süre boyunca bana her konuda yardımcı olarak hiç yabancılık çekmememi sağlayan ve tezimin radyoloji kısmını yapmamda beni destekleyen **Dr. Leo van Ruijven**'e,

Tezimin histoloji bölümünün ACTA’da yürütülen kısmında bana yardımcı olan ve çalışma azmine büyük hayranlık duyduğum **Assoc. Prof. Ton Bronckers**’a,

Tezimin istatistik değerlendirmelerinde bana öğretici ve gülyüzlü tavrıyla yardımcı olan **Yrd. Doç. Dr. Çiğdem Kaspar**’a,

Bana doktora eğitiminin sadece çalışmayı değil, eğlenmeyi de içerdiğini gösteren ve ACTA’da bulunduğum süre boyunca bana destek olan tüm bölüm arkadaşlarıma,

Tezimin laboratuvar işlemlerinde engin bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ACTA’dan **Dr. Behrouz Zandieh Doulabi, Dirk-Jan Bervoets, Jolanda Hogervorst, Marion van Duin**’a, Çapa Onkoloji’den **Mehmet Bozoğlu**’ya ve YÜDETAM’dan **Vet. Hek. Burcu Çevreli, Uğur Akdaş** ve **Selim Doğan**’a,

Doktora eğitimim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen klinik hemşireleri **Birsen Boztepe, Özge Akbulut** ve **Hilal Gamze Salman** ve radyoloji teknisyenleri **Hale Yıldırım, Yakup Danyal** ve **Gökçe Alifakılar**’a,

Doktora öğrenimim süresince bana maddi destek sağlayan **TÜBİTAK**’a,

Hayatımın her döneminde bana güvenen, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, iyi bir eğitim almam için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan ve beni her zaman seven annem **Hatice Ersan**’a ve babam **Murat Ersan**’a,

ve hayatım boyunca en iyi arkadaşlarım olan, her zaman güvendiğim ve güvенеceğim ablam **Sema Ersan Yıldırım**’a ve kardeşim **Abdullah Ersan**’a,

en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	I
ONAY SAYFASI	II
ÖZET	III
ABSTRACT	V
TEŞEKKÜR	VII
İÇİNDEKİLER	IX
KISALTMALAR ve SİMGELER	XII
RESİM LİSTESİ	XV
ŞEKİL LİSTESİ	XVI
TABLO LİSTESİ	XVII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Kemik Dokusu	3
2.1.1 Kemik Dokusunun Kimyasal Yapısı	3
2.1.1.1 İnorganik Yapı	3
2.1.1.2 Organik Matriks	3
2.1.2 Kemik Dokusunun Morfolojik Özellikleri	4
2.1.3 Kemik Tipleri	4
2.1.3.1 Primer Kemik Dokusu (Woven Kemik)	4
2.1.3.2 Sekonder Kemik Dokusu (Lameller Kemik)	5
2.1.3.2.1 Kompakt Kemik	5
2.1.3.2.2 Süngersi Kemik	5
2.1.4 Kemik Hücreleri	5
2.1.4.1 Osteoprogenitör hücreler	6
2.1.4.2 Osteoblastlar	6
2.1.4.3 Osteositler	6
2.1.4.4 Osteoklastlar	7
	IX

2.1.4.5 Endosteal hücreler	7
2.1.5 Kemik Oluşumu ve Kemikleşme Tipleri	8
2.1.5.1 Endokondral Kemik Oluşumu	8
2.1.5.2 İntramembranöz Kemik Oluşumu	8
2.1.6 Kemiğin Büyüme ve Gelişimi	9
2.1.6.1 Kemiğin Şekillenmesi (Modeling)	9
2.1.6.2 Kemiğin Yeniden Şekillenmesi (Remodeling)	9
2.1.7 Kemik Metabolizmasını Etkileyen Düzenleyici Faktörler	10
2.1.7.1 Lokal Düzenleyici Faktörler	10
2.1.7.1.1 Büyüme Faktörleri	10
2.1.7.1.2 Sitokinler	11
2.1.7.1.3 Prostaglandinler	11
2.1.7.2 Sistemik Düzenleyici Faktörler	11
2.1.7.2.1 Kalsitonin	11
2.1.7.2.2 Vitamin D	11
2.1.7.2.3 Büyüme Hormonu ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü	11
2.1.7.2.4 Glukokortikoidler	12
2.1.7.2.5 Tiroid Hormonları	12
2.1.7.2.6 Cinsiyet Hormonları	12
2.1.7.2.7 Paratiroid Hormon	12
2.1.8 Alveolar Kemik	13
2.1.9 Diş Çekim Yarasının İyileşmesi	13
2.2 Bifosfonatlar	14
2.2.1 Bifosfonatların Tarihçesi ve Gelişimi	14
2.2.2 Bifosfonatların Kimyasal Özellikleri	15
2.2.2.1 Zoledronik Asitin Kimyasal Yapısı	16
2.2.3 Bifosfonatların Sınıflandırılması	15
2.2.4 Bifosfonatların Farmakolojik Özellikleri	17
2.2.5 Bifosfonatların Endikasyonları	18
2.2.6 Bifosfonatların Etki Mekanizması	18
2.2.6.1 Zoledronik Asitin Etki Mekanizması	19
2.2.7 Bifosfonatların Yan Etkileri	20
2.3 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozu (BRONJ)	20
2.3.1 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Tarihçesi ve Tanımı	20
2.3.2 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Epidemiyolojisi	21

2.3.3 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Patogenezi	22
2.3.4 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Risk Faktörleri	23
2.3.5 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Klinik Bulguları	23
2.3.6 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Radyolojik Tanısı	24
2.3.7 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Önlenmesi	24
2.3.8 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Tedavisi	24
2.4 Teriparatid	26
2.4.1 Teriparatidin Farmakolojisi	26
2.4.2 Teriparatidin Uygulanması	27
2.4.3 Teriparatidin Etki Mekanizması	27
2.4.4 Teriparatidin Yan Etkileri ve Güvenilirliği	28
2.4.5 Teriparatidin Farmakoekonomik Özellikleri	28
2.5 Teriparatidin Bifosfonatın İndüklediği Çene Osteonekrozunun Tedavisindeki Rolü	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1 Klinik Değerlendirme	32
3.2 Radyolojik Değerlendirme	33
3.3 Histolojik ve Histomorfometrik Değerlendirme	37
3.4 İstatistiksel Değerlendirme	38
4. BULGULAR	39
4.1 Klinik Bulgular	39
4.2 Radyolojik Bulgular	41
4.3 Histolojik ve Histomorfometrik Bulgular	45
4.3.1 H&E Rutin Boyama Yöntemi	45
4.3.2 TRAcP Enzim Histokimyasal Boyama Yöntemi	48
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇLAR	71
7. KAYNAKLAR	73
8. EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi	101
9. ÖZGEÇMİŞ	102

KISALTMALAR ve SİMGELER

°C:	Santigrat derece
μ:	Mikron
μA:	Mikroamper
μCT:	Mikro bilgisayarlı tomografi
μg:	Mikrogram
AAOMS:	Amerikan Oral ve Maksillofasiyal Cerrahlar Birliği
ACTA:	Academic Centre for Dentistry Amsterdam
ASBMR:	Amerikan Kemik ve Mineral Araştırma Derneği
BMD:	Kemik mineral yoğunluğu
vBMD:	Volumetric bone mineral density
BMP:	Kemik morfogenetik proteinleri
BP:	Bifosfonat
BRONJ:	Çenenin bifosfonat kullanımına bağlı osteonekrozu
Ca⁺²:	Kalsiyum
C₅H₁₀N₂O₇P₂·H₂O:	Bifosfonik asit monohidrat
C₆H₈O₇:	Sitrat
Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂:	Hidroksiapatit
CON:	Kontrol
CT:	Bilgisayarlı tomografi
EDTA:	Etilendiamintetraasetik asit
F⁻:	Florür
FDA:	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

FGF:	Fibroblast kaynaklı büyüme faktörleri
G-CSF:	Granülosit koloni stimüle edici faktör
GI:	Gastrointestinal
GH:	Büyüme hormonu
gr:	Gram
HA:	Hidroksiapatit
HBO:	Hiperbarik oksijen
IGF:	İnsülin benzeri büyüme faktörleri
IL-1:	İnterlökin 1
IL-6:	İnterlökin 6
İV:	İntravenöz
K⁺:	Potasyum
kg:	Kilogram
kVp:	Kilovoltaj
M-CSF:	Makrofaj koloni stimüle edici faktör
Mg⁺²:	Magnezyum
mg HA/cm³:	Miligram hidroksiapatit / santimetre küp
ml:	Mililitre
mm:	Milimetre
Na⁺²:	Sodyum
ND:YAG:	Neodimyum: itriyum alüminyum garnet
OC:	Osteoklast
OH:	Hidroksil
PBS:	Phosphate buffered saline

PDGF:	Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri
PGE2:	Prostoglandin E2
pH:	Hidrojen gücü
PMO:	Postmenopozal osteoporoz
PO₄⁻³:	Fosfat
PPi:	Pirofosfat
PTH:	Paratiroid hormon
rhPTH(1-34):	Rekombinan insan paratiroid hormonu (1-34)
SPSS:	Statistical Package for Social Sciences
SS:	Standart sapma
TBS:	Tris Buffered Saline
Tc99m MDP:	Teknesyum 99m metilen difosfatın
TGF:	Dönüştürücü büyüme faktörleri
TL:	Türk lirası
TNF-α:	Tümör nekroz faktör alfa
TP:	Teriparatid
TRAcP:	Tartrata dirençli asit fosfataz
TRAcP+:	Tartrata dirençli asit fosfataz pozitif
YÜDETAM:	Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi
YÜDHEK:	Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu
ZA:	Zoledronik asit

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1. Sıçanların sakrifiye edilmeden önceki ölçümde elde edilen ağırlık ortalamaları (*p<0,05; Tukey testi)	41
Şekil 2. Gruplara göre çekim boşluğunun yer aldığı bölgede alveol kreti genişliği (*p<0,05; Tukey testi)	42
Şekil 3. Grupların µCT incelemesinde elde edilen kemik yoğunlukları (*p<0,05; Tukey testi)	43
Şekil 4. Gruplara göre osteonekroz alanının toplam kemik alanına oranı (p<0,05; Student's t testi)	45
Şekil 5. Kemik yüzeyi ile temasta olan TRAcP+ osteoklast sayıları (*p<0,05; Tukey testi; OC: osteoklast).	48
Şekil 6. Gruplara göre kemik yüzeyi ile temasta olan TRAcP+ osteoklastların kapladığı alanın toplam yüzey alanına oranı (*p<0,05; Dunnett's T3 testi)	49
Şekil 7. Grupların apoptotik TRAcP+ osteoklast sayıları arasındaki ilişki (p<0,05; Mann Whitney U testi)	50
Şekil 8. Grupların apoptotik TRAcP+ osteoklast sayısının, toplam TRAcP+ boyanan hücre sayısına oranı (p<0,05; Mann Whitney U testi)	51
Şekil 9. Grupların kemik yüzeyi ile temasta olmayan TRAcP+ osteoklast sayıları arasındaki ilişki (p<0,05; Mann Whitney U testi)	52
Şekil 10. Grupların TRAcP+ boyanan osteoklastik dev hücre sayıları arasındaki ilişki (p<0,05; Mann Whitney U testi)	53

RESİM LİSTESİ

	Sayfa
Resim 1. Diş çekimi öncesi ağız içi görüntü	31
Resim 2. Diş çekimi sonrasında ağız içi görüntü	31
Resim 3. Çalışmada kullanılan μ CT tarama cihazı ve polieterimid tüpler	33
Resim 4. μ CT taraması öncesinde çenenin oryantasyonu	34
Resim 5. μ CT değerlendirmesi sonrasında çalışma dışı bırakılan ZA+TP grubuna ait sıçanın mandibulasına ait μ CT görüntüsü	35
Resim 6. Çekim boşluğundaki kemik yoğunluğunun μ CT ile ölçümü	35
Resim 7. Çekim boşluğundaki yaygın osteolitik alan nedeniyle kemik yoğunluğu değerlendirilmesi yapılmayan kontrol grubuna ait sıçanın μ CT görüntüsü	36
Resim 8. Aksiyal kesit üzerinde alveol kemiğinin en geniş yerinin ölçümü	36
Resim 9. Çekim boşluğunda kemik yapımının izlendiği, ZA+TP grubuna ait bir sıçanın μ CT görüntüsü	44
Resim 10. Distal köke ait çekim boşluğunda kemik oluşumu tamamlanmamış olan, ZA grubuna ait bir sıçanın μ CT görüntüsü	44
Resim 11. Tümüyle kemik ile dolduğu gözlenen kontrol grubuna ait bir sıçanın çekim boşluğu (H&E boyama, 40x)	45
Resim 12. ZA grubuna ait bir sıçanda kemik dokusunda boş lakünaların gözlendiği yaygın nekrotik alan (H&E boyama ,100x)	46
Resim 13. ZA grubuna ait bir sıçanda nekrotik kemik parçasının epitel ile çevrilmesi (H&E boyama, 100x)	46
Resim 14. ZA+TP grubuna ait bir sıçanda alveol kret tepesiyle sınırlı osteonekroz alanı (H&E boyama, 200x)	47
Resim 15. ZA+TP grubuna ait bir sıçanda nekrotik kemiğin sökestrasyonu (H&E boyama, 200x)	47
Resim 16. ZA grubundaki sıçanda kemik yüzeyi ile temasta olan TRAcP+ OC (→, TRAcP enzim histokimyasal boyama, 1000x)	49
Resim 17. ZA+TP grubuna ait bir sıçanda TRAcP+ apoptotik bir hücre (→, TRAcP enzim histokimyasal boyama, 1000x)	51
Resim 18. ZA grubuna ait bir sıçanda kemik yüzeyi ile temasta olmayan TRAcP+ osteoklastik dev hücre (→, TRAcP enzim histokimyasal boyama, 1000x)	53

TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1. Grupların ağırlık ölçümü değerleri	40
Tablo 2. Diş çekim bölgesinden ölçülen alveol kreti genişliklerinin gruplara göre değişimi	42
Tablo 3. Diş çekim boşluğundan ölçülen kemik yoğunluğu değerlerinin gruplara göre değişimi	43

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlk olarak 1865 yılında Alman kimyagerler tarafından sentezlenen bifosfonatların (BP) (1), 1960'lı yıllarda iskelet ve kalsiyum metabolizması üzerindeki kemik dokusuna bağlanma özellikleri ve kuvvetli antirezorptif etkilerinin ortaya konulmasıyla birlikte (2-5) klinik kullanımları gündeme gelmiştir. Nitrojen içeren ve potensi en yüksek BP'lerden olan zoledronik asitin (ZA) kemik yıkımını engelleyici etkisinin diğer BP türevlerinden daha yüksek olduğu gösterilmiştir (2,6-9).

BP'lerin esas olarak hedef aldığı hücreler osteoklastlardır (6,9). BP'lerin osteoklastlarla birleşmesi ile osteoklastlar apoptoza uğramaktadır. Kemik yapımı ve rezorpsiyonu arasındaki denge bozularak kemik rezorpsiyonu ve kemik döngüsü, buna bağlı olarak da kemiğin yeniden şekillenmesi azalmaktadır (10-14).

Tıp alanında, bazı solid tümörlerin kemik metastazları, maligniteye bağlı hiperkalsemi, multiple myeloma, Paget hastalığı, fibröz displazi ve diğer birçok metastatik hastalıklara bağlı komplikasyonları önlemede kullanılmaktadır (7,15,16). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin (FDA), 2007 yılında zoledronik asiti osteoporoz tedavisinde onaylamasıyla bu hastalar arasında da kullanımı yaygınlaşmıştır (17).

Zoledronik asit gibi BP türevi ilaç kullanımının neden olduğu yan etkilerin en önemlilerinden olan çenenin bifosfonat kullanımına bağlı osteonekrozundan (BRONJ) (18,19), ilk olarak 2002 yılında Marx ve Stern bahsetmiştir (20). Amerikan Oral ve Maksillofasiyal Cerrahlar Birliği (AAOMS) BRONJ'u, 'baş-boyun bölgesine yönelik bir radyoterapi hikayesi olmayıp BP tedavisi görmüş veya görmekte olan hastalarda maksillofasiyal bölgede, bir doktor tarafından teşhisi konulduğu andan itibaren 8 haftada iyileşmeyen, açığa çıkmış kemik varlığı' olarak tanımlamıştır (21).

BP tedavisi uygulanan bireylerde osteonekroz görülme sıklığının %1-%21 arasında değiştiği bildirilmiştir (22). Olguların çoğundan yüksek dozda intravenöz (İV) BP uygulaması sorumlu tutulmuştur (23-29). Genel olarak İV BP kullanan hastalarda

BRONJ insidansının %0,8-%12 arasında değiştiği rapor edilmiştir (21,22,25,30,31). İV ilaçlar arasında ise en fazla zoledronik asitin nekroza yol açtığı bildirilmiştir (22,32-35).

Kemik rezorpsiyonunu önleyici etki gösteren bifosfonat türü ilaçları kullanan hastalarda özellikle diş çekimi sonrasında çekim boşluğunun iyileşememesi ile (29,33,35-41) gelişebilen çene osteonekrozu, tedavideki kısıtlılıklar nedeniyle kimi zaman diş hekimini ve hastayı çözümsüz bırakmaktadır. BRONJ tedavisinde ilacın kesilmesi asıl tedavinin aksamasına neden olabilmektedir (42). Bununla birlikte, kemikte 10 yıla kadar uzayabilen uzun yarı ömrü nedeniyle (6) ilacın kesilmesi genellikle çözüm olmamakta ve yine bu sebeple, tedavi edici etkisi kesin olmamakla birlikte bazı olgularda çenenin ilgili bölümünün rezeksiyonu gerekebilmektedir (43).

Teriparatid, paratiroid hormonun (PTH) ilk 34 amino asitlik kısmından oluşmaktadır (44) ve osteoporoz tedavisinde kullanımı 2002 yılında FDA tarafından onaylanmıştır (45). Bifosfonat türevi ilaçlardan farklı olarak teriparatid, kemik oluşumunu uyarmakta ve kemik üzerinde anabolik özellik göstermektedir (45-49). Literatür incelendiğinde antibiyotik tedavisi ve/veya yüzeysel debridman gibi konservatif tedavilere cevap vermeyen ve kontrol altına alınamayan BRONJ olgularında teriparatidin bu tabloya bağlı olumsuz etkileri giderdiği ve tedavi edici etkisi olduğu bazı çalışmalarda bildirilmiştir (50-65).

Bu çalışmada amaç, sistemik zoledronik asit uygulanan sıçanlarda, diş çekim yerinde gelişen osteonekroz üzerinde teriparatid kullanımının etkilerinin klinik, radyolojik, histopatolojik ve histomorfometrik olarak incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik Dokusu

Kemik dokusu özelleşmiş bir bağ dokusudur ve iskelet sisteminin ana maddesidir. Hücrelerden ve içerisinde liflerin gömülü olduğu, ekstraselüler matriks denilen hücreler arası dokudan oluşur. Yapısındaki bu ekstraselüler matriksin mineralleşme ve kalsiyum ve fosfat tuzlarıyla doygun hale gelme özelliği ile diğer bağ dokularından farklıdır (66).

Kemik dokusu kendini yenileyebilen, şeklini, hacmini ve içeriğini dıştan gelen mekanik uyarılar doğrultusunda değiştirebilen bir yapıya sahiptir. İskeleti oluşturma ve iskelet kaslarına destek sağlama gibi mekanik görevlerinin yanında birçok metabolizma olayına da katılır. İçerisindeki kanallı yapıda hematopoezde önemli rol oynayan kemik iliğini ve kemik hücrelerini barındırır (67,68).

2.1.1 Kemik Dokusunun Kimyasal Yapısı

Kemiğin kimyasal yapısının %71'ini inorganik tuzlar, %18,5'ini kollajen, %0,25'ini mukopolisakkaritler, %1,75'ini proteinler ve %8,5'ini su oluşturur (69).

2.1.1.1 İnorganik Yapı

Kemiğin en önemli inorganik bileşeni kimyasal formülü $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ olan hidroksiapatittir. Kemik dokusu, vücudun en önemli mineral deposudur. Vücuttaki kalsiyumun (Ca^{+2}) %99'u, magnezyumun (Mg^{+2}) %50'si, sodyumun (Na^{+2}) %25'i, potasyumun (K^{+}) az miktarı kemik içinde bulunur. Bununla birlikte fosfat (PO_4^{-3}), sitrat ($C_6H_8O_7$), hidroksil (OH^-) ve florür (F^-) gibi anyonları da kapsar (67,70).

2.1.1.2 Organik Matriks

Kemiğin yapısal, biyokimyasal ve mekanik özelliklerini belirleyen kemik organik matriksi, kollajen ve kollajen lifler arasında bulunan esas maddeden oluşur. Kollajen,

dokuların deformasyona direnç göstererek şeklini korumasını sağlayan fibröz bir proteindir. Yer aldığı dokuya göre yapısal ve fonksiyonel benzerlikler gösteren değişik formlarda bulunmaktadır. Ekstraselüler matriksin ana yapısal bileşeni olan ve vücutta en fazla bulunan Tip I kollajen, organik kemik matriksinin %90'ını oluşturur. Tip I kollajen osteoblast, odontoblast ve fibroblastlar tarafından sentezlenir. Kollajen lifler arasına yerleşmiş olan hidroksiapatit (HA) kristalleri kemiğe sertlik verir (71).

Kemik organik matriksinin %10'luk kısmını ise kollajen dışındaki diğer matriks proteinleri, minör kollajen tipleri, lipidler ve diğer makroproteinler oluşturur (70).

2.1.2 Kemik Dokusunun Morfolojik Özellikleri

Kemik dokusu yapısal olarak, süngersi ve kompakt dokudan oluşmaktadır. Kemikler biçimlerine göre; trabeküler ve kompakt dokuların değişik dağılım gösterdiği uzun, yassı ve kısa kemikler olarak ayrılırlar. Uzun ve yassı kemiklerin iç yapıları birbirine benzer. Tüm kemiklerin dış bölgesi kompakt tabaka ile sarıdır ve orta kısımlarında medullar bir yapı gösterirler. Medullar kavite, sarı ya da kırmızı kemik iliği ile doludur (71). Kemiğin dış yüzeyini örten periost, kortikal kemik ile onu çevreleyen yumuşak doku ya da kaslar arasındaki bağlantıyı sağlar. Periost kalınlığı her bölgede aynı değildir (72).

2.1.3 Kemik Tipleri

Mikroskopik olarak iki farklı tip kemik bulunur; 1) primer/olgunlaşmamış/woven kemik ve 2) sekonder/olgun/lameller kemik (66).

2.1.3.1 Primer Kemik Dokusu (Woven Kemik)

Primer kemik, prenatal gelişme, büyüme ve kemik iyileşmesi sırasında kan damarlarının yakınındaki osteoprogenitör hücreler tarafından üretilir. Embriyonik iskeleti oluşturur. Yapısında yeni şekillenmiş düzensiz kollajen fibriller ile az miktarda mineral vardır. Lamel içermez, fakat sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir (69).

2.1.3.2 Sekonder Kemik Dokusu (Lameller Kemik)

Sekonder kemik, genellikle yetişkinlerde bulunur. Kompakt kemik dokusu ve süngersi kemik dokusu olmak üzere iki tiptedir.

2.1.3.2.1 Kompakt kemik:

Uzun kemiklerin diyafiz ve metafizinin dış yüzeylerini kaplayan, yassı kemiklerin iç ve dış yüzeylerini oluşturan, dış kuvvetlere dayanıklı, solid bir dokudur. Erişkin insan iskeletinin yaklaşık %80'ini oluşturur. Kemik dokusunu birbiri üzerine tabakalanmış 3-7 mikron kalınlığındaki kemik lamelleri oluşturur. Kemiğin içerisinde periost altından kemik iliğine kadar uzanan ve yer yer anostomazlarla birbirine bağlanan farklı genişlikte kanallar vardır. Bu kanallarda, periosttan ve kemik iliğinden gelen damarlar ve bağ dokusu bulunur. Bir kanal etrafındaki 8-15 adet lamelden oluşan sisteme osteon adı verilmektedir (66,67,69).

2.1.3.2.2 Süngersi kemik:

Kansellöz ya da spongiyöz kemik de denilmektedir. Kompakt kemiğe göre daha yumuşak ve zayıftır. Vücut kemiklerinin hacimsel olarak %20'sini oluşturur. Süngersi kemikte osteon bulunmaz. Makroskopik olarak gözlenebilen trabekül adı verilen plaklar ve gözeneklerden oluşur. İçerisinde kan damarları ve kemik iliği bulunur (66,67,69).

2.1.4 Kemik Hücreleri

Kemiğin temel hücresel elemanlarını osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler, kemik yüzeyini döşeyen osteoprogenitör hücreler, kemik iliği hücreleri ve kemiğin büyüme ile gelişimini düzenleyen immün sistem hücreleri oluşturur. Osteoblast, osteosit ve osteoprogenitör hücreler tek bir hücre türünün olgunlaşma sırasındaki farklı evrelerini temsil eden osteoblast kökenli hücrelerdir. Osteoklastlar ise monosit-makrofaj progenitör hücrelerden kökenini alır (68,69).

2.1.4.1 Osteoprogenitör hücreler

Osteoprogenitör hücreler çoğalma ve farklılaşma kapasitesine sahiptir. Rezorbe olmayan tüm kemik yüzeylerinde bulunurlar. Kemikğin normal büyümesi sırasında aktif olan bu hücreler, erişkinlerde inaktif durumdadır (67,68). Ancak kemik iç yapısının düzenlenmesi, kırık iyileşmesi veya farklı tipteki yaralanma gibi kemik yapımının uyarıldığı durumlarda aktive olarak, hem sayıca artmaları hem de osteoblast gibi kemik yapıcı hücrelere dönüşmeleriyle ayırt edilebilirler. Kemik yapımı durduğunda osteoblastlar da osteoprogenitör hücrelere dönüşebilir (73).

2.1.4.2 Osteoblastlar

Osteoblastlar, embriyonel yaşamda mezenkim hücrelerinden, daha sonra ise bağ dokusunu oluşturan fibroblastlardan farklılaşan, olgun, metabolik olarak aktif, kemik oluşturan hücrelerdir. Kemik dokusunun yüzeyine yakın dizilirler ve kemikleşme bölgelerinde ve gelişmekte olan kemiklerin periost ile birleşim yerinde bulunurlar. Osteoblastların temel işlevi, osteoid adlı organik matriksini ve matriks sentezi için gereken proteinleri ve büyüme faktörlerini sentezlemektir. Osteoblastlar salgıladıkları bu osteoid içerisinde gömülü kalırlar Bunun yanı sıra osteoklastlarla beraber kemik rezorpsiyonunun düzenlenmesinde etkilidir. Osteoblastlar daha önceden osteoklastlar tarafından rezorbe edilen kemik yüzeylerinde yeni kemik oluştururlar (68,74).

Tüm canlı kemiklerde sürekli devam eden hafif bir osteoblastik aktivite görülür. Osteoblastların aktif yaşam ömrü 1 ila 10 haftadır, bölünmezler. Yeni aktif kemik oluşumu durduğunda bazı osteoblastlar kemik yüzeyini döşeyen astar hücreleri olarak kalırken bir kısmı da osteositlere dönüşmektedir. Osteoblastların bu farklılaşması, büyüme faktörlerinin bir fonksiyonudur (66-68).

2.1.4.3 Osteositler

Osteositler, kemik dokusunun oluşumu sırasında kalsiyum tuzlarının birikmesiyle sertleşen osteoid içinde organellerinin çoğunu kaybederek hapsolan olgun osteoblast hücreleridir. Olgunlaşmış kemikteki esas hücre grubunu oluştururlar. Osteoblastlardan

köken alan osteositler, kemiğin yeniden yapılanmasında aktif görev alır ve kemik matriksi sentezler. Hücreler arası etkileşim sayesinde kemik üzerine gelen fiziksel baskılara ve diğer lokal uyarılara yanıt olarak kemiğin yeniden şekillenmesini (remodeling) uyarır ve kemiği güçlendirir (67,69).

2.1.4.4 Osteoklastlar

Osteoklastlar, hormonal ve hüresel mekanizmalar tarafından kontrol edilen, kemik iliğindeki monosit ya da monosit benzeri hücrelerden kökenini alan, asidofilik, çok çekirdekli dev hücrelerdir. Kemiğin yüzeyinde ve içerisindeki kanallarda gruplar halinde bulunarak kemik yıkımını sağlarlar (75). Kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde kemik yüzeyine yapışarak salgıladıkları hidrolitik enzimler ile kemiğin ve kalsifiye olmuş kıkırdağın organik ve inorganik matrikslerini yıkıma uğratırlar. İçerdikleri Katepsin K adı verilen lizozomal enzimler, bu hücrelerin asit fosfataza karşı gösterdiği güçlü histokimyasal reaksiyondan sorumludur (68,69). Tartrata dirençli asit fosfataz (TRAcP) enzimi, osteoklast aktivitesinin ve farklılaşmasının göstergesi olarak kullanılmaktadır (76).

Osteoklastlar, osteoblastlarla birlikte mekanik streslere bağlı olarak kemiğin yeniden şekillenmesinde ve plastik etkinliğin sağlanmasında rol oynar (68,69). Ayrıca kemiğin yeniden biçimlenme sürecinde sert dokuların çözünüp çevre dokular tarafından emilmesinden sorumludurlar. Kalsiyumun kemik dokusundan kana salınmasında aktif rol oynarak, kalsiyum çözünürlüğünün hemostatik düzenlemesine yardımcı olurlar. Osteoklastların yaşam süresi 3-4 hafta olup, bu süre sonunda programlanmış hücre ölümüne (apoptoz) uğramaktadırlar (67).

2.1.4.5 Endosteal hücreler

Kemiklerin iç yüzeyinin %80-%95'ini kaplayan düz hücrelerdir. Aktif olmayan osteoblastlardan oluştuğu düşünülmektedir. Kemiğin yeniden şekillenmesinde rol alırlar (70).

2.1.5 Kemik Oluşumu ve Kemikleşme Tipleri

Kemik oluşumu, endokondral ve intramembranöz olmak üzere iki şekilde gerçekleşir (66).

2.1.5.1 Endokondral Kemik Oluşumu

Bu tür kemikleşmede kıkırdak hücreleri önemli rol alır. Uzun kemiklerin şekillenmesi bu yolla olur. Önce mezenkim hücreleri kondroblastlara dönüşerek hiyalin bir kıkırdak matriks oluşturur. Kondrositler hipertrofiye uğrayarak ölür ve geriye lakünler kalır. Osteoprogenitör hücreler ve kan damarları, kıkırdak hücrelerinden geriye kalan alana dolar. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini oluşturur ve daha sonra bu kemik matriksi kalsifiye olur.

2.1.5.2 İnamembranöz Kemik Oluşumu

İnamembranöz ya da doğrudan kemikleşme, mezenkim ya da bağ dokusu içinde doğrudan kemik oluşumdur. Mandibula (koronoid çıkıntının bir bölümü ve semfiz bölgesi dışında), kranyum kubbesi, parietal kemikler, oksipital ve temporal kemiklerin skuamöz kısımları, ilium, skapula, klavikula ve yüz kemiklerinin bir kısmı intramembranöz olarak kemikleşir.

İnamembranöz kemik dokusuna dönüşecek mezenkim bölgesinde bol miktarda kapiller görülür. Mezenkim dokusu kapiller etrafında yoğunlaşır ve mezenkim hücreler osteoblastlara dönüşür. Osteoblastlar, oluşturdukları osteoid doku zamanla mineralize oldukça osteositlere dönüşür ve yerlerini, çevre mezenkim hücrelerinden farklılaşan yenileri alır. Böylelikle kan damarları etrafında oluşan kemik trabekülleri giderek büyür. Bu sırada mezenkim dokusu primer kemik iliğini meydana getirir. Süngersi kemik yeterli büyüklüğe ulaştığında, mezenkim membranın periferik kısmı periostu oluşturur. Süngersi kemik etrafında, periost tarafından tabaka tabaka birbiri üzerine yığılmış kompakt kemik kabuğu yapılıdır (77).

2.1.6 Kemiğin Büyüme ve Gelişimi

Kemikte devamlı olarak yapım ve yıkım meydana gelmektedir. Kemik dokusu yapımı kısaca şu sıraya göre gerçekleşir;

- mezenkim hücrelerinin osteoblastlara farklılaşması,
- osteoblastların kollajen fibrilleri ve osteoidi salgılaması,
- organik maddenin mineralizasyonu (HA kristallerinin osteoide çökmesi) ve
- osteoklastların ortamda belirmesi.

Osteoblastlar yeni kemik lamelleri yaparken osteoklastlar yapılan kemik lamellerini rezorbe ederler. Böylece bir yandan yeni kemik dokusu oluşurken (apozisyon), diğer yandan kemik yıkımı (rezorpsiyon) olur (69).

2.1.6.1 Kemiğin Şekillenmesi (Modeling)

Kemik, kırıldak taslağın yerleşmesinden sonra gelişmeye kodlanmış bölgelere mineralize dokuların depozisyonu, yani “modeling” ile oluşur. Şekillenme süreci genel olarak, rezorpsiyon ve apozisyon mekanizmaları ile kemik yüzeylerine daha fazla kemik dokusu eklenmesi ya da varolan kemik dokusunun azalması şeklinde tanımlanabilir. Büyüme sırasında apozisyon miktarı rezorpsiyon miktarından fazladır (69).

2.1.6.2 Kemiğin Yeniden Şekillenmesi (Remodeling)

Süngersi kemiğin önce rezorbe olması daha sonra ilgili bölgede lameller yapıda yeni kemik oluşması olayına yeniden şekillenme (remodeling) adı verilir. Kemikte sürekli olarak osteoklastik faaliyet sonucu oluşan rezorpsiyon alanları ile bu boşluklara osteoblastlar tarafından kemiğin tekrar yapıldığı yeniden şekillenme süreci yaşanır (74). Kemiğin metabolik olarak aktif olması sadece yapısal bütünlüğü sağlamak için değil, hemostazın sağlanması için de gereklidir (78).

Yeniden şekillenme işleminde aktivasyon fazı lokal veya sistemik faktörlerin osteoblast mezenkimal kök hücrelerine olan etkilerine bağlıdır. İlk aktivasyon basamağı olan osteoklast ve osteoblast prekürsör hücrelerinin etkileşimini içerir. Bu etkileşim

sonucu osteoklastların farklılaşması, migrasyonu ve füzyonu gerçekleşir. Bu hücreler, mineralize kemik yüzeyine bağlanır ve düşük pH değerinde hidrojen iyonları ve Katepsin K gibi lizozomal enzimleri salgılayarak rezorpsiyonu başlatırlar. Rezorpsiyon sonucu, trabeküler kemik yüzeyinde düzensiz kaviteler oluşur. Kemik yüzeyindeki makrofajlar gibi tek çekirdekli hücreler geri dönüşüm fazında rezorpsiyon sürecini tamamlar ve kemik oluşumunu başlatacak sinyalleri oluştururlar. Kemik oluşum fazının başlaması ile mezenkimal prekürsörlerden farklılaşarak rezorpsiyon ile oluşan kaviteleri dolduran osteoblastlar, yeniden kemik yapımını sağlar (78).

Yeniden şekillenme döngüsünde kalsiyumu düzenleyen hormonlar iskeletin metabolik fonksiyonlarına yardımcı olurken, diğer sistemik hormonlar iskeletin genel büyümesini kontrol ederler (78).

2.1.7 Kemik Metabolizmasını Etkileyen Düzenleyici Faktörler

Kemik yapımı, şekillenmesi, yeniden şekillenmesi ve tamiri gibi hücrel işlevlerin uyumlu bir şekilde yürütülebilmesi için çeşitli sistemik ve lokal düzenleyici faktörlere ihtiyaç vardır.

2.1.7.1 Lokal Düzenleyici Faktörler

2.1.7.1.1 Büyüme Faktörleri:

Trombositler, makrofajlar ve fibroblastlardan salgılanan ve büyüme faktörleri adı verilen bu proteinler kemik metabolizmasında etkilidir. Kemik iyileşmesi sırasında, kemiğin damarlanmasını, sertliğini ve mekanik olarak işlev görmesini sağlayan bu proteinler, kemik morfojenetik proteinleri (BMP), insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF), dönüştürücü büyüme faktörleri (TGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (PDGF) ve fibroblast kaynaklı büyüme faktörleri (FGF)'dir. IGF-1 ve TGF-beta hem sistemik hem de lokal etkilidir.

2.1.7.1.2 Sitokinler:

İnterlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6), makrofaj (M-CSF) ve granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF) ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α), doğrudan veya osteoklast migrasyonunu sağlayarak kemik yıkımını artırır ve kemiğin yeniden yapılanma sürecinde önemlidirler.

2.1.7.1.3 Prostaglandinler:

Prostanoik asit adı verilen bir doymuş yağ asidi türevidir. Kemik hücreleri tarafından üretilen prostoglandin E2'nin (PGE2), hem kemik yapımında hem de kemik yıkımında uyarıcı etkisi vardır (79).

2.1.7.2 Sistemik Düzenleyici Faktörler

2.1.7.2.1 Kalsitonin:

Paratiroid hormonun (PTH) antagonistidir. Tiroid bezinin C hücrelerinde sentezlenen, polipeptid yapıda bir hormon olan kalsitonin, osteoklastlar üzerinde önemli inhibitör etkiye sahiptir. Hem kompakt, hem de trabeküler kemik yapımını artırır. Olgunlaşmış osteoklastlar üzerinde, osteoklastik aktiviteyi engelleyici bir etkisi vardır. Ayrıca kalsitonin serum kalsiyum seviyesini düşürmektedir (80).

2.1.7.2.2 Vitamin D:

D vitamini, kalsiyum ve fosfatın intestinal emilimini artırır ve böylece serumda normal seviyede bulunmasını ve kemik mineralizasyonunun sürdürülmesini sağlar (81).

2.1.7.2.3 Büyüme Hormonu (GH) ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF):

Ergenlik döneminde fazla salgılanan büyüme hormonu (GH) ve IGF-1, doruk kemik kütlelerinin kazanılmasında ve devam ettirilmesinde rol almaktadırlar. Yaşlanma ile GH salınımında ve IGF-1 düzeylerinde azalma meydana gelmektedir (82).

2.1.7.2.4 Glukokortikoidler:

Glukokortikoidler, anabolik ve katabolik etkisi olan PTH ve IGF-1 gibi hormonların etkinliğini artırır. Aşırı kortikosteroid aktivitesi, osteoblast apoptozuna neden olarak aktif osteoblast sayısını ve aktivitesini azaltır. Glukokortikoidler doz ve süreye bağlı olarak kemik yıkımını artırır, kemik yapımını inhibe ederler (83).

2.1.7.2.5 Tiroid Hormonları:

Tiroid hormonu iskelet sisteminin gelişiminde önemli bir role sahiptir. Ergenlikte doruk kemik kütlelerinin oluşumunda, erişkinlerde ise kemik döngüsü için gereklidir. Tiroid hormonunun gelişme çağında kemikte anabolik etkiler gösterdiği, erişkinlerde ise katabolik etki gösterdiği saptanmıştır (84).

2.1.7.2.6 Cinsiyet Hormonları:

Ergenlik döneminde salgılanan cinsiyet hormonları kemik mineral yoğunluğunu (BMD) ve doruk kemik kütlelerini arttırmaktadır. Östrojen ve androjenler kemiğin yeniden şekillenme oranını azaltır. Kemik kaybına karşı koruyucudur ve kemik kütlelerinin korunmasında etkilidir (85).

2.1.7.2.7 Paratiroid Hormon (PTH):

PTH, paratiroid ana hücrelerinde üretilir ve ekstraselüler kalsiyum düzeyine bağlı olarak paratiroid bezlerinden salgılanır. Kalsiyum dengesini düzenleyen en önemli hormondur. Kemik ve böbrekler üzerinde etkili olarak, kanda ve ekstraselüler sıvıda kalsiyum düzeyinin yüksek tutulmasını sağlar. PTH, kemikten kalsiyum ve fosfor salınımını ve böbrekte aktif D vitamini sentezini uyarır (86).

PTH'nın kemik dokusu üzerinde yeniden şekillenmeyi uyaran bir etkisi vardır. Öncelikle osteoblast reseptörlerini etkileyerek, yeni kemik yapımının durdurulmasını ve osteoklast uyarıcı faktörün salgılanmasını sağlar. Böylece kemik matriksinin rezorbe olmasına ve kalsiyumun serbest kalmasına neden olur (75).

2.1.8 Alveolar Kemik

Alveolar kemik, çene kemiklerinin, diş soketlerini içeren ve dişleri destekleyen kısmıdır. Kretin bukkal ve lingual duvarları ile interdental ve interradiküler septaları oluşturan kortikal kemiği ve bu tabakalar arasında bulunan trabeküler kemiği içerir. Alveolar kemik, fetal gelişim sırasında intramembranöz kemikleşme ile oluşur (87).

Alveolar soket duvarını oluşturan ve periodontal ligamentle temasta olan kompakt kemikte çok sayıda Sharpey lifleri (demet kemiği) bulunur. Alveolar kemiğin süngersi kısmı, kemik iliği boşluklarını çevreleyen trabeküllerden oluşur. Kemik iliği boşluklarının duvarları, kemik hücrelerine dönüşme potansiyeli olan endosteal hücre tabakası ile kaplıdır. Süngersi kemik ağırlıklı olarak interdental ve interradiküler bölgelerde bulunur. Maksillada mandibulaya göre süngersi kemik oranı daha yüksektir.

Alveolar kemik, üzerine gelen değişik mekanik güçlere adapte olabilmek için kuvvetin geldiği basınç bölgelerinde rezorpsiyon, gerilimin olduğu bölgelerde ise fizyolojik yeni kemik oluşumuyla yeniden şekillenir. Alveolar kemiğin yüksekliğini, konturunu ve densitesini etkileyen en önemli faktörler, dişlerin varlığı ve aktif fonksiyon görmeleridir. Diş çekimi, alveolar kemiğin vertikal ve horizontal boyutlarını etkiler ve %50'ye kadar azalmasına neden olabilir (87).

2.1.9 Diş Çekim Yarasının İyileşmesi

Diş çekiminden hemen sonra kanama meydana gelir ve eritrositler küme yaparak çöker. Fibrin ağları oluşurken, periodontal membrandaki damarlar büzülür. Doku hasarıyla orta derecede enflamatuvar yanıt gelişir (88).

1. gün: 24 saat sonra damar genişlemelerini takiben periferden pıhtıya doğru lökosit göçü olur. Alveolü dolduran fibrin iyileşmenin temelidir.

2. gün: Periodontal membrandan çıkan fibroblastlar yara çevresinden içerilere yayılmaya başlarlar. Yüzey epiteli proliferasyona başlar. Dişi sarmış olan alveol kemiğindeki osteoklastik aktivite ile birlikte kemik rezorpsiyonu başlar.

3. gün: Pıhtı granülasyon dokusu ile yer değiştirene dek çevre bağ dokusundan fibroblast ve kapillerler gelişmeye devam eder.

5. gün: Yara tabanında fibroblastlardan ve damar endotellerinden yapılı bir doku görülür. Yara yüzeyinde kalın bir lökosit tabakası, kenarlarda ise yüzey epiteli proliferasyonu vardır.

7. gün: Fibrin ağı içindeki fibroblastlar çoğalarak organize olmaya başlamıştır. Yeni kapillerlerin sayısı artmıştır. Yüzey epiteli ilerlemiştir, küçük yaralarda epitelizasyon tamamlanmış olabilir. Çekim esnasında zarar gören küçük alveol parçacıkları ya rezorbe olur ya da sökestr olarak atılır.

14. gün: Pıhtının yerini olgun granülasyon dokusu almaya başlar. Yaranın periferinde henüz mineralize olmamış genç trabeküller fark edilir. Genç kemik trabekülleri, periodontal membran artıklarındaki potansiyel hücrelerin osteoblasta dönüşmeleriyle meydana gelir. Dış alveolün kortikal kemiği yeniden yapılır. Fakat eskisi kadar yüksek değildir. Yüzeysel epitelizasyon tamamlanmıştır. Alveolün orjinal şekli 14. günde oluşmaya başlar.

21. gün: Depozisyon sonucu soket tam kalsifiye olmayan kemikle dolar. Yaklaşık bir ayda çekim kavitesini dolduran primer kemik önce rezorbe olur, daha sonra normal şeklini alana dek trabeküler kemik ile dolar. Kısmen mineralize olan trabeküller grafilerde görülebilir.

2.2 Bifosfonatlar

2.2.1 Bifosfonatların Tarihçesi ve Gelişimi

İlk olarak 1865 yılında Alman kimyagerler tarafından sentezlenen bifosfonatlar (BP) (1), kemik mineralizasyonunun fizyolojik bir inhibitörü olan pirofosfatların (PPi) stabil ve sentetik karbon analoglarıdır (89). BP'ler öncelikle endüstride kullanım alanı bulmuşlardır. 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 (7,90). İnsanda tedavi amacıyla kullanılan ilk BP olan etidronat (91,92), 1897 yılında sentezlenmiştir (93).

İlk olarak 1968’de BP’lerin kalsifikasyonu inhibe edici ve böbrek taşı oluşumunu engelleyici potansiyelini hedef alan in vitro deneylerde BP’lerin, PPI’ler gibi (4) HA kristallerine bağlandığını, kristal gelişimini inhibe ettiğini ve kalsiyum fosfatın çözünmesini engelleyerek antirezorptif etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (3,5). 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 (2,3). İlk defa 1971 yılında etidronat, Paget hastalığının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (92).

BP’lerin tıpta bir diğer kullanım alanı da tanı amaçlı kemik görüntüleme sistemleri olmuştur. 1970’lerin sonlarında kalsiyum fosfata olan yüksek afiniteleri sayesinde sintigrafik tetkiklerde radyoaktif bir madde olan teknesyum 99m metilen difosfatın (Tc99m MDP) kemiğe taşınmasında BP’lerden yararlanılmıştır. Tc99m MDP ile yapılan kemik taramalarında kemik döngüsü fazla olan mandibula ve maksillada yoğun infiltrasyon gösterdikleri bilinmektedir (16).

Daha sonra anti-tartar ve antiplak etkilerinden dolayı diş macunları içine katılmışlardır (94). BP türevi ilaçlar yaklaşık 40 yıldır çeşitli kemik, diş ve kalsiyum metabolizması hastalıklarının tedavilerinde kullanılmaktadır (15,34,95).

2.2.2 Bifosfonatların Kimyasal Özellikleri

Kemik rezorpsiyon inhibitörleri olarak kullanılan BP’ler kimyasal olarak, bir oksijene bağlanmış iki fosforik asitten oluşmuş, insan metabolizmasının doğal bir ürünü olan PPI’lerin (P-O-P) stabil analoglarıdır (6,89). Klinikte kullanılan bütün BP’lerin özelliği, insanlarda metabolize edilemeyen ve merkezi bir karbon atomunu paylaşan fosfat gruplarına sahip fosfat-karbon-fosfattan (P-C-P) oluşan bir yapıya sahip olmalarıdır. BP’ler bu yapı sayesinde pirofosforların aksine kimyasal veya enzimatik hidrolizlere karşı dirençlidir.

Kemiğin HA kristallerinin pozitif yüklü yüzeyi ile fosfat grubunun negatif yüklü yüzeyi arasındaki yüksek afinite sayesinde BP'ler kemik mineraline kuvvetli şekilde bağlanarak çözülmelerini önlerler. Böylelikle molekül biyolojik bozulmaya dirençli hale gelmekte ve canlı dokulardaki biyolojik aktivitesi uzun yıllar korunabilir. BP'ler vücut içerisinde metabolitlerine dönüşmez ve değişmeden vücuttan atılırlar (96).

BP'ler, iki yan zincire sahiptir. Karbon atomuna bağlı bu R1 ve R2 yan zincirleri BP'lerin kimyasal, fizikokimyasal ve biyolojik karakterlerindeki farklılıklardan ve aralarında gözlenen geniş spektrumlu aktivitelerden sorumludur (6).

Kemik minerallerine bağlanma, R1 yan zincirinde hidroksil veya amino grubunun bulunmasıyla kolaylaşır (6,8,90). R2 yan zincirinin yapısı ise, kemik rezorpsiyonunu inhibe etme etkinliklerini ve antirezorptif potens farklılıklarını belirler (2,96).

2.2.2.1 Zoledronik Asitin Kimyasal Yapısı

Potensi en yüksek BP'lerden olan Zoledronik asit (ZA) kimyasal olarak (1-hydroxy- 2-(1H-imidazol-1-yl)ethane-1,1-difosfonik asit) bifosfonik asit monohidrat olarak adlandırılır. Beyaz, kristal bir tozdur. Molekül formülü ($C_5H_{10}N_2O_7P_2 \cdot H_2O$), molekül ağırlığı 290,11 g/mol'dür. Suda ve özellikle de nötral pH'de (pH:6.8) çözünür, organik çözücülerde ise çözünmez.

2.2.3 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 (96).

BP'ler ayrıca kimyasal özellikleri ve moleküler etki mekanizmalarına göre nitrojen içermeyenler ve içerenler olarak iki gruba ayrılır. Nitrojen içermeyen BP'ler, etidronat, klodronat ve tiludronattır. İntrasellüler olarak metabolize edilerek adenozin trifosfatın sitotoksik, hidrolize edilemeyen analoglarına dönüşürler (2). Nitrojen içeren BP'ler ise alendronat, risedronat, pamidronat, ibandronat ve zoledronik asittir. Protein modifikasyonunu da denilen prenilasyonu inhibe ederler. Nitrojen içeren BP'ler kemik yıkımı inhibisyonunda çok daha etkilidir (21).

Diğer taraftan, BP'ler veriliş yoluna göre iki gruba ayrılmaktadırlar, oral ve intravenöz. Oral yoldan verilen BP'ler risedronat, alendronat, tiludronat ve etidronattır. İntravenöz verilen BP'ler ise pamidronat ve zoledronik asittir. İbandronat ve klodronat ise hem oral hem de İV yoldan verilebilmektedir (97).

BP'ler, aktivitelerine göre değerlendirilirken nitrojen içermeyen bir BP olan etidronata göre potens sıralaması yapılmaktadır (6,98). Etidronatın sıçanlarda kemik rezorpsiyonunu inhibe etme gücü yani potensi 1 birim kabul edildiğinde, alendronatın ~500, pamidronatın ~100, ibandronatın ~1.000, zoledronatın ise ~10.000 kat güçlü olduğu belirtilmiştir (6).

2.2.4 Bifosfonatların Farmakolojik Özellikleri

BP'ler oral yoldan alındığında uzun süreli açlıktan sonra alınmalıdır ve sonrasında 30-60 dakika boyunca hiçbir şey yenilip içilmemelidir. Sistemik metabolizması yoktur. Plazmadaki yarı ömrü kısadır. Emilen dozun %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 (99).

BP'lerin iskelette dağılımı homojen değildir. İlaç, kemik mineralinin çevre vücut sıvılarına katıldığı iskelet bölgelerini hedef alır. İskeletsel alım derecesi kemik döngüsünün hızına bağlıdır. BP'ler kemik içerisine girdikleri zaman fizyolojik kemik döngüsü sırasındaki yıkımlarla kemikten serbest hale gelirler. Yarı ömrü aktif iskeletsel

bölgelerin kemik döngüsü sürelerine bağlı olarak değişmektedir. Sıçan ve farelerdeki iskeletsel yarı ömür 3-12 ay arasında iken insanlarda >10 yıldır (6).

BP'lerin etki süresi tedavide kullanılma süresinden çok daha uzundur. Alendronatın etkisi, tedavi bırakıldıktan sonra 5 yıldan daha uzun bir süre daha izlenmeye devam edilebilirken zoledronatın tek bir doz uygulanmasını takip eden 12 ay boyunca kemik döngüsünün azalmaya devam ettiği gösterilmiştir (97).

2.2.5 Bifosfonatların Endikasyonları

Günümüz tıbbında, osteoporozun önlenmesinde ve tedavisinde, meme ve prostat kanseri gibi solid tümörlerin osteolitik kemik metastazlarında, maligniteye bağlı hiperkalsemi, multiple myelomanın osteolitik lezyonlarında, Paget hastalığında, fibröz displazide (15) ve diğer birçok metastatik hastalıklara bağlı oluşan komplikasyonları önlemede kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (7,16). Ayrıca ektopik kalsifikasyonlu ve kemikleşmeli hastalıklara sahip olanlarda kalsifikasyon inhibitörü olarak kullanılırlar (100). Çocuklarda ise osteogenesis imperfecta, ankilozan spondilit, fibröz displazi, juvenil osteoporoz ve gauchers hastalığının tedavisinde endikedir (101).

Risedronat ve alendronat gibi oral yoldan alınan BP'ler osteoporoz tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılırken (31,95), zoledronik asit ve pamidronat gibi intravenöz uygulanan BP'ler ise daha çok onkolojide tümörlere bağlı hiperkalsemi tedavisinde ve metastatik kemik tümörlerinin tedavisinde patolojik kırıkların önlenmesi, spinal basıncın kaldırılması ve ağrının azaltılması amaçlarıyla kullanılmaktadır (31,95,102).

2.2.6 Bifosfonatların Etki Mekanizması

Normal, sağlıklı kemikte kemiğin yeniden şekillenmesi dengeli bir şekilde gerçekleşir. Ancak BP'ler kemik yapımı ve rezorpsiyonu arasındaki dengenin bozulmasına neden olur. BP'ler hızlıca kemikte dağılarak yeni oluşmakta olan kemik içerisinde ve osteoklastların yakınında depolanır ve neredeyse sadece kemik üzerinde etki gösterirler. BP'lerin osteoklastlar üzerine doğrudan etkileri olduğu bilinmektedir.

Kemik döngüsü sırasında matrikse bağlanan BP'ler, osteoklastlar kemik rezorpsiyonuna başladıkları sırada serbest hale gelerek osteoklastlar tarafından fagosite edilir (12). Osteoklastların içindeki BP birikimi bu hücrelerde şekil değişikliği ve apoptoza neden olan hücre içi metabolizma üzerinde etkili olmaya başlar (12). Bununla birlikte BP'ler osteoklastların hareket ve adhezyon kabiliyeti ve aktivitesini etkileyerek osteoklast prekürsörlerinin toplanmalarını ve proliferasyonlarının azalmasına neden olurlar (6,13). Kemik rezorpsiyonunu önleyici etkisini bu şekilde göstermektedir (6,12). Kemik rezorpsiyonu ve kemik döngüsünün azalmasının yanı sıra kan akımının baskılanması ve azalan anjiyogenez ile iyileşme kapasitesinde düşüş gözlenir (11).

Kemik metastazı olan kanser hastalarında, iskelet komplikasyonu riski yüksektir. Tümör hücreleri ile kemik mikro çevresi arasındaki molekül etkileşimi sonucunda kemik hasarı bir kısır döngü halinde devam eder. BP tedavisi serum kalsiyumunu normal seviyeye indirerek iskeletsel komplikasyonları azaltır ve geciktirir. BP tedavisi kemikte radyoterapi ve ameliyat gereksinimini de azaltır (103).

2.2.6.1 Zoledronik Asitin Etki Mekanizması

ZA'nın ileri sürülen etki mekanizmaları:

- Osteoklast matürasyonunun inhibisyonu (14).
- Kemik rezorpsiyonu bölgesine osteoklastların toplanmasının inhibisyonu (14).
- Olgun osteoklast işlevinin baskılanması (9).
- Sitokin üretiminin azalması (IL-6) (104).
- Direkt anti tümör etkinlik (sitostatik ve sitolitik) (105).
- Tümör hücrelerinin yayılmasının ve kemik matrikse adhezyon ile invazyonunun inhibisyonu (106).
- Tümörlerde anti anjiyojenik etki (107) şeklinde sıralanabilir.

ZA'nın osteoklasttaki esas moleküler hedefi farnesil pirofosfat sentaz enzimidir. Preklinik çalışmalarda ZA, osteoklasta bağlı kemik rezorpsiyonunu diğer BP'lerden daha güçlü inhibe etmiştir (9).

2.2.7 Bifosfonatların Yan Etkileri

BP'ler genellikle iyi tolere edilen ilaçlardır, ancak uzun süre İV BP kullanımının, akut sistemik inflamatuvar reaksiyonlar, oküler şikayetler, akut ve kronik böbrek yetmezliği, nefrotik sendrom, elektrolit dengesizlikleri gibi komplikasyonlara yol açabildiği bilinmektedir (18).

Özofageal ve gastrik irritasyon, oral yoldan alınan BP'lerin kullanımına bağlı ortaya konmuş yan etkilerdir (108). Gastrointestinal (GI) intolerans ve ilacın sık olarak alınması gerekliliği, hastaların oral yoldan alınan BP'leri etkin olarak kullanılmasını engellemektedir (109,110). Bu nedenle zoledronik asitin parenteral yolla, yılda 1 kere infüzyonu, kadınlarda postmenopozal osteoporozun (PMO) önlenmesi ve tedavisinde FDA tarafından 2007 yılında onaylanmıştır (17). Böylelikle oral yoldan alınan BP tedavisindeki sık doz alımı ihtiyacı giderilerek hastalara daha cazip bir tedavi seçeneği sunulmuştur.

BP kullanımının en önemli yan etkilerinden biri de çene osteonekrozudur (18).

2.3 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozu (BRONJ)

2.3.1 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Tarihçesi ve Tanımı

18. yüzyılın sonlarında kibrit endüstrisinde çalışan işçilerin çenelerinde endemik olarak osteonekroz bulguları veren bir hastalık tanımlanmıştır. Yalnızca çenelerde sınırlanmış kemik nekrozu ve enfeksiyon ile karakterize olan ve ilk kez mesleki olarak bir kimyasala (fosfor elementi) maruz kalma nedeniyle görülen bir hastalık 'phossy jaw' tanımlanmıştır (111). Son yıllarda BP kullanan hastalarda da benzer komplikasyonların çıkışı konuyu yeniden gündeme getirmiştir (18).

Osteonekroz, radyoterapi gören hastalarda da görülmüş, ancak osteoradyonekroz hiperbarik oksijen (HBO) tedavisine ve cerrahi tedaviye yanıt verirken, BP kullanan hastalarda tedavi başarılı olmamıştır (112).

Amerikan Oral ve Maksillofasiyal Cerrahlar Derneği (AAOMS) BRONJ'u, 'baş-boyun bölgesine yönelik bir radyoterapi hikayesi olmayıp BP tedavisi görmüş veya görmekte olan hastaların maksillofasiyal bölgesinde, doktor tarafından teşhisi konulduğu andan itibaren 8 haftada iyileşmeyen, açığa çıkmış kemik varlığı' olarak tanımlamıştır (21). Sekiz haftalık süre, travma, diş çekimi ve ağız içi cerrahi girişimler sonrası yumuşak doku kapanmasının tamamlanması ve açığa çıkmış kemik varlığının olmaması için yeterli süre olarak görülmektedir (32).

BRONJ olgularında açığa çıkmış kemik varlığına ek olarak ağrı, şişlik, parestezi, supürasyon, yumuşak doku ülserasyonu, intra veya ekstraoral açıklıklar, dişlerin kaybı, spesisik olmayan radyolojik bulgular gibi ek semptomlar görülebilir. Amerikan Kemik ve Mineral Araştırma Derneği (ASBMR), bu bulguların açığa çıkmış kemik varlığı olmaksızın, tek tek veya beraber bulunmasının BRONJ tanısı koymak için yeterli olmayacağını, ancak hastalığın erken evrelerini oluşturabileceğini rapor etmiştir (32).

BP kullanımına bağlı çene nekrozundan ilk defa 2002 yılında Marx ve Stern bahsetmiştir (20). O sırada yalnızca klinik olarak açığa çıkmış, iyileşme göstermeyen kemik dokusu gözlenmiş ve debridman cerrahisi tabloyu daha da kötüleştirerek açığa çıkmış kemik miktarının artmasına neden olmuştur. Bunu 2003 yılında Marx ile Migliorati tarafından bildirilen diğer olgular izlemiştir (27,38). Marx, pamidronat ve zolendronik asit kullanan 36 hastada BRONJ gelişimini bildirmiştir (38). Hemen ardından Ruggiero ve ark. 63 olgu içeren daha büyük bir seri yayınlamıştır (27).

2.3.2 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Epidemiyolojisi

BP tedavisi uygulanan bireylerde osteonekroz görülme sıklığı %1-%21 arasındadır (22). Bunun %46,5'i multiple myeloma, %38,8'i metastatik göğüs kanseri, %6,2'si prostat kanseri, %4,1'i osteoporoz, %3,5'i diğer metastatik kanser, %0,8' i Paget hastalarıdır (25,33-35,113). Olguların çoğunda etken ZA gibi yüksek doz İV BP uygulaması olmuştur (34). Bu hastalarda BRONJ insidansı %0,8-%12 arasında değişmektedir (21,22,25,30,31). Oral yoldan alınan BP'leri kullanan osteoporoz hastalarında ise osteonekroz oranının %0,01 ila %0,001 arasında olduğu tahmin

edilmektedir (32).

BRONJ, hastaların %68'inde açığa çıkmış kemik, %23'ünde en az tek dişte mobilite, %17'sinde ise fistül oluşumu şeklinde görülür. Açığa çıkmış nekrotik kemik genellikle, mandibulanın posterior bölgesinde ve lingual tarafta görülür. Nekrotik kemiğin açığa çıkma nedeni %37 diş çekimi, %28 mevcut periodontal hastalık, %11 periodontal cerrahi, %3 implant cerrahisi, %1 apikal rezeksiyon sonucu oluşurken, %25'i spontan oluşmaktadır (25). Olguların yaklaşık üçte birinde lezyonlar ağrısız gelişmektedir (33). BP kullanımını sonrası osteonekroz sadece maksilla ve mandibulada görülürken diğer kemiklerde görülmemiştir (33,35,114). Vaskülarizasyon özellikleri nedeniyle olguların %60'ı mandibula, %30'u maksillada görülürken, %10'u her iki kemikte birlikte görülmektedir (115).

2.3.3 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Patogenezi

2002 yılında ilk kez tanımlandığından beri BRONJ ile ilgili çok sayıda rapor yayınlanmasına ve pek çok hipotez öne sürülmüş olmasına rağmen (20,35,38,39,116), BRONJ'un patofizyolojisi hakkında çok az veri edinilmiştir.

BP'ler, çiğneme basıncının uyardığı yüksek metabolik hız nedeniyle çenelerde depolanma eğilimindedir. Mandibulanın posterior lingual kısmındaki azalmış kan dolaşımı, bu bölgede BRONJ görülme sıklığının yüksek olmasını açıklamaktadır.

BRONJ'un patogenezi, BP'lerin osteoklastların apoptozuna ve osteoklast öncü hücrelerinin farklılaşmasının önlenmesine yol açarak, kemik dokusunun yeniden şekillenme süreci üzerindeki etkisine dayandırılmaktadır. BP'ler düşük dozlarda kullanıldıklarında osteoklastların rezorptif aktivitesini inhibe ederken, denge osteoblastik aktiviteye kayar ve kemik oluşumunda artışa sebep olur. Yüksek dozda kullanılması ise osteoklastik aktivite daha da azalır. Kemik yenilenme mekanizması bozulur ve avasküler nekroz riski artar (117). Kemikte rezorpsiyonun azalmasıyla birlikte apozisyon da azalmaya başlar ve kemik tamir metabolizması, büyüme-gelişme kapasitesi ve kalitesi bozulur. Yeni kemikteki damarlanma ve osteoblastik aktivitenin de

azalmasıyla kemik tamirinde ve kemik döngüsünde azalma gözlenir. Aşırı ilaç birikiminin son safhasında apoptoz gerçekleşir (34).

2.3.4 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Risk Faktörleri

BP'lere bağlı çene kemiklerinin osteonekrozu, spontan olarak gelişebileceği gibi, herhangi bir oral cerrahi işlem sonrası veya bir patoloji sonrasında da gelişebilir (33). BRONJ oluşumunda rol oynayan risk faktörleri üç grupta incelenebilir: 1- ilaçla ilgili risk faktörleri, 2- lokal risk faktörleri ve demografik/sistemik risk faktörleri.

İlaça bağlı risk faktörleri, kullanılan BP çeşidi, uygulama şekli ve tedavinin süresidir. Altı aydan fazla potent BP kullanan hastalar yüksek risk altındadır (35). İV uygulamada nekroz görülme oranı oral yoldan uygulanmasına kıyasla daha fazladır ve İV ilaçlar arasında en fazla nekroza yol açanı zoledronik asittir (118). Lokal risk faktörleri, diş çekimi, dental implant, kemiği ilgilendiren periodontal cerrahi ve periapikal cerrahi uygulanan hastalarda BRONJ insidansının spontan gelişmeye oranla 7 kat fazla olduğu bildirilmiştir (40). Nekrozların %25,2 spontan olarak ortaya çıktığı, %37,8 diş çekimi sonrası, %28,6 periodontal hastalığa bağlı, %11,2 periodontal cerrahi sonrası ve %0,8 apikal rezeksiyon ile ortaya çıktığı bildirilmiştir (33). Ayrıca kortikosteroid, talidomid, sigara ve alkol kullanımı, diyabet, kötü ağız hijyeni ve kemoterapötik ajanlar gibi diğer demografik ve sistemik faktörlerin de etkili olduğu düşünülmektedir (22,37).

2.3.5 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Klinik Bulguları

Klinik incelemede tipik bulgu nekroze alveol kemiğidir. Kemik açığa çıkar ve bazen tabloya ağrı da eşlik eder. BP tedavisi gören hastalarda gelişen çene kemiği nekrozu, yıllar boyunca asemptomatik şekilde kalabilir. Osteonekroz hastalarının yaklaşık %30'u asemptomatik olmasına rağmen kliniğe gelen hastalar, yumuşak doku şişliği ile beraber şiddetli lokal ağrı, akıntı ve diş kaybından şikayet etmektedir.

Nekrozun klinik olarak görülebilir hale gelmesinden önce ilk olarak ağrı, dişte mobilite, mukozada şişlik ve kızarıklık ve ülserasyon gibi semptomlar gözlenir. Erken dönemde açığa çıkan kemiğin yüzeyi düzgündür, daha sonra yüzey girintili çıkıntılı hale

gelir. kemiğin keskin kenarları temasta olan yumuşak dokuda ülserasyona neden olabilir. Sonrasında kemik sökestrasyonu ve patolojik kırık gelişebilir (102,118).

2.3.6 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Radyolojik Tanısı

Osteonekrozun erken döneminde belirgin bir değişiklik gözlenmez. Periodontal aralıkta genişler. Lezyon ilerledikçe geniş radyolüsent alanlarla birlikte kemik sökestrasyonu görülür ve bazen çene kemiği fraktürleri ile sonuçlanabilir. Trabeküler yapının genişlik, mineral densitesi, lakünleri ve trabekül oluşumunda değişiklikler meydana gelir. Kortikal kemikte erozyon oluşur. Periostal yeni kemik oluşumu gözlenebilir (119,120).

Radyonükleotid kemik taramaları, kemikteki vaskülarizasyon değişikliklerini en iyi görüntüleyen tekniklerdir. Bu taramalar osteonekrozun erken tanısında yardımcı olabilir (121). Osteonekroz sadece ilerlemiş osteonekroz olgularında ve ekspozite nekrotik kemik varlığında radyolojik olarak saptanabilir. Dental panoramik radyografi, rutin dental değerlendirme için tavsiye edilir, böylece kortikal kemik tutulumu yapmış osteolitik lezyonlar kolayca saptanabilir (122-124). Bilgisayarlı tomografi (CT), özellikle osteonekroz ve metastatik kemik hastalığının ayırıcı tanısında yardımcı olur (119,122,125).

2.3.7 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Önlenmesi

BRONJ'un tedavisindeki güçlükler nedeniyle koruyucu önlemler alınması önemlidir. Hastada BP tedavisine karar verildiyse, invaziv işlemler başta olmak üzere tüm dental tedaviler bitirildikten sonra ilaç tedavisine başlanmalıdır. Daha sonradan risk oluşturabilecek durumlarda radikal tedavi düşünülmelidir. Hasta osteonekroz riski konusunda bilgilendirilerek ağız hijyeninin önemi vurgulanmalıdır (126).

2.3.8 Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Tedavisi

BRONJ tedavisinde genellikle cerrahi olmayan yaklaşım önerilmekte ve semptomların ve ağrının giderilmesi, yumuşak ve sert dokuda sekonder enfeksiyon kontrolü, nekrozun ilerlemesinin engellenmesi ve fonksiyon sağlanması hedeflenir (126). kemiğin tamamında tutulum olduğu için nekrotik kemiğin altından kanlanması

iyi, canlı ve iyileşme potansiyeli olan kemik çıkmaz (15,113). Kemik iyileşmesinin olmaması, yumuşak doku iyileşmesini de engeller. AAOMS, klinik evreyi göz önünde bulundurarak temel tedavi prensiplerini ortaya koyan bir sınıflandırma yapmıştır (21).

Evre-0, açığa çıkmış nekrotik kemik varlığı gözlenmeyen, risk altındaki hastaları kapsar. Hasta durumla ilgili bilgilendirilmeli ve düzenli kontrole çağrılmalıdır. Herhangi bir tedavi endike değildir. Evre-1, enfeksiyon bulgularının eşlik etmediği, açığa çıkmış nekrotik kemik varlığı olan, asemptomatik hastaları içerir. Önerilen tedavi, ağız boşluğunun klinik olarak düzenli bir şekilde kontrol edilmesi ve konservatif bir yaklaşım sağlanmasıdır. Antimikrobiyal gargaralar ve 15 ml %0,12'lik klorheksidin diglukonatın günde üç defa lokal irrigasyonu ile bölgenin temizlenmesi önerilir. Açığa çıkmış kemikte sivri kenarlar varsa kemikteki açıklığı büyütmeyecek şekilde kontür düzeltilmesi yapılmalıdır. Evre-2, enfeksiyon, ağrı ve kızarıklıkla birlikte, açığa çıkmış nekrotik kemik varlığı olan hastalardan oluşur. Analjezik ve antimikrobiyal gargaranın yanı sıra sekonder enfeksiyonun tedavisi için penisilin, klindamisin ya da sefazolin gibi geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi uygulanmalıdır. Cerrahi tedavi konservatif olmalı veya ertelenmelidir. Nekroze olmuş kemik, tamamen hareketli ve çevreden izole hale gelmişse çıkarılabilir, ancak dışarı atılma eğiliminde olmayan nekroze alanlara yapılan cerrahi müdahale durumun daha kötüye gitmesine neden olabilir. Evre-3, enfeksiyon ve ağrı ile birlikte patolojik kırık, ekstraoral fistül veya inferior sınıra uzanan osteolitik alandan en az birine sahip olan ve açığa çıkmış nekrotik kemik varlığı olan hastaları kapsar. Yoğun bir şekilde antibakteriyel gargara yapılmasına ek olarak oral veya İV yoldan etkene yönelik bir antibiyotik uygulaması da önerilmektedir. Parasetamol ile kombine edilmiş narkotik analjezikler, güvenilir ve etkin bir ağrı kontrolü sağlamaktadır. Nekrotik kemiğin cerrahi olarak uzaklaştırılması gerekmektedir.

Bazı araştırmacılar, BRONJ tanısı konulan olgularda BP tedavisinin durdurulmasını önerir. Tedaviye ara verilmesi, BP'nin iskelette depolanmasından sonraki yarı ömrünün 10 yıldan daha uzun olduğu dikkate alındığında hala tartışma konusudur (127).

Tedavisinde HBO ve Nd:YAG lazer uygulaması alternatif tedavi yöntemi olarak denenmiş, ancak HBO tedavisinin etkisiz olduğunu bildirilmiştir (51,128).

BRONJ tedavisinde kemik döngüsünü artıracak PTH kullanılması tavsiye edilmektedir. BP tedavisine ara vererek 6 ay süresince PTH kullanımının osteoklastik aktivitede önemli bir değişiklik yaratmasa da kemik döngüsünü artıracığı ve osteonekrozun iyileşmesini sağlayacağı öne sürülmektedir (51).

2.4 Teriparatid

Paratiroid bezinin ana hücreleri tarafından üretilen ve 84 amino asitten oluşan PTH'nin ilk 34 amino asitlik kısmı, biyolojik olarak aktif kısımdır ve teriparatid bu kısımdan oluşur. Teriparatid (TP), rekombinan insan paratiroid hormonu (1-34) [rhPTH(1-34)] olarak da bilinmektedir (44). TP'nin 20 µg enjekte edilebilen formu, 2002 yılında yüksek kırık riskine sahip PMO'su olan kadınlarda ve primer veya hipogonadal osteoporozu olan erkeklerin tedavisinde, 2009 yılında glukokortikoidle ilişkili osteoporoz tedavisinde FDA tarafından onay almıştır. Kemik oluşumunu uyarmakta ve kemik üzerinde anabolik etki göstermektedir (45,129).

2.4.1 Teriparatidin Farmakolojisi

Teriparatid 20µg dozdaki subkütan enjeksiyondan yaklaşık 30 dakika sonra serumdaki en yüksek konsantrasyonuna ulaşır ve 3 saat içerisinde konsantrasyonu azalır. Teriparatidin gerçek biyoyararlanımı %95'tir. TP'nin sistemik atılımı (kadınlarda yaklaşık 62 L/h, erkeklerde yaklaşık 94 L/h), hepatik ve ekstrahepatik atılımı ile uyumlu olarak, normal hepatik plazma akışından hızlıdır. Dağılım hacmi İV enjeksiyon sonrasında yaklaşık 0,12 L/kg'dır, ancak subkütan enjeksiyon sonrasında değeri değerlendirilmemiştir. TP'nin serumdaki dağılımının yarı ömrü, İV enjeksiyon sonrasında 5 dakika iken, subkütan enjeksiyon sonrasında yaklaşık 1 saattir (44,130).

Prospektüs bilgisine göre günde 1 kez 20µg TP alındığında serum kalsiyum konsantrasyonu, dozun alınmasından yaklaşık 2 saat sonra geçici olarak yükselmeye başlar, 4-6 saat arasında maksimum konsantrasyona (ortalama artış 0,4 mg/dL) ulaşır, 6 saat sonra azalmaya başlar ve 16-24 saat sonra başlangıç değerlerine geri döner (44).

TP'nin periferel metabolizmasının, karaciğerdeki nonspesifik enzimatik mekanizmalar tarafından yürütüldüğü ve böbreklerden atıldığı düşünülmektedir (44).

2.4.2 Teriparatidin Uygulanması

Teriparatid, deri altı enjeksiyonu için tek kullanımlık kalem halinde cam bir kartuş içerisinde steril, renksiz, transparan, izotonik solüsyon olarak temin edilmektedir. Her mililitresinde 250 µg TP (asetat, klorid ve su içeriği ayarlanmış), 0,41 mg glacial asetik asit, 0,1 mg sodyum asetat (anhidro), 45,4 mg mannitol, 3 mg metakrezol ve enjeksiyonluk su içermektedir. pH'nin 4'e ayarlanması için %10'luk hidroklorik asit solüsyonu ve/veya %10'luk sodyum hidroksit solüsyonu da eklenmiş olabilir (44).

TP, 28 gün boyunca, günde bir kez periton içine ya da kalça bölgesine enjekte edilir. Kalem her uygulamada 20 µg TP verir. Başlangıç dozları oturur veya yatar vaziyetteyken uygulanmalıdır. Bu süre sonunda içerisinde kullanılmamış solüsyon olsa bile kalemin çıkarılmalıdır. Kalem, 2°C-8°C'de buzdolabında saklanmalıdır (131).

2.4.3 Teriparatidin Etki Mekanizması

TP'nin sistemik uygulanma şekli, iskelet sistemi üzerine olan etkisini belirler. Sürekli PTH etkisi altında olmak, osteoklastların farklılaşmasını ve kemik yıkımını artırırken, aralıklı uygulanması, osteoblastik aktiviteyi, osteoklastik aktiviteden daha fazla uyarır. Aktif osteoblast sayısındaki ve oluşma hızındaki artışla birlikte, osteoblast apoptozu da önlenir. Böylece trabeküler ve kortikal kemik yüzeylerinde yeni kemik yapımı görülür. Düşük dozda, aralıklı TP, osteoblastlar tarafından bazı sitokinlerin üretimini de uyarır. TP'nin kemik yapımını uyarması ile iskelet sistemi üzerindeki anabolik etkisi meydana gelir, kemik dayanıklılığı, kütlesi, çap ve kalınlığında artış sağlanır (48,49,132). Teriparatid, trabekül kalınlığını arttırarak BMD'yi arttırmasının yanı sıra, kortikal kalınlığı da arttırarak kemiğin dayanıklılığını arttırmakta ve mikromimari yapıyı kuvvetlendirmektedir. Kemik rezorpsiyonu üzerindeki etkisinin ise osteoklast farklılaşmasını düzenleyen hücre sinyalizasyon molekülleri üzerine olan dolaylı etkisine bağlı olduğu düşünülmektedir (48,133,134).

2.4.4 Teriparatidin Yan Etkileri ve Güvenilirliği

Genel olarak TP enjeksiyonları iyi tolere edilir. Enjeksiyon yerinde kızarıklık ve ağrı, bulantı, bacaklarda kramp, geçici ortostatik hipotansiyon ve geçici hiperkalsemi görülebilir (133,135,136). İlacın yan etkileri arasında anjina pektoris, asthenia, kabızlık, depresyon, baş dönmesi, baş ağrısı, hipertansiyon, hiperürisemi, uykusuzluk, bulantı, boyun ağrısı, senkop ve vertigo da bulunmaktadır (44,130).

Teriparatidin sıçanlara belli bir dönem verilmesi sonucu, malign bir kemik tümörü olan osteosarkom riskinin arttığı görülmüştür (44,45,135). Bu çalışmalarda kullanılan Fischer 344 türü sıçanlar, dışarıdan PTH uygulaması olmadan da osteokarsinom gelişme riski altındadır. Ayrıca sıçanlara neredeyse hayatları boyu günlük PTH uygulanmıştır. İlacın bu etkisi, doza, süreye ve sıçanın bulunduğu yaşam döngüsüne bağlanmıştır (45). Ancak TP'nin güvenilirliği ve etkinliği 2 yıldan uzun süren tedavilerde çalışılmamıştır. Bu yüzden ilacın 2 yıldan daha uzun süre kullanımı önerilmemektedir (45). Tedavi süresi, Avrupa'da 18 ay, Amerika Birleşik Devletleri'nde 24 ay ile sınırlıdır.

Bununla birlikte TP'nin, hiperkalsemi, kemik metastazı, iskeletsel malignite veya osteoporoz dışındaki metabolik kemik hastalıkları, sebebi bilinmeyen alkalin fosfataz yüksekliliği, hiperkalsemi ve iskelet sistemine yönelik radyoterapi varlığında kullanılması önerilmemektedir (133,135,136).

2.4.5 Teriparatidin Farmakoeconomik Özellikleri

TP tedavisinin aylık maliyeti, osteoporoz tedavisinde kullanılan diğer ilaçlarla kıyaslandığında 8 kat daha pahalı bir tedavi seçeneğidir (130). Bazı ülkelerde TP kullanımının yaygınlaşması pahalı bir tedavi seçeneği olması nedeniyle daha uzun sürmüştür.

Teriparatid ile tedavi süresi, sıçanlarda osteosarkom insidansında artış gösteren çalışmalar nedeniyle toplamda 18 ay ile sınırlandırılmıştır. Türkiye'de 18 aylık bir tedavinin maliyeti yaklaşık 14.436 TL'dir (137).

2.5 Teriparatidin Bifosfonatların İndüklediği Çene Osteonekrozunun Tedavisinde Kullanımı

Teriparatid gibi anabolik ajanların, osteoklastlar tarafından sağlanan kemik kaybını engelleyerek kemik döngüsünü azaltan antirezorptif ajanlardan farklı olarak (10-14), hem trabeküler hem de kortikal kemikte doğrudan yeni kemik oluşumunu uyarıcı etkileri vardır (48). BRONJ tanısı konulan hastaların, PMO tedavisinde kullanımı FDA tarafından onaylanan ve kemiğin yeniden şekillenmesi üzerinde doğrudan uyarıcı etki gösteren TP ile tedavi edildiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (50-65). Bu olguların her birinde, diğer pek çok konvansiyonel girişim (BP tedavisinin kesilmesi, debridman ve antibakteriyel ajanlar) uygulanmasına rağmen BRONJ tedavisi, ancak TP uygulanması ile sağlanabilmiştir. Bu durum BRONJ'un kemiğin yeniden şekillenmesinin baskılanması sonucu oluştuğuna dair hipotezi desteklemektedir (34,117).

Günümüzde düşük doz teriparatidin öncelikli endikasyonu osteoporoz hastalarıdır. Bu nedenle osteoporozun tedavisi veya önlenmesi için oral veya intravenöz yolla BP tedavisi gören ve çenesinde osteonekroz gelişen bu hastalar teriparatid tedavisi için adaydır. Teriparatid tedavisi, primer veya metastatik maligniteye bağlı aktif osteolitik kemik hastalığı olan hastalarda kontraendikedir. Ancak bu hastalarda BRONJ gelişmesi halinde yalnızca nekrozun tedavisine yönelik kısa süreli bir teriparatid tedavisi yapıp yapılamayacağı konusunda kesin bir bilgi yoktur.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Yeditepe Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 30 adet 10-12 haftalık, ortalama 182±9 gram ağırlığındaki, sağlıklı, Sprague-Dawley cinsi erişkin dişi sıçanlar üzerinde yürütüldü. Çalışma içeriği, Yeditepe Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Etik Kurulu'nun (YÜDHEK) 13.04.2012 tarih ve 260 sayılı kararı ile onaylandı (EK 1). Tüm sıçanlar, 21°C sıcaklıkta %40-%60 nem oranında, sürekli ılık ve temiz havada, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık sıklıta üçerli olarak kafeslerde barındırıldı. Sıçanların beslenmesi, sürekli ve sınırsız su olacak ve herhangi bir gıda kısıtlaması yapılmayacak şekilde uygulandı.

Çalışmada kullanılan sıçanlar, her bir grupta on hayvan olacak şekilde rastgele seçilerek üç gruba ayrıldı.

- Grup 1 (n=10) Zoledronik asit (ZA) grubu
- Grup 2 (n=10) Zoledronik asit+Teriparatid (ZA+TP) grubu
- Grup 3 (n=10) Kontrol (CON) grubu

Kontrol grubundaki sıçanlara çalışmanın ilk gününden başlayacak şekilde 6 hafta boyunca haftada 3 kez periton içi serum fizyolojik (0,1 mg/ml) verilirken, ZA grubundaki ve ZA+TP grubundaki sıçanlara yine çalışmanın ilk gününden itibaren 6 hafta boyunca haftada 3 kez 0,1 mg/ml serum fizyolojik ile karıştırılarak zoledronik asit (200 µg/kg) periton içine uygulandı. Son enjeksiyonlardan 1 hafta sonra veteriner denetiminde sıçanlara 80-100 mg/kg Ketamin hidroklorid (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve hem analjezik hem de anestezi olarak %2'lik 10 mg/kg Ksilazin hidroklorid (Rompun®) kas içine enjekte edilerek diş çekimi öncesi genel anestezi sağlandı.

Asepsi ve antisepsi şartlarına uyularak cerrahi işleme hazır hale getirilen sıçanların sol alt 1. azı dişlerinin çekiminden önce bölgeye kanama ve işlem sonrası ağrı kontrolü için 1:100.000 epinefrin içeren birkaç damla %2'lik lidocaine hidroklorid ile ilgili bölgenin infiltratif anestezi yapıldı. Steril cerrahi aletlerle sıçanların dil ve yanağı



Resim 1. Diş çekimi öncesi ağız içi görüntü.

ekarte edildikten sonra (Resim 1), ucu kıvrık uygun hemostat ile lüksasyon yapılarak tüm sıçanların alt sol birinci azı dişleri çekildi (Resim 2).



Resim 2. Diş çekimi sonrasında ağız içi görüntü.

Diş çekiminden sonra çekim bölgesi steril gaz tamponla tampona edilip ilave herhangi bir işlem yapılmadan iyileşmeye bırakıldı. Diş çekimi sonrasında sıçanların beslenmesine yardımcı olabilmek amacıyla kafeslere toz yem konuldu.

Diş çekiminden 28 gün sonra ZA+TP grubundaki sıçanların deri altına 28 gün boyunca 0.1 mg/ml serum fizyolojik ile karıştırılarak teriparatid (30 µg/kg/gün) enjeksiyonu yapıldı.

Çalışma prosedürleri deney hayvanları tarafından genel olarak tolere edilebildi. Ancak diş çekimleri sonrasında, biri kontrol grubundan, diğeri zoledronik asit grubundan olmak üzere 2 adet sıçan öldüğü için çalışma dışı kaldı. Çalışma süreci sonunda, yani 16. haftada tüm deney ve kontrol gruplarına ait sıçanlar sakrifiye edildi.

Bu çalışmanın sıçanların sakrifiye edilmesi işlemine kadar olan kısmı, Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (YÜDETAM) laboratuvarında, radyolojik değerlendirmeler ile histolojik incelemelerin bir kısmı Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA) bünyesindeki 'Functional Anatomy' ve 'Oral Cell Biology' Departmanları'nda, histolojik değerlendirmelerin geri kalan kısmı ise İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi Bilim Dalı'nda yürütüldü.

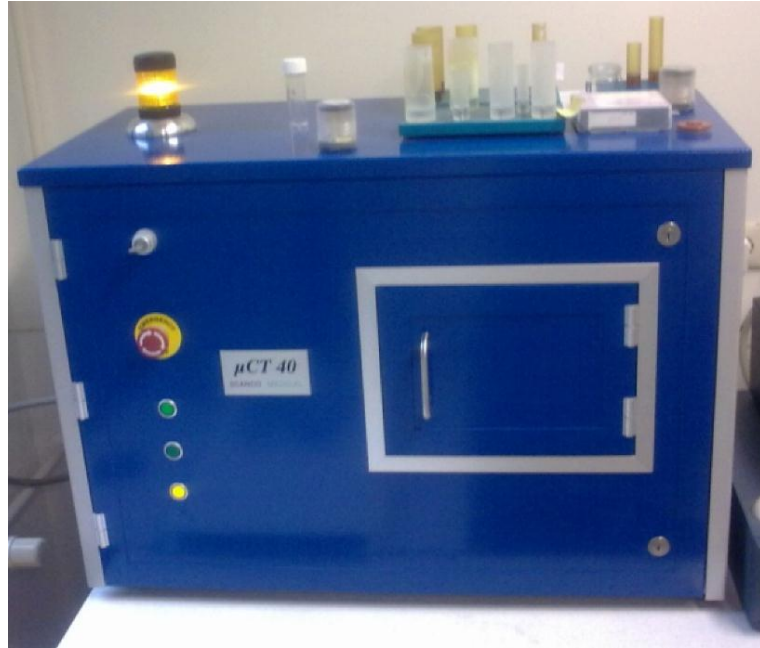
3.1 Klinik Değerlendirme

Sıçanların mandibulasının ilgili bölgesi önce, abse, fistül ağzı, açığa çıkmış kemik varlığının değerlendirilmesi için çıplak gözle muayene edildi. Daha sonra her bir sıçanın mandibulası disseke edilerek çıkarıldı ve radyolojik ve histolojik değerlendirmeler için %10'luk (10 ml %40'lık formaldehit, 90 ml su) formaldehite konuldu.

3.2 Radyolojik Değerlendirme

Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının bütünlüğü bozulmamış olan mandibulaları, yüksek çözünürlüklü mikro-bilgisayarlı tomografi sistemi (μ CT 40, Scanco Medical AG, Brüttsellen, Switzerland) ile tarandı (Resim 3). Bu sistem, x-ışını demetindeki düşük enerjili ışınları uzaklaştıran alüminyum bir filtre (0,05 mm) ile donatılmıştır. Sistem iki haftada bir, yoğunlukları 0, 100, 200, 400, 800 ve 1200 mg HA/cm³ olan fantomlar kullanılarak kalibre edilmektedir.

Tarama öncesinde her bir çene, metilmetakrilat monomer ile dikdörtgen prizması şeklinde hazırlanmış blok üzerine, oklüzal kısım blok üzerine temas edecek ve yer düzlemine paralel olacak şekilde ters olarak yerleştirilerek sabitlendi (Resim 4). Daha sonra çene, plastik blokla beraber iç çapı 36 mm, yüksekliği 75 mm olan bir polieterimid silindirik yapıda bir tüp içerisine sentetik bir süngerle sabitlendi. Tüpün içerisi kurumayı önlemek için PBS (Phosphate buffered saline) ile dolduruldu. Tüpün ağzı tarama sırasında yüksek sıcaklığa bağlı olarak oluşabilecek buharlaşmayı önlemek için Parafilm M (SPI Supplies) ile kapatıldı.



Resim 3. Çalışmada kullanılan μ CT tarama cihazı ve polieterimid tüpler.



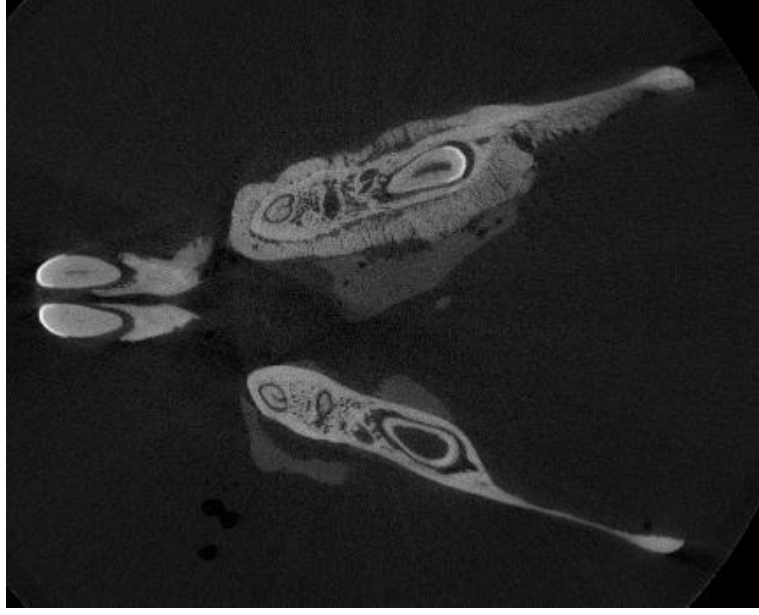
Resim 4. μ CT taraması öncesinde çenenin oryantasyonu.

Cihazın ayarları gerilim=55 kVp, intensite=177 μ A, integrasyon zamanı=250 ms, izometrik çözünürlük=18 μ olacak şekilde yapıldı. Ayrıca kemiği yumuşak dokudan ayırt edebilmek için bütün taramalar için 507,6 mg HA/cm³'lik bir eşik değeri uygulandı.

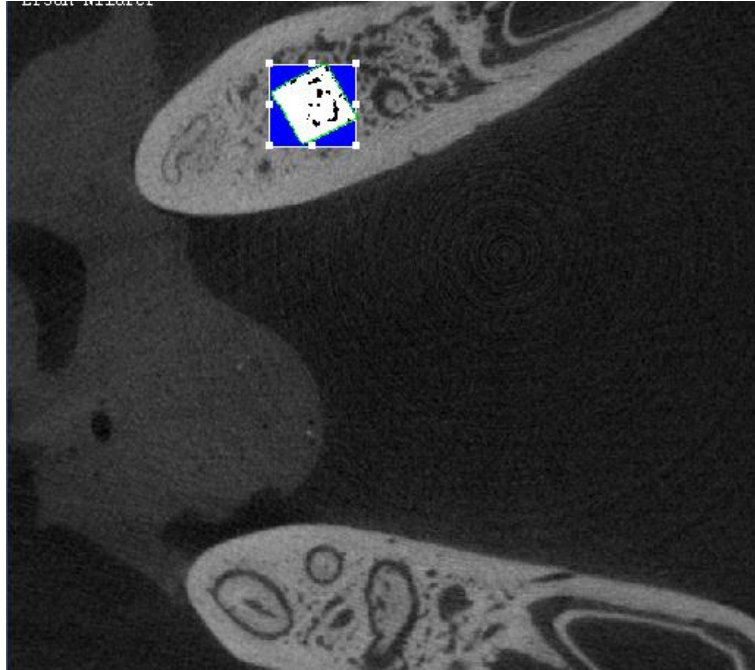
Taramalar sonrasında yapılan ön değerlendirilmede, ZA+TP grubuna ait bir sıçanın diş çekimi yapılan sol çenesinde periost reaksiyonu ile yaygın mineralizasyon sonucu uç değerler gösterdiğine karar verilerek çalışma dışı bırakıldı (Resim 5). Bu durum sonucunda her bir grupta 9 adet sıçan kaldı.

Radyolojik incelemeler karanlık odada, her bir seans süresi yarım saati geçmeyecek şekilde yapıldı. Sağ alt birinci azı dişinin kökünün bulunduğu alan referans noktası alınarak çekim boşluğundan 1 mm x 1 mm alanında, 20 kesit yüksekliğindeki bir alan kemik yoğunluğu ölçümü yapılacak alan olarak belirlendi (Resim 6).

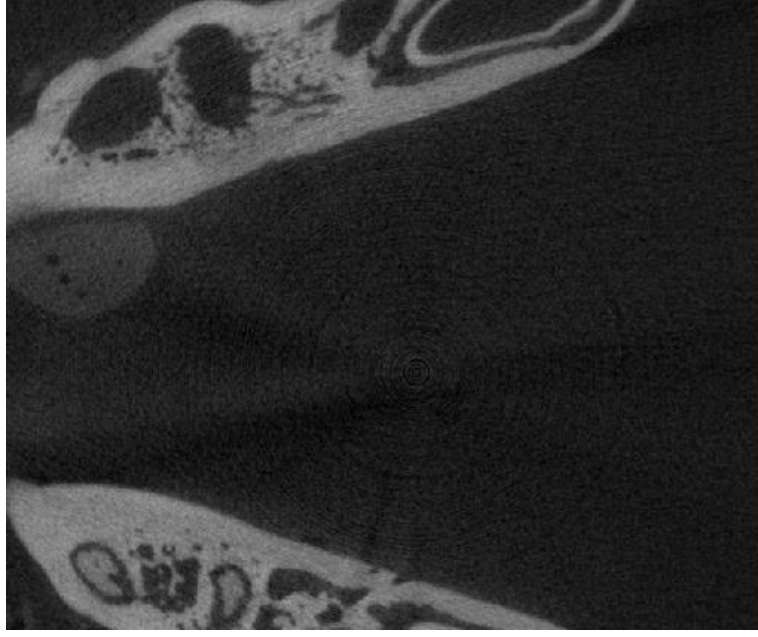
Kontrol grubundan iki, ZA grubundan bir ve ZA+TP grubundan bir hayvanın, çekim boşluğunda yoğun iltihaba bağlı izlenen yaygın osteolitik alan nedeniyle çekim boşluğunun kemik yoğunluğu ölçümüne dahil edilmemesine karar verildi (Resim 7).



Resim 5. μ CT değerlendirmesi sonrasında çalışma dışı bırakılan ZA+TP grubuna ait sıçanın mandibulasına ait μ CT görüntüsü.

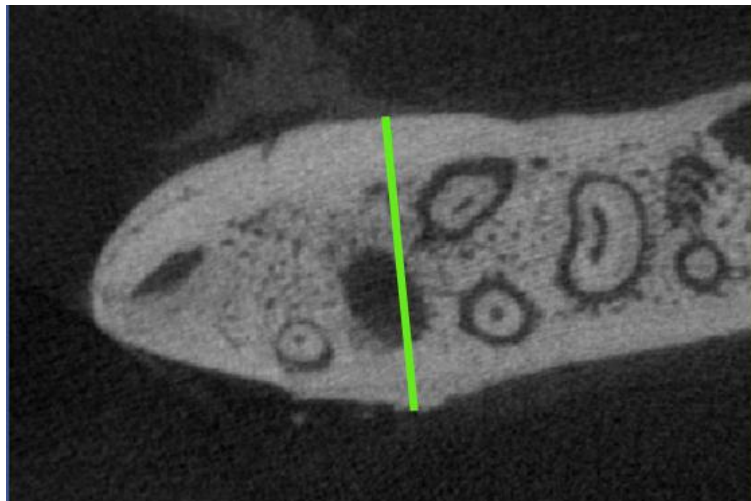


Resim 6. ekim boşluğundaki kemik yoğunluğunun μ CT ile lm.



Resim 7. Çekim boşluğundaki yaygın osteolitik alan nedeniyle kemik yoğunluğu değerlendirilmesi yapılmayan kontrol grubuna ait sıçanın μ CT görüntüsü.

Bununla birlikte aksiyal kesitler üzerinde çekim socketinin bulunduğu alveol kemiğinin en geniş olduğu yer ölçüldü (Resim 8).



Resim 8. Aksiyal kesit üzerinde alveol kemiğinin en geniş yerinin ölçümü.

3.3 Histolojik ve Histomorfometrik Değerlendirme

Radyolojik inceleme sonrasında çeneler semfiz orta hattın sağ ve sol olmak üzere ikiye ayrıldı. Sol çene bölgesindeki çekim soketine denk gelen alan, bir miktar sağlam alveol kemiğini ve çekim soketini örten mukozayı da içerecek şekilde çıkarıldı. Alınan doku örneklerinde bulunan kemik yapıdaki değişiklikler histopatolojik ve histomorfometrik olarak incelendi.

Işık mikroskopunda incelenecek doku örnekleri %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildikten sonra nötral pH'ye yakın Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) solüsyonu (138) ile 4 haftalık bir sürede dekalsifiye edildi. Oda sıcaklığında otomatik salınım yapan düzenek üzerinde tutulan ve doku örneklerinin bulunduğu solüsyon gün aşırı yenilendi. Dört hafta sonunda yeteri kadar yumuşadığı görülen doku örnekleri suyla yıkanıp alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Ksilende şeffaflaştırıldıktan sonra lingual yüzeyleri kesit yüzeyini oluşturacak biçimde 58°C-65°C sıcaklıktaki parafin içine gömülerek bloklandı.

Parafin bloklardan 6 µm kalınlığındaki kesitleri lama alınan örneklerin, 10 ve 10'un katlarına denk gelen lamalarına 3'erli olarak alınan kesitler, ksilene konularak parafinden arındırıldı. Kesitler alkol serisinden geçirilerek rehidrate edildi. Suyu indirilen kesitler hematoksilin ile 10 dakika boyandı ve musluk suyunda 10 dakika yıkandı. PBS'de mavileştirme işlemi yapıldıktan sonra %90'luk alkol içeren eozin ile 1 dakika boyandı. Kesitler alkol serisinden geçirilerek dehidrate edildi ve ksilen ile şeffaflaştırıldı. Kesitler, üzerlerine ksilen bazlı kapama solüsyonu damlatıldıktan sonra lamelle kapatıldı ve ışık mikroskopunda nekrotik kemik dokusu varlığı açısından incelendi. Histomorfometrik değerlendirmeler yapılırken, her hayvan için üç kesitte, üçer alanda ölçümler yapılarak ortalamaları alındı.

Osteoklastları belirlemek için TRAcP boyaması yapıldı. Bu boyama için seçilen kesitler parafinden arındırıldı ve alkol serisinden geçirilerek hidrate edildi. Parafine gömme işlemi sırasında enzim aktivitesi azalan kesitlerdeki doku örneklerinin yeniden aktive edilebilmesi için kesitler boyama öncesinde oda sıcaklığında alkalın (pH:9) TBS

(Tris buffered saline) içerisinde bir gece bekletildi. TRAcP boyaması sonrasında Mayer hematoksilen ile karşıt boyaması yapılan kesitler alkol serisinden geçirildi ve ksilen ile şeffalaştırıldı. Kesitler, üzerlerine ksilen bazlı kapama solüsyonu damlatıldıktan sonra lamelle kapatıldı. Boyaması tamamlanan kesitler Olympus BX60 ışık mikroskobunda incelendi.

3.4 İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için Windows işletim sistemi için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 21.0 yazılımı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel yöntemler (ortalama, standart sapma) kullanıldı.

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uygunluk gösteren ve varyansları homojen olan değişkenler için tek yönlü varyans analizi testi – Anova, varyansları homojen olmayan gruplar için Welch’s testi kullanıldı. Anova ve Welch testi sonucunda gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunan değişkenlerin, bu farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını tespit etmek için ikili karşılaştırmalar yapıldı. Anova testinden sonra ikili karşılaştırma için Tukey testi, Welch testinden sonra ikili karşılaştırma için Dunnet’s T3 testi yapıldı. Kolmogorov-Smirnov testine göre normal dağılıma uymayan değişkenler Kruskal Wallis testi uygulandı. Bu test sonucunda aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunan değişkenlerde, bu farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını saptamak için Mann-Whitney U testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı.

Sonuçlar %95’lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1 Klinik Bulgular

Çalışmada yapılan uygulamalar sıçanlar tarafından genel olarak iyi tolere edilmiştir. Sıçanların hiçbirinde klinik olarak çekim soketi bölgesinde mukoza ülserasyonuna, dişetinde fistül oluşumuna veya açığa çıkmış nekrotik kemiğe rastlanmamıştır. Klinik olarak, mukozanın diş çekim bölgesini tamamen örtmesi ve BRONJ'un tanımında yer alan açığa çıkmış kemik varlığının gözlenmemesi diş çekim boşluklarının başarılı bir şekilde iyileştiği izlenimini vermiştir.

Ağırlık Ölçümü

Çalışma süresi boyunca tüm sıçanlara dört defa ağırlık ölçümü yapılmıştır. 1- Çalışmanın başında, 2- Diş çekiminin hemen öncesinde, 3- ZA+TP grubuna teriparatid uygulamasına başlamadan önce ve 4- Sakrifiye edilmeden önce.

Yapılan ağırlık ölçümlerinde 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 ($p>0,05$) (Tablo 1).

Belirtilen zaman dilimlerinden çalışma başlangıcı, diş çekimi öncesi ve ZA+TP grubuna teriparatid vermeye başlanması öncesinde gruplar ortalama ağırlık açısından birbirleri ile karşılaştırıldığında da gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (sırasıyla $p=0,279$; $p=0,104$; $p=0,107$) (Tablo 1).

Bununla birlikte hayvanlar sakrifiye edilmeden hemen önce yapılan ağırlık ölçümünde grupların ağırlık ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ($p=0,041$) (Tablo 1).

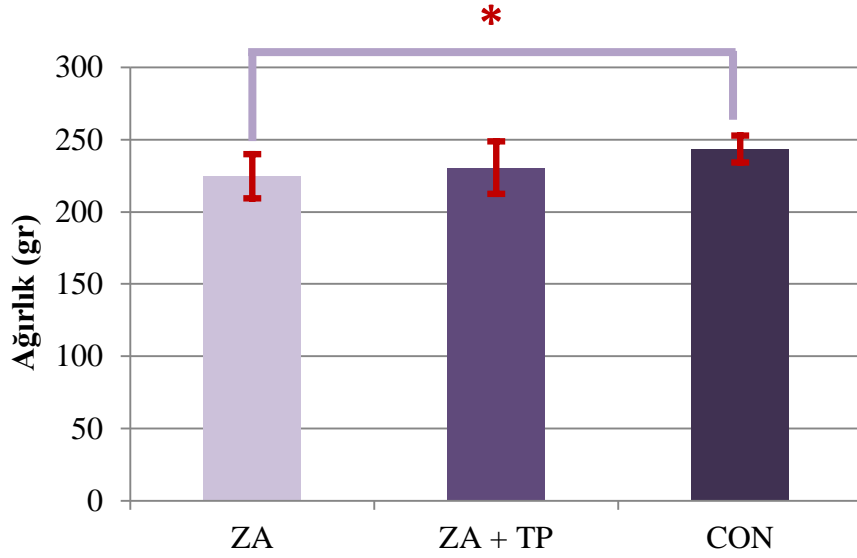
Tablo 1. Grupların ağırlık ölçümü değerleri.

Ağırlık Ölçümü (gr)		n	Ort±SS	F	P
Başlangıç	ZA	9	185,22±9,230	1,345	0,279
	ZA+TP	10	178,50±8,657		
	CON	9	181,78±8,899		
	Toplam	28	181,71±9,034		
Diş çekimi öncesi (7. Hafta)	ZA	9	219,11±12,293	2,481	0,104
	ZA+TP	10	214,20±10,963		
	CON	9	225,11±8,313		
	Toplam	28	219,29±11,234		
TP başlamadan önce (11. Hafta)	ZA	9	219,44±21,013	2,452	0,107
	ZA+TP	10	222,60±17,450		
	CON	9	236,22±11,638		
	Toplam	28	225,96±18,052		
Sakrifikasyon öncesi (15. Hafta)	ZA	9	224,78±15,360	3,627	*0,041
	ZA+TP	10	230,70±18,282		
	CON	9	243,33±9,314		
	Toplam	28	232,86±16,343		

Tek yönlü varyans analizi testi - Anova

*p<0,05,

SS: standart sapma



Şekil 1. Sıçanların sakrifiye edilmeden önceki ölçümde elde edilen ağırlık ortalamaları (* $p < 0,05$; Tukey testi).

Farklılığa neden olan grubun tespiti için yapılan Tukey testinde, sıçanlar sakrifiye edilirken yapılan ağırlık ölçümlerinde ZA grubunun ağırlık ortalamasının kontrol grubunun ağırlık ortalamasından istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha düşük olduğu bulunmuştur ($p=0,037$) (Şekil 1).

4.2 Radyolojik Bulgular

Alveol kreti genişliği:

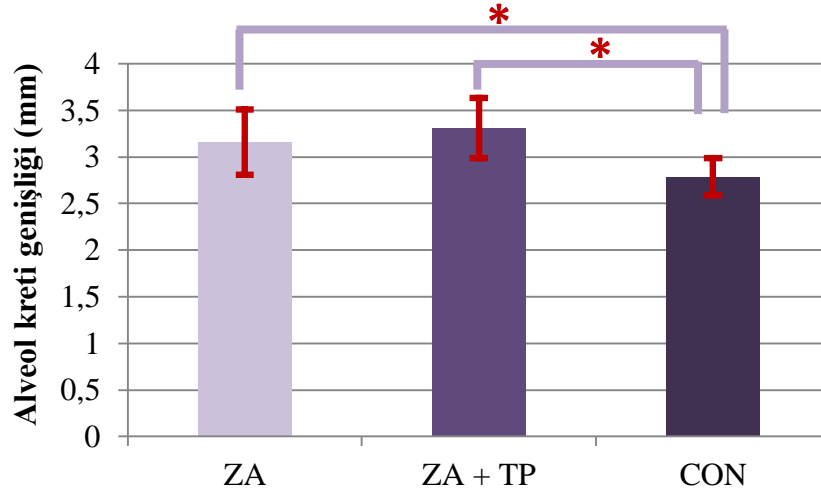
Grupların dış çekim bölgesinden ölçülen alveol kret genişlikleri Tablo 2’de gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel incelemede gruplar arasında alveol kreti genişliği açısından anlamlı fark izlenmiştir ($p=0,0032$).

Uygulanan Tukey testinde farklılığın ZA ve ZA+TP grupları ile kontrol grubu arasındaki farktan kaynaklandığı, ZA ve ZA+TP gruplarındaki alveol kreti genişliğinin kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı derecede fazla olduğu bulunmuştur (sırasıyla $p=0,036$; $p=0,003$) (Şekil 2).

Tablo 2. Diş çekim bölgesinden ölçülen alveol kreti genişliklerinin gruplara göre değişimi.

Kret Genişliği (mm)	n	Ort±SS	Medyan	p
ZA	9	3,16±0,35	3,12	0,0032*
ZA+TP	9	3,31±0,32	3,34	
CON	9	2,79±0,2	2,74	

Tek yönlü varyans analizi testi – ANOVA *p<0,05 SS: standart sapma



Şekil 2. Gruplara göre çekim boşluğunun yer aldığı bölgede alveol kreti genişliği (*p<0,05; Tukey testi).

Kemik Yoğunluğu:

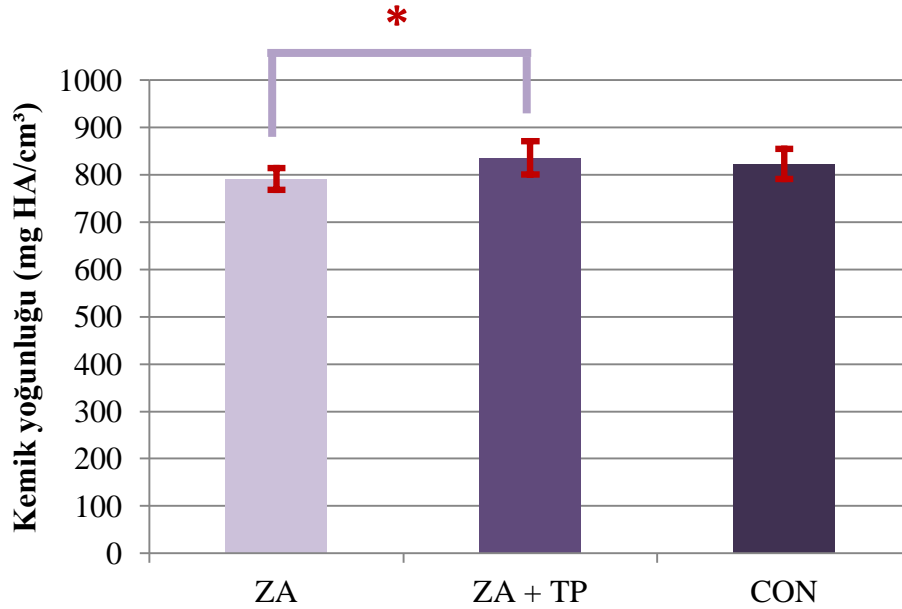
Çalışma gruplarında yalnızca kemik ile dolmakta olan diş çekim boşluğundan ölçülen kemik yoğunluğu değerlerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 3'te gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ANOVA testi ile yapılan istatistiksel incelemede gruplar arasındaki fark anlamlı olarak değerlendirilmiştir (p=0,0247).

Tablo 3. Diş çekim boşluğundan ölçülen kemik yoğunluğu değerlerinin gruplara göre değişimi.

Kemik Yoğunluğu (mg HA/cm³)	n	Ort±SS	Medyan	p
ZA	8	791,38±22,79	799,95	0,0247*
ZA+TP	8	835,53±35,33	833,37	
CON	7	822,94±31,83	815,81	

Tek yönlü varyans analizi testi - Anova *p<0.05 SS: standart sapma

Farklılığa neden olan grubun belirlenmesinde kullanılan Tukey testinde ZA+ TP grubunda ölçülen kemik yoğunluğunun ZA grubundan daha fazla olduğu bulunmuştur (p=0,0116) (Şekil 3) (Resim 9-10).



Şekil 3. Grupların μ CT incelemesinde elde edilen kemik yoğunlukları (*p<0,05; Tukey testi).



Resim 9. Çekim boşluğunda kemik yapımının izlendiği, ZA+TP grubuna ait bir sıçanın μ CT görüntüsü.

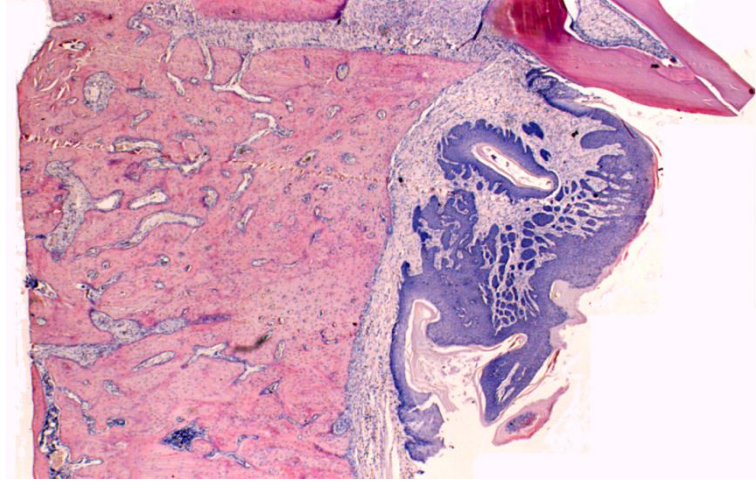


Resim 10. Distal köke ait çekim boşluğunda kemik oluşumu tamamlanmamış olan, ZA grubuna ait bir sıçanın μ CT görüntüsü.

4.3 Histolojik ve Histomorfometrik Bulgular

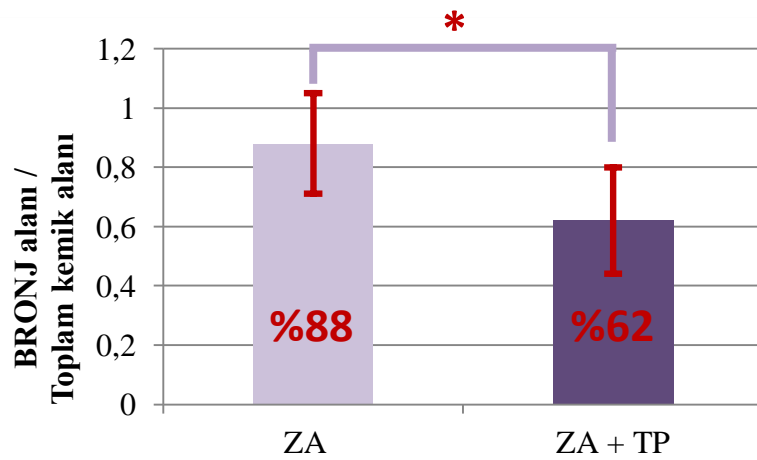
4.3.1 H&E Rutin Boyama Yöntemi

Osteonekroz alanı:

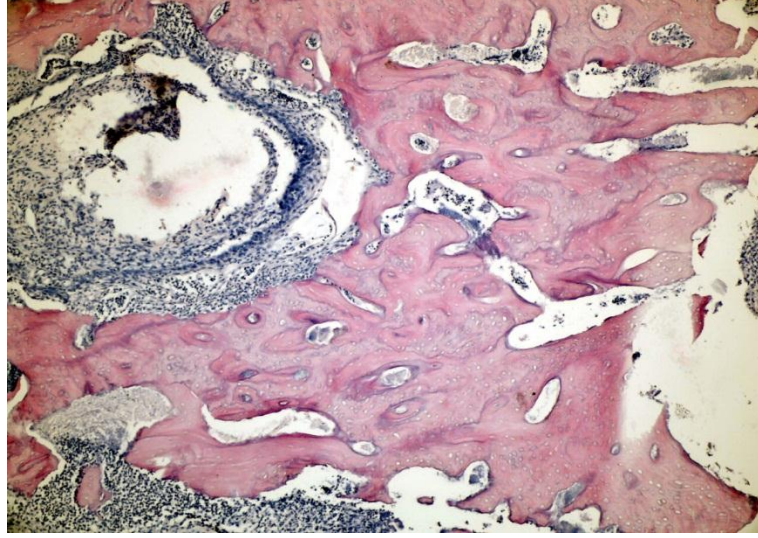


Resim 11. Tümüyle kemik ile dolduğu gözlenen kontrol grubuna ait bir sıçanın çekim boşluğu (H&E boyama, 40x)

Kontrol grubundaki sıçanların hiçbirinde osteonekroz izlenmemiştir (Resim 11).

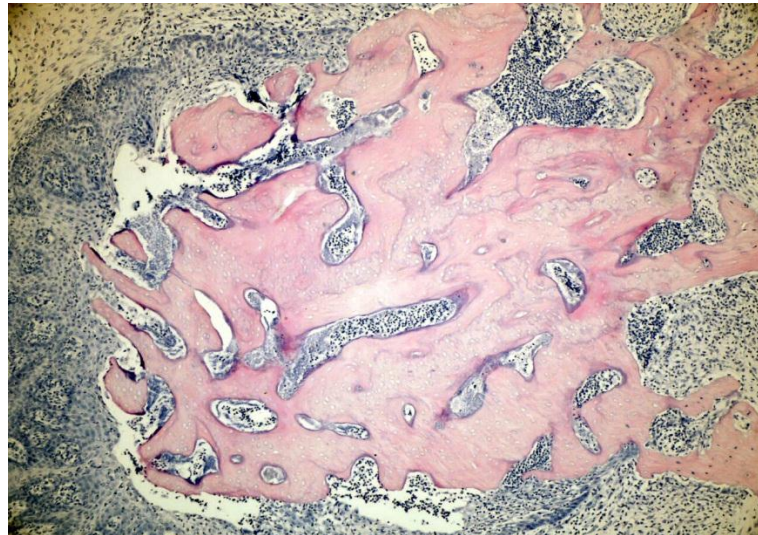


Şekil 4. Gruplara göre osteonekroz alanının toplam kemik alanına oranı ($p < 0,05$; Student's t testi).

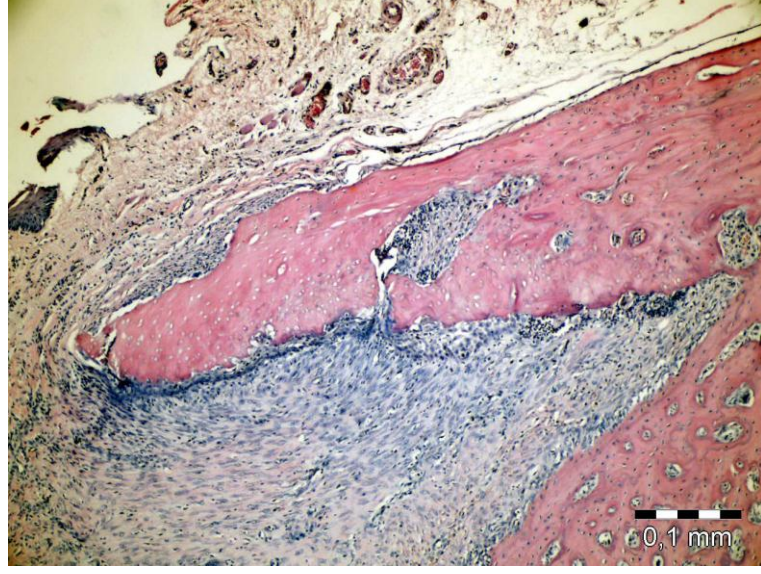


Resim 12. ZA grubuna ait bir sıçanda kemik dokusunda boş lakünaların gözleendiği yaygın nekrotik alan (H&E boyama, 100x)

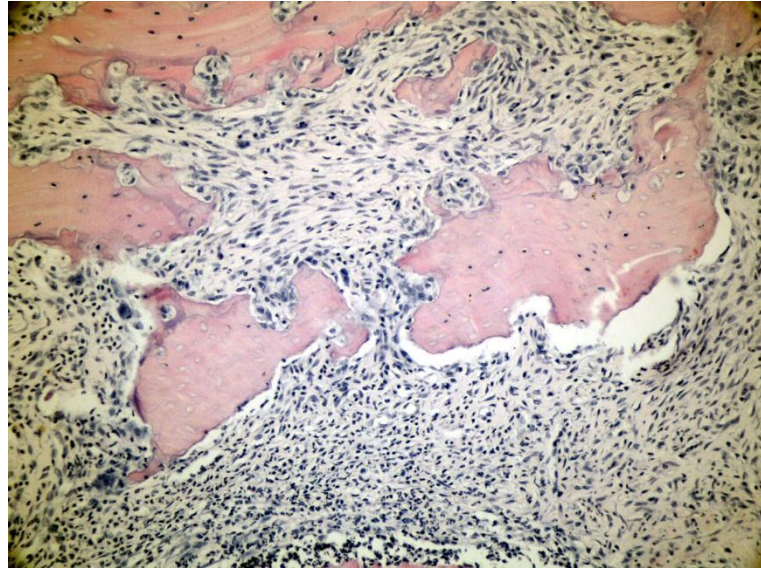
Bu nedenle osteonekroz alanı ile ilgili ölçümler yalnızca ZA ve ZA+TP grupları üzerinde değerlendirilmiştir. ZA (Resim 12-13) ve ZA+TP (Resim 14-15) grupları için ölçülen ortalama osteonekroz alanlarının toplam kemik alanına oranı sırasıyla $0,88 \pm 0,17$ ve $0,62 \pm 0,18$ olarak bulunmuştur ($p=0,002$; Student's t-test) (Şekil 4).



Resim 13. ZA grubuna ait bir sıçanda nekrotik kemik parçasının epitel ile çevrilmesi (H&E boyama, 100x)



Resim 14. ZA+TP grubuna ait bir sıçanda alveol kret tepesiyle sınırlı osteonekroz alanı (H&E boyama, 200x)

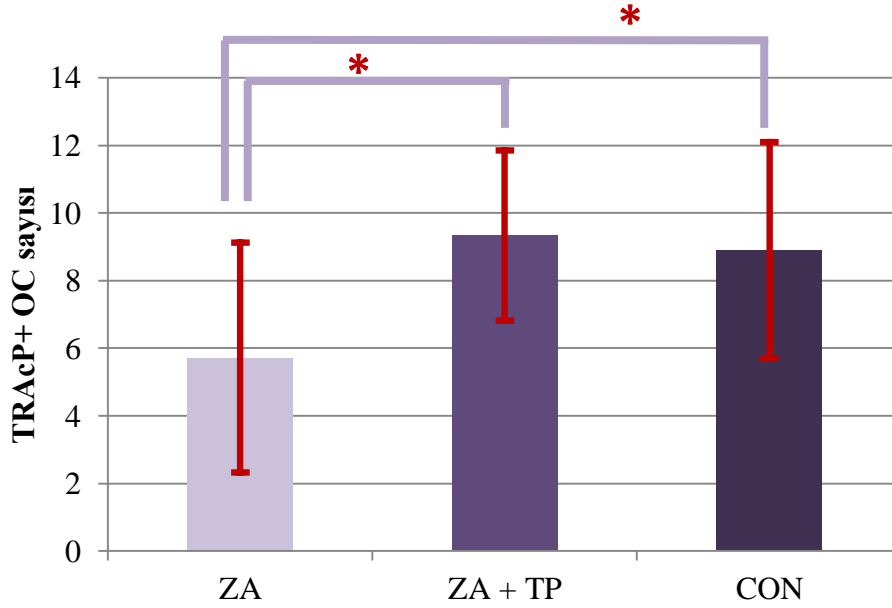


Resim 15. ZA+TP grubuna ait bir sıçanda nekrotik kemiğin sökestrasyonu (H&E boyama, 200x)

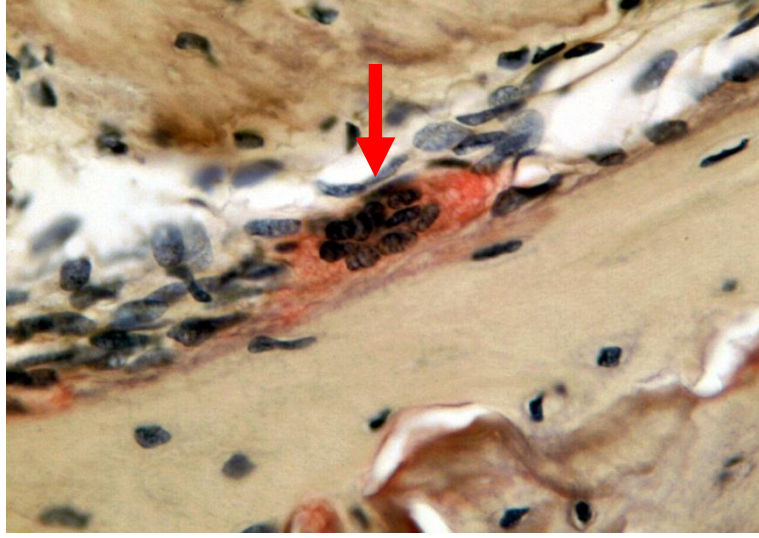
4.3.2 TRAcP Enzim Histokimyasal Boyama Yöntemi

Kemik yüzeyi ile temasta olan TRAcP+ osteoklastlar:

ZA, ZA+TP ve kontrol grupları için kemik yüzeyi ile temasta olan TRAcP pozitif osteoklast sayısı ortalamaları sırasıyla $5,72 \pm 3,40$; $9,33 \pm 2,52$; $8,89 \pm 3,20$ olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki fark, istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p=0,001$; Anova testi). Farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını tespit etmek için Tukey testi ile yapılan ikili karşılaştırmada ZA+TP ve kontrol gruplarındaki kemik yüzeyi ile temasta olan TRAcP pozitif osteoklast sayılarının, ZA grubundakine (Resim 16) kıyaslandığında daha fazla olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p=0,002$; $p=0,009$) (Şekil 5).

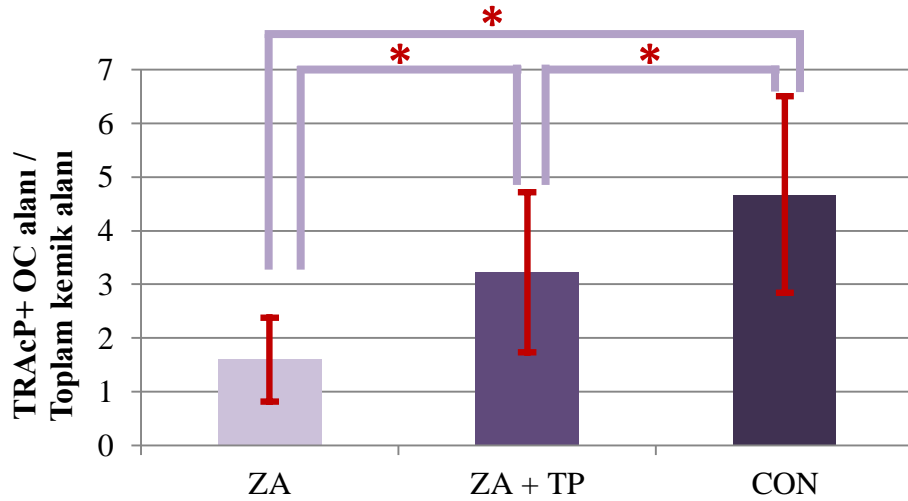


Şekil 5. Kemik yüzeyi ile temasta olan TRAcP+ osteoklast sayıları (* $p<0,05$; Tukey testi; OC: osteoklast)



Resim 16. ZA grubundaki sıçanda kemik yüzeyi ile temasta olan TRAcP+ OC (→, TRAcP enzim histokimyasal boyama, 1000x)

Kemik yüzeyi ile temasta olan TRAcP pozitif osteoklastların kemik yüzeyinde kapladığı alanın, üzerinde buldukları toplam kemik yüzey alanına oranı ile ilgili ZA, ZA+TP ve kontrol gruplarının ortalama değerleri sırasıyla $1,60 \pm 0,78$; $3,23 \pm 1,49$; $4,67 \pm 1,83$ olarak bulunmuştur ($p < 0,05$; Welch testi).



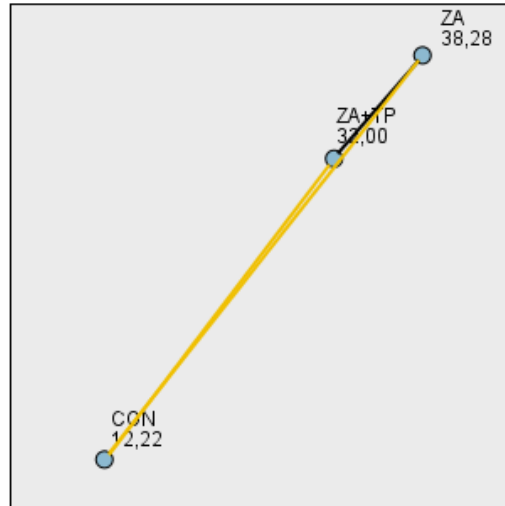
Şekil 6. Gruplara göre kemik yüzeyi ile temasta olan TRAcP+ osteoklastların kapladığı alanın toplam yüzey alanına oranı (* $p < 0,05$; Dunnett's T3 testi).

Farklılığa neden olan grubun tespiti için yapılan Dunnet's T3 testinde ZA grubunun ZA+TP ($p=0,001$) ve kontrol ($p<0,05$) gruplarından daha düşük bir değere sahip olmasının yanı sıra, ZA+TP grubu da kontrol grubundan daha düşük bir değerde çıkmıştır ($p=0,043$) (Şekil 6).

Apoptotik TRAcP+ Osteoklastlar:

Çalışma gruplarının apoptotik TRAcP+ osteoklast sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$; Kruskal Wallis testi). Yapılan ikili karşılaştırmalarda ZA ve ZA+TP gruplarındaki apoptotik TRAcP+ osteoklast sayılarının, kontrol grubundakinden daha fazla olduğu görülmüştür ($p<0,05$) (Şekil 7).

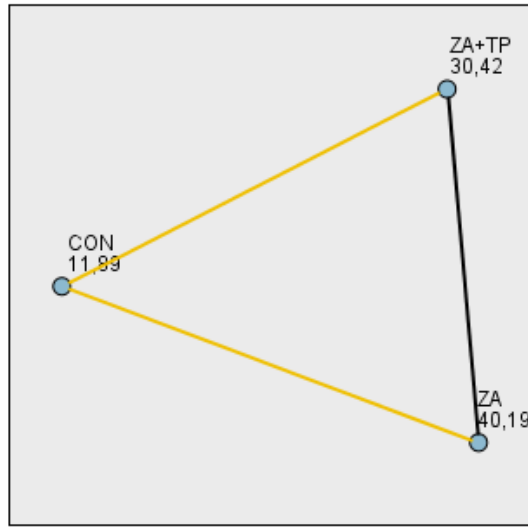
Grupların apoptotik TRAcP+ osteoklast sayılarının toplam TRAcP+ boyanan hücre sayısına oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$; Kruskal Wallis testi). Yapılan ikili karşılaştırmalarda ZA ve ZA+TP gruplarındaki apoptotik TRAcP+ osteoklast (Resim 17) sayılarının toplam TRAcP+ hücre sayısına oranının, kontrol grubundakinden daha fazla olduğu görülmüştür (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,05$) (Şekil 8).



Şekil 7. Grupların apoptotik TRAcP+ osteoklast sayıları arasındaki ilişki ($p<0,05$; Mann Whitney U testi).



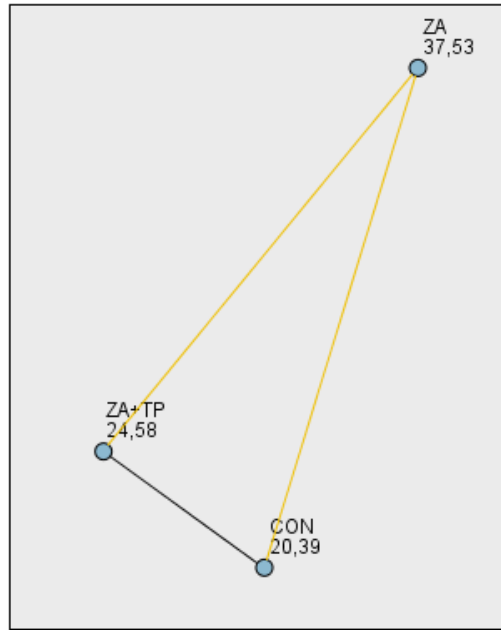
Resim 17. ZA+TP grubuna ait bir sıçanda TRAcP+ apoptotik bir hücre (→, TRAcP enzim histokimyasal boyama, 1000x)



Şekil 8. Grupların apoptotik TRAcP+ osteoklast sayısının, toplam TRAcP+ boyanan hücre sayısına oranı ($p < 0,05$ Mann Whitney U testi).

Kemik yüzeyi ile teması olmayan TRAcP+ osteoklastlar:

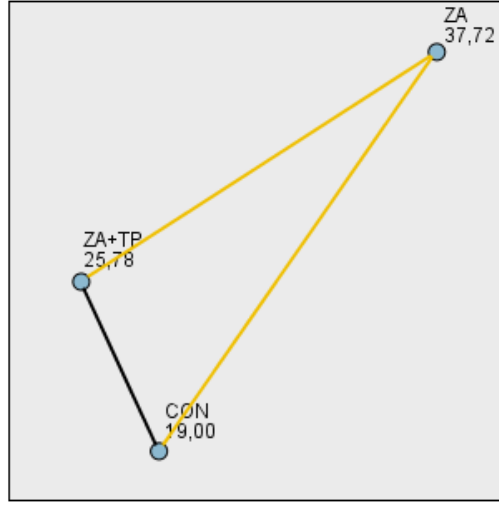
Çalışma gruplarının kemik yüzeyi ile teması olmayan TRAcP+ osteoklast sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,001$; Kruskal Wallis testi). Yapılan ikili karşılaştırmalarda ZA grubundaki kemik yüzeyi ile temasta olmayan TRAcP+ osteoklast sayısının, ZA+TP ve kontrol gruplarındakinden daha fazla olduğu görülmüştür (sırasıyla $p=0,026$; $p=0,002$) (Şekil 9).



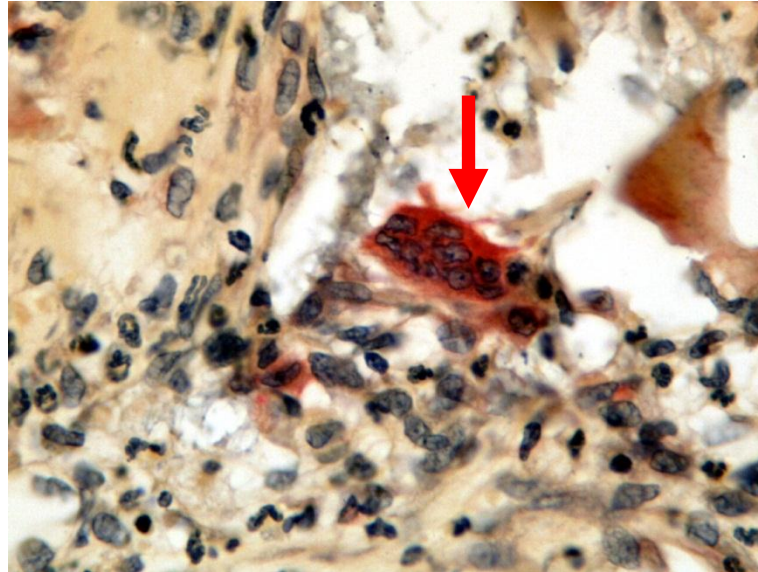
Şekil 9. Grupların kemik yüzeyi ile temasta olmayan TRAcP+ osteoklast sayıları arasındaki ilişki ($p<0,05$; Mann Whitney U testi).

TRAcP+ boyanan osteoklastik dev hücreler:

Çalışma gruplarının TRAcP+ boyanan osteoklastik dev hücre sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$; Kruskal Wallis testi). Yapılan ikili karşılaştırmalarda ZA grubundaki TRAcP+ boyanan osteoklastik dev hücre (Resim 18) sayısının, ZA+TP ve kontrol gruplarındakinden daha fazla olduğu görülmüştür (sırasıyla $p=0,029$; $p<0,05$) (Şekil 10).



Şekil 10. Grupların TRAcP+ boyanan osteoklastik dev hücre sayıları arasındaki ilişki ($p < 0,05$; Mann Whitney U testi).



Resim 18. ZA grubuna ait bir sıçanda kemik yüzeyi ile temasta olmayan TRAcP+ osteoklastik dev hücre (\rightarrow , TRAcP enzim histokimyasal boyama, 1000x)

5. TARTIŞMA

Bifosfonatlar, diş hekimliğini de içeren pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Kemik rezorpsiyonunu önleyen bu ilaçların kullanımı osteoporoz, Paget hastalığı, malignitelere bağlı hiperkalsemi, kemik metastazı ve multiple myeloma gibi metabolik ve malign kemik hastalıklarının tedavisinde endikedir (2,15,102,139-141).

Bifosfonatların uygun dozda kullanıldığında iyi tolere edildiği bilinmekle birlikte, Marx ve Stern bifosfonatların çenelerde avasküler kemik nekrozuna yol açtığını bildirmiştir (20). Bifosfonat türevi ilaç kullanımının morbiditesi yüksek bir yan etkisi olan BRONJ, ilk olarak 2002 yılında bildirildiğinden beri olgular her geçen gün artmaktadır. BRONJ üzerinde bilimsel tartişmalar devam etmekte ve bu durum epidemik bir problem olarak görülmektedir (35,38).

Klinik kullanımda en etkin bifosfonat olan zoledronik asitin (96), metastatik meme kanseri, multiple myeloma, maligniteye bağlı hiperkalsemi, Paget hastalığı ve solid tümörlerin kemik metastazlarında etkinliği kanıtlanmıştır (142). Bunlara ek olarak, oral yoldan alınan BP'lerin GI sistem üzerindeki yan etkilerini en aza indirmek amacıyla FDA tarafından 2007 yılında osteoporozun önlenmesi ve tedavisinde de onaylanmasıyla, bu hastalarda da kullanımı yaygınlaşmıştır (17). Onkolojik amaçlı ZA dozunun, osteoporozda uygulanan dozun yaklaşık 12 katı olmasına rağmen (21), ZA uygulaması ile tedavi edilen osteoporoz hastalarında da osteonekroz geliştiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (143-149).

BP tedavisi uygulanan bireylerde osteonekroz görülme sıklığının %1-%21 arasında değiştiği bildirilmiş (22) ve olguların çoğundan yüksek dozda intravenöz BP uygulaması sorumlu tutulmuştur (23-29). İntrevenz ilaçlar arasında ise en fazla zoledronik asitin nekroza yol açtığı bildirilmiştir (22,32-35).

BRONJ' un ortaya çıkmasında etkili olabileceği düşünülen pek çok mekanizma öne sürülmüştür (7,8,20,35,38,39,116). Bunlardan en çok kabul göreni kemiğin yeniden şekillenmesinde görülen azalmadır (7,8). Dış çekim boşluğundaki yara iyileşmesi gibi süreçlerde kemiğin yeniden şekillenmesini sağlamak için, kemik hücreleri belli bir denge içerisinde aktif hale gelmektedir (150). Bifosfonat türevi ilaçların, kemik hücreleri arasındaki bu dengeyi etkileyerek, çene kemiklerinin yaralanmaya karşı normal fizyolojik yanıtının baskılanmasına neden olduğu düşünülmektedir (151). Bununla birlikte, BRONJ patogenezinin henüz tam olarak ortaya konulamamış olması ve BRONJ'un insanlar üzerinde çalışılmasıyla ilgili kısıtlılıklardan dolayı hastalığın daha iyi anlaşılması ve tedavi seçeneklerinin denenmesi için basit ve güvenilir hayvan modelleri geliştirilmesi gerekmiştir (32).

Literatürde bazı araştırmacılar tarafından oluşturulan BRONJ hayvan modelleri mevcuttur (15,152-162). İnsanlar ve hayvanların kemik yapısında görülen farklılıklara (163,164) ek olarak, çalışma planlamasının ve edinilen sonuçların değişkenliği dikkate alındığında (153,159,160,165,166), BRONJ modeli olarak hangi hayvan modelinin kullanılması gerektiği konusu tartışmalıdır. Allen ve ark. (151), intrakortikal yeniden şekillenmedeki baskılanmanın BRONJ gelişiminde bir faktör olduğu düşüncesiyle bütün iskelet yapısında intrakortikal yeniden şekillenme gözlenen köpekleri model olarak seçmiştir. Buna karşın Biasotto ve ark. (154), kemikte defekt oluşturdukları sıçan modelini kullanmışlardır. Bu modelin en büyük avantajının da çok sayıda hayvan kullanılabilmesi ve intrakortikal kemik döngüsünün BRONJ patogenezindeki rolünün ekarte edilebilmesi olduğunu belirtmişlerdir (154). Ayrıca, sıçanlarda ZA uygulanması ile BRONJ patofizyolojisinin daha iyi anlaşılabilmesi ve tedavi yöntemleri üzerinde çalışılabilmesi için güvenilir ve tekrarlanabilir bir BRONJ modeli oluşturulabileceğini öne sürmüşlerdir (154). Bu nedenlerle bu çalışmada, BRONJ gelişimini indüklemek için zoledronik asit kullanılmasına ve sıçan modeli oluşturulmasına karar verilmiştir. Sıçan modelinin seçilmesinin diğer nedenleri, bu deneklerin üretiminin kolay olması, deneyde kullanılacak olan ilaçların pahalı olması ve buna bağlı olarak hayvanların küçük olmasının kullanılacak ilaç miktarının da daha az olmasını sağlamasıdır.

BP kullanımı sonrası osteonekroz en sık olarak maksilla ve mandibulada görülürken (33,35,114), diğer kemiklerde görülen osteonekroz olguları birkaç olgu sunumu ile sınırlı kalmıştır (167,168). Vaskülarizasyon özellikleri nedeniyle çenelerde görülen osteonekroz olgularının %60'ı mandibula, %30'u maksillada görülürken, %10'u her iki kemikte birlikte görülmektedir (115).

BP tedavisi devam ederken yapılacak diş çekimi gibi dentoalveolar girişimlerin, BRONJ riskini anlamlı derecede arttırdığı bilinmektedir (40,41,169). Zoledronik asit gibi potent BP'leri kullanan hastalarda diş çekimini takiben hesaplanan osteonekroz riski %6.7 ile %9.1 arasında değişmektedir (29). Ayrıca kullanılan hayvan modellerinde, BP'nin diş çekim yarasının iyileşmesi üzerinde olumsuz etkisi olduğu gösterilmiştir (151-156,158-162). Bu nedenle diş çekimi, osteonekroz oluşumunun amaçlandığı sıçan modellerinde sıklıkla uygulanmaktadır. Biasotto ve ark., dentoalveolar cerrahi uygulanan hastalarda, BRONJ gelişme riskinin 44 kat artması nedeniyle, sıçanlarda diş çekimi yaparak kemik defekti oluşturmuşlardır (154).

BRONJ gelişiminin oluşturulmaya çalışıldığı hayvan modellerinde hem mandibulanın, hem de maksillanın tercih edildiği çalışmalar bulunmaktadır (151-156,158-162). Çalışmamızda, zoledronik asit uygulaması ile indüklenen BRONJ sıçan modelinde mandibuladan diş çekimi yapılması tercih edilmiştir. BRONJ'un daha çok mandibulada görülmesi nedeniyle, kullanılan ilaçların mandibuladaki çekim bölgesine olan etkisinin ortaya konulması çalışmamızın klinik değerini arttıracaktır.

Literatürde, çalışmamızda kullandığımız benzer şekilde sıçan modellerinde BRONJ'un indüklenmesi için zoledronik asitin kullanıldığı ve diş çekiminin uygulandığı modeller mevcuttur (153,154,158-162). Bu çalışmaların arasında genç sıçanlar üzerinde çalışılan modeller de bulunmakla birlikte (159,160), bizim çalışmamızda osteonekroz görülme sıklığının ileri yaşlarda arttığını dikkate alınarak erişkin sıçanların kullanılması tercih edilmiştir.

Diş çekim boşlukları, geciktirici herhangi bir hastalık veya ilaç kullanımı olmadığı sürece 1-2 ay içerisinde kemik ile dolarak iyileşmektedir (170,171). Devlin,

sıçanlarda diş çekim soketlerindeki kemik iyileşmesini incelediği çalışmasında, diş çekim boşluğunun bir ila iki haftada kemik ile dolduğunu göstermiştir (172). Zoledronik asit ile indüklenen BRONJ sıçan modelinde diş çekimi uygulanan çalışmalarda genel olarak diş çekimi boşluğunun iyileşmesi için beklenen sürelerin 2 ile 8 hafta arasında değiştiği görülmektedir (153,154,158-162). Biasotto ve ark., geliştirdikleri sıçan modelinde yalnızca zoledronik asit kullanarak 8 haftalık bir bekleme süreci sonunda diş çekimi bölgesinde nekroz oluştuğunu göstermişlerdir (154).

Bununla birlikte, BRONJ gelişiminde bifosfonatların kullanıldığı çalışmaların çoğunda osteonekrozun, deksametazon veya vitamin D eksikliği gibi etkenlerle birlikte oluşturulabildiği gözlenmiştir (153,159). Biasotto ve ark., BP'nin yol açtığı osteonekrozun, kanserin türü ve şiddetinden ziyade, kullanılan BP türüne ve dozuna bağlı olduğu düşüncesiyle sağlıklı sıçanlar kullanmışlardır (154). Ayrıca literatürde, zoledronik asitin sıçanlarda kullanımıyla ilgili belirlenmiş bir doz veya verilme yöntemi bulunmamaktadır. Çalışmamızda haftada 3 defa, 6 hafta boyunca, potansi en yüksek BP türü olarak kabul edilmekte olan zoledronik asitin uygulanmasının ardından diş çekiminin osteonekroz oluşumu üzerindeki etkisinin görülebilmesi için 8 haftalık sürenin yeterli olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada deksametazon veya vitamin D eksikliği gibi sistemik durumların sonuca etkisini ekarte edebilmek amacıyla sağlıklı sıçanlarda yalnızca zoledronik asit kullanılmış ve osteonekrozun oluşturulabilmesi için yeni bir doz belirlenmiştir.

Günümüzde BRONJ hastalarında tercih edilen iki çeşit tedavi yaklaşımı vardır. Bunlardan ilki antibiyotik, ağız gargaraları, ağrı kesiciler, yüzeysel debridman gibi konservatif yaklaşımlardır (21,32,173-178). Bazı araştırmacılar, invaziv cerrahiye yalnızca geniş alana yayılmış nekroz olguları için önerirken (21,32,173-175,177,178), bir diğeri nekrozun yayılımını önlemek adına ilk evrelerde de cerrahi tedaviyi önermektedir (179). Ancak cerrahi tedavinin BRONJ lezyonlarının iyileştirilmesindeki rolü hala ortaya konulamamıştır (180). Genel olarak ilaca ara verilmesi önerilirken, bu uygulamanın da faydalı olduğu henüz kanıtlanamamıştır (42,181).

Ender görülen ve tedaviye yanıt vermeyen bu osteonekroz çeşidinde konservatif tedavi, ilk tercih edilen tedavi yöntemi olmaktadır. Tedaviye yanıt alınamaması ve yineleme olasılığı, bu hastalığın kontrol altına alınmasını daha da güçleştirmektedir. Ancak, çenelerin agresif rezeksiyonu sonrasında bile, BRONJ hastalarında yumuşak doku iyileşmesindeki gecikme sorun haline gelebilmektedir. Bunun sebebi, bu hasta grubunun genellikle iyileşme kapasitesi azalan yaşlı hastalardan oluşmasıdır. Bu hastalarda BRONJ gelişmesi durumunda, kemik üzerinde anabolik bir etkisi olan TP'nin, tedavi yöntemi olarak kullanılabilmesi düşünülmüştür.

FDA'nın osteoporoz tedavisinde kullanımını 2002 yılında onayladığı TP'nin (45), kemik üzerindeki anabolik etkisi ile mikro yapıyı restore ettiği, kemik kütle ve çapını artırdığı gösterilmiştir (45-49). TP'nin aralıklı uygulanması ile trabeküler ve kortikal kemik yüzeylerinde yeni kemik yapımı görülmektedir (48,49,132). Ayrıca osteoklastik aktivitede artışa neden olarak kemik rezorpsiyonunu düzenler (48,133,134). Ma ve ark., teriparatidin BP'ler gibi antirezorptif ajanların inhibe edici etkisini tersine çevirebildiğini in vivo olarak göstermişlerdir (182). Sıçanlarda yaptıkları çalışmalarında, alendronatın kemik oluşum hızını güçlü bir şekilde baskıladığını ve sonrasında uygulanan 2 aylık TP tedavisi ile mineral apozisyonunun ve kemik oluşum hızının yükseldiğini bildirmişlerdir (182).

Literatürde konservatif yöntemlerle iyileşme sağlanamayan, inatçı BRONJ olgularının, TP kullanımı ile iyileştiğini gösteren bazı çalışmalar bulunmaktadır (50-65). Bu çalışmaların çoğu, ağrı ve enfeksiyon gibi klinik bulguların giderildiği ve radyolojik olarak daha yoğun bir kemik oluşumunun sağlandığı olgu raporlarıdır.

TP'nin konvansiyonel tedaviye cevap vermeyen osteonekrozun kontrol altına alınmasında kullanımı, ilk olarak Harper ve ark. tarafından tanımlanmıştır (50). Osteoporoz tedavisi için kullandığı BP'ye bağlı mandibulasında osteonekroz gelişen ve konservatif yolla tedavi edemedikleri bir hastayı, düşük doz PTH ile tedavi etmiş ve ilk defa bu tedavi yönteminin etki mekanizmasını, olası endikasyon ve kontrendikasyonlarını ve terapötik rejimini tartışmışlardır (50). TP tedavisine başladıktan sonra 3 ay içerisinde yumuşak doku iyileşmesi gözlenmeye başlamış ve diş

çekim bölgesindeki iyileşme belirgin hale gelmiştir. Bu hastadaki düşük doz TP kullanımı ile mandibula osteonekrozunun iyileşmesi arasında doğrudan bir sebep sonuç ilişkisinin kesin olarak kurulamayacağını, ancak bu ilacın etki mekanizması göz önünde bulundurulduğunda bu durumdaki hastalara düşük doz TP uygulamasına başlanabileceğini öne sürmüşlerdir (50). Bu makaleden sonra, bu hormonun BRONJ tedavisinde kullanılıp kullanılmayacağı tartışma konusu olmuştur.

Aynı şekilde Kwon ve ark., kısa süreli TP kullanımının baskılanmış kemik oluşum kapasitesinin artırılmasında etkili olduğunu göstermiştir. TP kullanımı ile kemiğin yeniden şekillenmesindeki ve kemik yapımındaki artışın, iyileşmeyi ve nekrotik kemiğin uzaklaştırılmasını kolaylaştırdığını öne sürmüşlerdir (62).

BP kullanımına bağlı olarak uzun süreli engellenen rezorpsiyon ve kemik oluşum bozukluğunun, teriparatid kullanımı ile sağlanabilecek anabolik bir yaklaşımla tedavisi, BRONJ hastaları için bir tedavi yöntemi olarak düşünülebilir. BRONJ lezyonlarının iyileşmesi için antibiyotik tedavisi ile birlikte kısa süreli teriparatid kullanımı yeterli olabilir. Yardımcı tedavi yöntemi olarak teriparatid kullanımının kanıta dayalı bir yaklaşım olmamasına rağmen, bazı araştırmacılar BRONJ hastalarının tedavisinde kısa süreli TP uygulamasının alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılmasını önermektedir (50-65).

Literatürde, teriparatid uygulamasının, diş çekimi ile indüklenen BRONJ üzerindeki etkilerini değerlendiren veya BRONJ'un iyileştirilmesine yönelik bir hayvan çalışma modeline rastlanmamıştır.

İnsanlar üzerinde BRONJ tedavisinde bir çok yöntem denenmiştir (21,32,173-179). Ancak kullanılan ilaçlar ve sistemik durum, elde edilen sonuçlara etki edebilmektedir. Bu çalışmada herhangi başka bir girişimde bulunulmaksızın yalnızca TP'nin BRONJ üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

BRONJ lezyonlarının tedavisinde TP kullanılan ve başarı sağlanan çalışmalarda, radyolojik görüntüleme ile kemik rejenerasyonu cerrahi işlem uygulanan çenelerle

kıyaslandığında çok daha net izlenmektedir (50,54,55,57,183). Subramanian ve Quek, bunun nedeninin nekrotik kemiğin TP'nin uyardığı kemiğin yeniden şekillenmesi ve iyileşmesi sırasında bir yapı iskelesi oluşturarak kemik oluşumuna yardımcı etmesinin olabileceğini öne sürmüşlerdir (59). Bu çalışmada, ZA grubundaki diş çekim boşluğuna kıyasla ZA+TP grubunda daha yoğun bir kemik gözlenmesinin nedeninin bu olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca bu araştırmacılar, cerrahi tedaviye yardımcı yöntem olarak kullanılmasından ziyade TP'nin tek başına kullanılmasının daha iyi sonuç verebileceğini belirtmişlerdir (64). Bizim çalışmamızda, BRONJ'un tedavisine yönelik herhangi bir cerrahi girişim uygulanmamış olmasına rağmen lezyonlarda iyileşme gözlenmesi, bu değişikliklerin yalnızca teriparatidin etkisine bağlı olduğu düşüncesini güçlendirmektedir.

Yapılan hayvan çalışmalarında, sıçanlarda teriparatid kullanımı ile artmış osteosarkom oranı bildirilmiştir (44,45,135). İnsan çalışmalarında osteosarkom gelişimi bildirilmemiş olmakla birlikte uzun dönem veriler olmadığı için iki yıldan uzun süreli tedavi önerilmemektedir (62). Literatürde BRONJ tedavisinde teriparatid uygulaması 1-6 ay sürdürülmekte ve kısa süreli bir tedavi olarak nitelendirilmektedir (50-58,60-65). TP kullanım süresi her hastanın klinik ve sosyoekonomik durumuna göre karar verilmektedir. Bu çalışmada bu süre 28 gün ile sınırlandırılmıştır.

Bifosfonat kullanan ve BRONJ gelişen osteoporoz hastaları, aynı zamanda teriparatidin de endikasyonu olduğu hasta grubudur. Teriparatid tedavisi, BRONJ'un en sık görüldüğü, maligniteye bağlı kemik hastalıklarında kontraendike olmakla birlikte (133,135,136), BRONJ gelişen bu hastalarda kısa süreli TP tedavisinin uygunluğunun belirlenmesi için yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Zoledronik asitin yan etkilerinden birinin de kilo alımı olmasına rağmen (142), BRONJ hastalarında kilo kaybı gözlenebilmektedir. Cheng ve ark., BRONJ olgularını derledikleri çalışmalarında, BRONJ tanısı konulan 15 hastadan 4'ünde beslenmede güçlüğü ve nekroz bölgesinin yoğun enfeksiyonuna bağlı belirgin bir kilo kaybı gözlemişlerdir (15,113). Mavrokokki ve ark., BRONJ hastalarının %59'unda şiddetli

ağrı, orokütan fistül, boyun enfeksiyonu ile birlikte kilo kaybı da gözleendiğini bildirmişlerdir (29).

Bununla birlikte zoledronik asit uygulaması yapılan, ancak osteonekroz oluşturulması amaçlanmayan hayvan çalışmalarında ağırlık üzerinde belirgin bir değişim gözlenmemiştir (151,184,185). Yamashita ve ark., farklı dozlarda zoledronik asit uyguladıkları Sprague Dawley cinsi sıçanlarda, 14 haftalık bir süre sonunda çalışma grupları ile kontrol grupları arasında ağırlık farkı gözlememiştir (184). Aghaloo ve ark., periodontal hastalık modeli oluşturdukları ve 15 hafta boyunca ZA uyguladıkları, sistemik olarak sağlıklı, Sprague-Dawley cinsi sıçanlara haftada 3 kere ağırlık ölçümü yapmışlar ve kontrol grubuyla kıyasladıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlamadıklarını bildirmişlerdir (185). Allen ve ark., zoledronik asitin diş çekimi boşluğunun iyileşmesine etkilerini inceledikleri çalışmalarında diş köpeklerde 2 haftada bir ve 3 ay boyunca ZA uygulamışlar ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hayvanların başlangıç ve sakrifikasyon öncesi ağırlık ölçümleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görmemişlerdir. Ayrıca histolojik incelemede bu hayvanların hiçbirinde çene osteonekrozu görmediklerini de eklemiştir (151).

Sıçanlar üzerinde çalışılan ve zoledronik asit ile indüklenen BRONJ modelleri ile ilgili yayınlar incelendiğinde sıçanların ağırlık ölçümlerine yönelik bilgiye rastlanmamıştır. Yalnızca Sonis ve ark., Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda BRONJ modeli oluşturmayı amaçladıkları çalışmalarında her gün ağırlık ölçümü yaptıklarını belirtmiş, ancak bu ölçümlerle ilgili bir sonuç sunmamışlardır (153). Bununla birlikte, teriparatid ile yapılan hayvan çalışmalarında, teriparatid uygulamasının ağırlık ölçümüne yönelik belirgin bir etkisi olmadığı görülmüştür (186,187).

Çalışmamızda deney süreci boyunca; çalışmanın başında, diş çekiminin hemen öncesinde, ZA+TP grubuna teriparatid uygulamasına başlamadan önce ve sakrifiye edilmeden önce olmak üzere 4 defa ağırlık ölçümü yapılmıştır. Yalnızca sıçanlar sakrifiye edilmeden önce, zoledronik asit uygulaması sonrası diş çekimi yapılan sıçanların ağırlık ortalamalarının kontrol grubundan daha düşük olduğu görülmüştür. Diş çekimi yapılan kontrol grubunda sıçanların hiçbirinde çene kemiğinin nekrozuna

rastlanmazken, ZA grubundaki sıçanların diş çekim boşluğunda gözlenen kemik nekrozunun, beslenmeyi etkileyerek kilo kaybına yol açmış olabileceği düşünülmüştür. Buna ek olarak istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla birlikte, yine aynı zaman diliminde ZA+TP grubunun ağırlık ortalaması da ZA grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Nekrotik kemik lezyonundaki küçülme ile birlikte beslenmenin daha iyi sağlanmasının bu duruma etki etmiş olabileceği düşünülmüştür.

AAOMS ve ASBMR'nin önerilerine göre, BRONJ tanısının konulabilmesi için, baş-boyun bölgesinde malignite bulgusu veya radyoterapi hikayesi olmayan, BP kullanan hastaların ağız boşluğunda, 8 haftadan daha uzun süre açığa çıkmış nekrotik kemik varlığı bulunması gerekmektedir (21,32). Khosla ve ark., BP tedavisi gören hastalarda, ağrı, şişlik, parestezi ve supürasyon gibi diğer semptomların tek başına bulunmasının, BRONJ tanısı konulabilmesi için yeterli olmadığını bildirmiştir (32). Bununla birlikte, osteonekrotik lezyonlar ağızda bir süre asemptomatik olarak kalabilmektedir. Açığa çıkmış kemik varlığı gibi klinik olarak gözlenebilen bulgular çıkmadan önce hastalar ağrı, dişte mobilite, mukozada şişlik ve eritem gibi şikayetlerle gelebilmektedir. Bu lezyonlar spontan olarak oluşabileceği gibi, travma veya cerrahi girişime bağlı olarak da gelişebilir. BRONJ tanımının temel özelliklerinden biri olan ağız boşluğunda açığa çıkmış nekrotik kemik olması gerekliliğine rağmen, olguların bir bölümünde bu bulguya rastlanmamaktadır (188-191).

Tanı ve evrelemenin doğru bir şekilde yapılması uygun tedavi yönteminin belirlenebilmesinde önemlidir. Ancak bu konuda pek çok araştırmacı tarafından yapılan önerilere rağmen, BRONJ evrelemesiyle ilgili ortak bir karara henüz varılamamıştır (102,178,192). McMahon ve ark., BRONJ'un erken ve orta dönem bulgularının da evreleme sistemine eklenmesi gerektiğini savunarak kendi evreleme sistemlerini geliştirmişlerdir (193). Patel ve ark., açığa çıkmış nekrotik kemik varlığı gözlenmeyen BRONJ olgularını da dikkate alarak, her evreye 'açığa çıkmamış kemik' ifadesini de ekleyen modifiye edilmiş bir evreleme sistemi ve tedavi protokolü önermişlerdir (194). BRONJ'un karakteristik klinik belirtilerinin yokluğu, özellikle de açığa çıkmış kemiğin olmaması, tanının gecikmesine ve tedavide başarıyla neden olabilmektedir. BRONJ olgularının %30'unun klinikte açığa çıkmış kemik olmaksızın gerçekleştiği öne

sürülmektedir. Bu olgular, AAOMS'nin önerdiği tanı kriterlerine göre Evre 0 olarak değerlendirildiği için tanısı konulamadan ve buna bağlı olarak da tedavi edilemeden kalmaktadır (195).

Yarom ve ark.'ın yayınladığı 11 BRONJ hastasından oluşan olgu serisinde uzun süreli antibiyotik tedavisi ve basit cerrahi işlemlere rağmen 3 hastada lezyon iyileşmemiştir. Bu hastaların 2'sinde ilk tanı konulduğunda açığa çıkmış kemik varlığı gözlenmemiştir (196). Lazarovici ve ark.'ın yayınladığı bir diğer olgu serisinde, BRONJ tanısı konan 92 hastanın 36'sında açığa çıkmış nekrotik kemik gözlenmemiştir. Bu hastalar uzun süreli antibiyotik tedavisi ve basit cerrahi girişimler ile tedavi edilmiştir. Hastaların %18'i tümüyle iyileşirken %52'si kısmen iyileşme göstermiş, %30'u tedaviye cevap vermemiştir (190).

Diş çekimi varlığı veya yokluğunda BP tedavisine bağlı kemiğin açığa çıkması, pek çok sıçan ve fare çalışmalarında ortaya konulmaktadır (152-157,159). İnsanlarda BRONJ tanısında kemiğin açığa çıkması ile ilgili belirlenen, en az 8 haftalık sürenin, deneylerde kullanılan hayvanlara nasıl uyarlanacağı bilinmemektedir. Ayrıca, bu çalışmaların her birinde, farklı mukoza ve kemik nekrozu tanımlamaları yapılmıştır. Hayvan modellerinde evrelemeye de rastlanmadığından, yapılan bu tanımlamaları kıyaslamak zorlaşmaktadır.

Reid ve ark, BP'lerin ağız epiteline doğrudan toksik etki göstermeye yetecek konsantrasyonda kemik içinde birikim gösterdiğini, böylece yumuşak doku lezyonlarındaki iyileşme bozukluğunun alttaki kemiğin sekonder enfeksiyonuna yol açtığını öne sürmektedir (197). Çalışmamızda da tüm gruplara ait sıçanlarda, diş çekim boşluğunun mukoza ile örtülmüş olması ve BRONJ tanısında yer alan açığa çıkmış nekrotik kemik varlığının gözlenmemesi klinik olarak iyileşmenin sağlandığı izlenimini vermiştir. Ancak yapılan histopatolojik incelemelerde BP verilen gruplardaki tüm sıçanlarda çene kemiğinde nekroz gelişimi olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu bulgu, yumuşak doku iyileşmesinin BRONJ gelişiminin patofizyolojisindeki öncelikli etkenlerden biri olduğu hipotezine ters düşmektedir (161,197-200). ZA grubundaki sıçanların ağırlık ölçümlerinin diğer gruplardan daha az

çıkıldığı da göz önüne alındığında, BRONJ'un tanısı açısından bu verilerin göz ardı edilmemesi gerektiği düşünülmüştür.

Literatürde dış çekim boşluğunun iyileşmesini ve BP'lerin dış çekim boşluğuna etkisini değerlendirmeye yönelik analiz yöntemleri olarak radyolojik, dansitometrik ve histopatolojik ve histomorfometrik yöntemlerin kullanıldığı görülmektedir (151-156,158-162).

Klinik tablo, her zaman mukoza altındaki BRONJ lezyonunun yaygınlığını ve şiddetini tam olarak yansıtmadığından, radyolojik görüntüleme yöntemlerinin kullanımı kaçınılmaz olmaktadır (201,202). Bununla birlikte açığa çıkmış kemik varlığı gözlenmeyen durumlarda radyografik görüntüler de normal izlenebilmektedir (203). Biasotti ve ark., sıçanlar üzerinde BRONJ modeli oluşturan diğer çalışmalardan farklı olarak sıçan modellerinde, BRONJ gelişen insanlardaki radyolojik özellikleri de ortaya koyarak bu modelin güvenilirliğini artırmışlardır (154).

Dansitometrik analizlerde yaygın olarak DEXA yönteminden yararlanılmaktadır. Çalışmalarda bilgisayarlı tomografinin, BRONJ olgularında en fazla yarar sağlayan görüntüleme yöntemlerinden biri olduğu belirtilmektedir (119,122,125). Bunun yanında μ CT tarama yöntemi de bu amaçla kullanılabilen radyolojik bir yöntemdir (119,120,204). Ancak radyolojik değerlendirmenin BRONJ lezyonlarındaki etkisi ile ilgili yapılan kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Radyolojik görüntülemenin BP tedavisi sonrasında gelişen kemik lezyonlarının görülmesi ve tanımlanmasındaki önemi büyüktür. Biasotto ve ark. çalışmalarında osteolitik alanın üç boyutlu rekonstrüksiyonunu yapabilmek için CT kullanmış ve bu yöntemin kortikal ve trabeküler kemikle ilgili detaylı bilgi sağlanmasında faydalı olduğunu belirtmişlerdir (154).

Çalışmamızda gruplar arasında dış çekim bölgesinden kemik mineral yoğunluğu araştırılmasında μ CT kullanılmıştır. Yumuşak dokuların neden olduğu ölçüm

hatalarının giderilmesi amacıyla mandibula örnekleri çevresinde yumuşak dokular temizlenmiş ve cihazda aynı parametreler kullanılmıştır.

BRONJ hastalarında yapılan radyolojik incelemelerdeki spesifik olmayan görüntülere rağmen, periostal kemik oluşumu bu hastalarda görülen bir bulgudur. Cho ve ark., BRONJ lezyonlarının şiddetinin artması ile özellikle mandibulada yeni periostal kemik yapımının da arttığını göstermiştir (205). Aghaloo ve ark.'ın, sıçanlarda periodontal hastalığın BRONJ gelişimine etkisini inceledikleri çalışmalarında, μ CT görüntülerinde yeni periostal kemik yapımının arttığını ve alveol kretinin daha geniş izlendiğini bildirmiştir (185).

Bununla birlikte sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, aralıklı PTH uygulaması ile periostal zarftaki kemik oluşumunun büyük oranda uyarıldığı, dolayısıyla PTH'nin, alveolar krette osteoblastik aktiviteyi artırarak kemik oluşumunda artış sağladığı gösterilmiştir (206). Normalde mandibulada süngerimsi kemik yüzeyinde daha hızlı olduğu bilinen kemik oluşum hızının, periosteal yüzeyde görülenden daha fazla olmasına rağmen, PTH uygulanması sonucu mandibulanın periostal yüzeyinde kemik oluşum hızının kontrol grubuna kıyasla 17 kat, aynı kemiklerin süngersi kısımlarıyla kıyaslandığında ise 6 kat daha fazla olduğu izlenmiştir (206).

Çalışmamızda, periostal kemik oluşumunu uyaran ZA ve TP'nin her ikisinin de uygulandığı sıçanlarda, diş çekim bölgesindeki alveol kret genişliğinin en yüksek olarak ölçülmesi, bu ilaçların periostal kemik oluşumu üzerinde ayrı ayrı sağladıkları uyarıcı etki nedeniyle gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir.

Hokugo ve ark., sıçanlarda BRONJ gelişimini zoledronik asit, diş çekimi ve vitamin D eksikliği ile indüklemeyi amaçladıkları sıçan modelinde, diş çekiminden 4 hafta sonra yaptıkları μ CT incelemesinde, yalnızca vitamin D eksikliği ve yalnızca ZA uyguladıkları gruplarda ve kontrol grubunda diş çekim boşluğunun kemik ile dolduğu gözlenirken, vitamin D eksikliği ile ZA'nın birlikte uygulandığı grupta diş çekim boşluğunun iyileşmesindeki gecikmeye ek olarak alveol kemiğinden ayrılmış bazı kemik parçaları izlendiğini belirtmişlerdir (159).

Çalışmamızda μ CT taraması sonrasında yapılan incelemelerde ZA+TP grubunun diş çekim boşluğundan yapılan dansitometrik ölçümlerin ZA grubuna oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sağlıklı sıçanlar kullandığımız çalışmamızın bulguları, Hokugo ve ark.'ın elde ettiği bulgularla uyumluluk göstermektedir (159). ZA+TP grubundaki yüksek dansitometrik ölçümlerin, sistemik TP uygulamasının kemik üzerindeki anabolik etkisi nedeni ile ortaya çıkmış olabileceği düşünülmüştür.

Kemiğin saptanmış olan standart parametreler yönünden mikromimari yapısının sayısal olarak değerlendirilmesi kemik histomorfometri olarak tanımlanmaktadır (207). BP'nin diş çekim boşluğuna etkisine yönelik araştırmalarda kullanılan histomorfometrik analizlerde, diş çekim boşluğu içerisinde oluşan kemik miktarı ve kemik yoğunluğunun sayısal olarak ölçülmesi amaçlanmaktadır.

Osteonekrozun gösterilmesinde kullanılan en önemli tanısal yöntem histolojik incelemedir. İntravenöz BP kullanan hastalarda ağız içi cerrahi uygulamalardan kaçınılması gerekmektedir. Bu nedenle kemik biyopsisi de endike değildir. Histolojik değerlendirme genellikle, kemik sökestri veya osteonekroz bölgesinin etrafından yüzeysel cerrahi debridman yapılarak elde edilen örnek üzerinde yapılabilmektedir. Buna karşın hayvan modellerinde, klinik olarak gözlenebilen kemikle birlikte görülmeyen kısımlar da incelenebilmektedir. Çalışmamızda histolojik kesitlerde, zoledronik asitin diş çekimi sonrasında çenede oluşturduğu etkiler ile teriparatidin BRONJ tedavisindeki rolü incelenmiştir.

Vasconcelos ve ark., BRONJ oluşumunu ZA ve diş çekimi ile indükledikleri sıçan modelinde, diş çekiminden 6 hafta sonrasına yönelik yaptıkları histolojik incelemelerde, ZA verilen gruptaki tüm sıçanlarda nekroz gözlenirken kontrol grubunda nekroza rastlanmadığını bildirmişlerdir (161). Hokugo ve ark, diş çekimi ile oluşturdukları BRONJ sıçan modelinde, histolojik kesitler üzerinde çene nekrozu prevalansını değerlendirmişlerdir. Diş çekiminden 8 hafta sonra yaptıkları incelemelerde, osteonekroz prevalansının vitamin D ve ZA'yı birlikte uyguladıkları grupta %66.7, yalnızca ZA uyguladıkları grupta %14.3, kontrol grubunda ise %0 olduğunu bildirmişlerdir (159).

Bizim çalışmamızda, diş çekimine ek olarak ZA'nın tek başına uygulandığı tüm sıçanlarda osteonekroz gelişimi gözlenirken kontrol grubundaki hiçbir sıçanda nekroz izlenmemiştir. Elde edilen bu sonuç, Vasconcelos ve ark.'ın bulguları ile uyumlu iken Hokugo ve ark.'ın bulgularıyla tam olarak uyuşmamaktadır (159,161). Uygulanan dozların miktarı ve verilme süresine ek olarak, diş çekiminden sonra beklenen sürelerdeki ve diş çekimi yapılan çenelerdeki farklılığın elde edilen sonuçlar arasındaki uyumsuzluğa neden olabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte bu çalışmaların sonuçları, ZA kullanımı sonrasında BRONJ gelişiminde diş çekiminin yeterli bir risk faktörü oluşturabileceğini gösteren çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (128,158,208).

Kemik rezorpsiyonunu sağlayan osteoklastlar, BRONJ histopatolojisinde en çok üzerinde durulan hücre gruplarından biridir. BP'lerin osteoklastlar üzerindeki etkisi ve BRONJ patofizyolojisinde bu hücrelerin rolü, birçok çalışmada incelenmiştir (209). BP'lerin, osteoklastların yapısını bozarak kemik yüzeyinden ayrılmalarına neden olduğu gösterilmiştir (210). Hata ve ark., kemik yüzeyi ile arasında başka hücrelerin bulunduğu durumlarda osteoklastları, kemik yüzeyi ile temasını kaybetmiş olarak tanımlamışlardır (211).

Kuroshima ve ark., 13 ay boyunca ZA uyguladıkları farelerde, kemik yüzeyi ile temasını kaybetmiş osteoklastlarda artış olduğunu göstermiştir (212). Bizim çalışmamızda da bu bilgiyi destekleyecek şekilde, ZA grubu ile kıyaslandığında, ZA+TP ve kontrol gruplarındaki kemik yüzeyi ile temasta olan osteoklast sayısının, istatistiksel olarak daha fazla olduğu görülmüştür. Bu bulgu, BP'lerin osteoklastlar üzerindeki kemik yüzeyi temasının kaybedilmesi şeklindeki etkisinin, teriparatid uygulaması ile kontrol grubundan da yüksek olacak şekilde geriye çevrildiğini göstermektedir. Bununla birlikte, kemik yüzeyiyle temasta olan osteoklastların kemik yüzeyinde kapladığı alanın, toplam kemik yüzey alanına oranları incelendiğinde ZA+TP grubu kontrol grubundan daha düşük değerler verse de, ZA grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla aktif osteoklast bulundurmaktadır. Bu bulgularla uyumlu şekilde, Hata ve ark.'ın yaptığı tanımlamayı kullanarak yaptığımız incelemelerde (211), ZA grubundaki kemik yüzeyi ile temasını kaybetmiş

osteoklastların sayısı, ZA+TP ve kontrol gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur.

Hata ve ark, çalışmalarında 12 ve üzeri çekirdek ihtiva eden osteoklastları dev osteoklastik hücre olarak nitelerken (211), Weinstein ve ark, 8 veya daha fazla çekirdek varlığına ek olarak piknotik çekirdekler içeren, kemik yüzeyi ile temasını kaybetmiş, yüzeyel veya kapanmış rezorpsiyon kavitesine komşuluğu olan ve kemik yüzeyi ile arasında başka tek çekirdekli hücrelerin bulunduğu osteoklastları, dev osteoklastik hücre olarak tanımlamışlardır (213).

Bu çalışmada, 8 ve daha fazla çekirdek varlığı ile birlikte; çekirdeklerin piknotik olması, kemik yüzeyi ile temasın kaybı, yüzeyel veya kapanmış rezorpsiyon kavitesi varlığı gibi özelliklerden en az birine sahip olan osteoklastlar, osteoklastik dev hücre olarak nitelendirildi.

Normal şartlarda osteoklast sayısı kemik rezorpsiyonunun güvenilir bir belirtisi olarak kabul edilmektedir (207). Ancak Weinstein ve ark., oral yoldan alınan BP'leri kullanan postmenopozal kadınlarda yaptıkları çalışmada osteoklast sayısının doza bağlı bir artış gözlemlendiğini, ancak buna rağmen bu osteoklastların yaklaşık üçte birinin kemik yüzeyinden ayrılmış, dev osteoklastik hücreler olduğunu göstermişlerdir (213). 10mg alendronat alan grupta plasebo grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha fazla normal görümlü osteoklast olmasına rağmen biyokimyasal markerların azalması ve kemik mineral yoğunluğunun artması bu normal görümlü osteoklastların da kemiği rezorbe edemediğini düşündürmüştür (213). Ayrıca dev, normalden çok daha fazla çekirdekli, kemikten ayrılmış ve uzamış apoptoz sürecinden geçen osteoklast sayısında da artış bildirmişlerdir (213).

Abtahi ve ark., çalışmalarında sıçanlarda deksametazon ve alendronat tedavisi sırasında yapılan diş çekimi sonrasında lezyonun iyileşme göstermediğini bildirmişlerdir. Kontrol grubunda iyileşmenin nekrotik ve canlı kemik sınırındaki rezorpsiyonu ile sağlandığı görülmüştür. Bu rezorpsiyon sürecinin, enfekte kemik

parçalarının kopmasını ve uzaklaştırılmasını sağladığı için iyileşmede önemli olduğu düşünülmektedir (214).

BP'lerin etki mekanizması osteoklastik aktiviteyi baskılamak ve osteoklastların apoptozuna yol açmaktır (12). Alveolar kemiğin açığa çıktığı invaziv dental cerrahi işlemlerden sonra, kemiğin yeniden şekillenme mekanizmasının bu şekilde bozulması BRONJ gelişimine yol açan faktörlerden biri olarak görülmektedir (198). BRONJ tedavisindeki güçlükler ve bugüne kadar önerilen tedavi yöntemlerinin yetersizliği pek çok hastayı çözümsüz bırakmaktadır.

Bertoldo ve ark., kemiğin yapısında bulunan BP'lerin diş çekimi veya periodontal işlem sonrasında osteoklastlar tarafından kemikten uzaklaştırıldığı sırada, osteoklast yapısına girerek bu hücrelerin apoptozunu uyardığını öne sürmüştür (215). Hokugo ve ark., oluşturdukları BRONJ sıçan modelinde, ZA uygulaması yaptıkları sıçanların diş çekim boşluklarında apoptoza uğrayan osteoklast sayısının kontrol grubuyla kıyaslandığında daha fazla olduğunu göstermişlerdir (159). Bizim çalışmamızda da, Hokugo ve ark.'ın elde ettiği bulgularla (159) uyumlu şekilde, ZA grubunda kontrol grubuna kıyasla daha fazla apoptotik osteoklast gözlenmiştir.

Işık mikroskobu kullanılarak dijital görüntülerinin kaydedildiği kesitlerde, görüntü analiz programı yardımıyla nekrotik kemik alanının toplam kemik alanına oranı hesaplanmıştır. ZA grubundan ölçülen nekrotik kemik alanının toplam kemik alanına oranı ZA+TP grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Histomorfometrik veriler, BRONJ modeli oluşturulan sıçanda TP uygulamasının, osteonekrotik kemik bölgesinde küçülme sağladığını göstermektedir. ZA uygulamasının diş çekim bölgesinde histolojik kemik nekrozuna yol açtığı ve bu nekroz miktarının kontrol ve tedavi grubundakiyle kıyaslandığında anlamlı seviyede yüksek olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmanın sonuçlarının çalışma planlamasındaki bazı noktalar dikkate alınarak değerlendirilmesi gerekmektedir. ZA dozu, kanser veya osteoporoz hastalarında kilogram başına verilen miligram dikkate alındığında elde edilen dozdan yüksek bir dozda ve klinikte rutin olarak uygulanandan daha sık verilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan sıçanlarda, normalde klinikte hastalarda görüldüğü gibi immün

sistemi baskılayacak bir hastalık veya çekilen dişlerde enfeksiyon bulunmamaktaydı. Bu etkenlerin çalışma sonuçlarını nasıl etkileyeceği henüz bilinmemekle birlikte yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Araştırmamızın sonuçları BRONJ sıçan modelinde sistemik TP uygulamasının, kemik yapımını arttırarak nekrotik kemik lezyonunun küçülmesini sağladığını göstermektedir. Teriparatid, zoledronik asit ile indüklenen BRONJ sıçan modelinde hem radyolojik hem de histopatolojik olarak gözlenebilen iyileşmeyi arttırmış, bu olumlu etkinin, teriparatid verilen hayvanların sakrifiye edilmeden önce ölçülen ağırlıklarının artmasıyla kliniğe de yansıdığı düşünülmüştür. Çalışmamız olgu raporlarında elde edilen sonuca benzer şekilde iyileşmenin sağlanmakta olduğu düşüncesini desteklemektedir.

Sistemik TP uygulaması, zoledronik asit ile indüklenen BRONJ üzerindeki klinik, radyolojik ve histopatolojik açıdan görülen olumsuz etkileri geri çevirmiş ve diş çekim boşluğunda oluşan kemikten ölçülen yoğunluk değerlerini kontrol grubu değerlerinin üzerine taşımıştır. Çalışmamızın sonuçları sistemik TP uygulamasının BRONJ hastalarında nekrotik kemik miktarını azaltabileceği ve anabolik etkisi ile kemik yapımını artırabileceğini düşündürmekle birlikte bu konuda ileri klinik çalışmalar gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

Sistemik teriparatid uygulamasının, zoledronik asit ve diş çekimi ile indüklenen çene osteonekrozu üzerindeki iyileştirici etkisinin incelendiği bu çalışmada bulguların değerlendirilmesi ile şu sonuçlara varılmıştır:

- Bifosfonat kullanımına bağlı çene osteonekrozu, en sık olarak zoledronik asit kullanımında, anamnezde diş çekimi gibi cerrahi girişimlerin varlığında ve mandibulada görülmektedir. Bu özelliklerin tümünü taşıyan çalışmamızdaki tüm deneklerde osteonekroz gelişmesi nedeniyle, oluşturulan bu sıçan modelinin BRONJ patofizyolojisi ve tedavisiyle ilgili çalışmalarda kullanılabilecek güvenilir bir yöntem olabileceği düşünülmektedir.
- Literatürde, teriparatid uygulamasının, diş çekimi ile indüklenen BRONJ üzerindeki etkilerini değerlendiren veya BRONJ'un iyileştirilmesine yönelik bir hayvan çalışma modeline rastlanmamıştır. Çalışmamız, bu açılarından bir ilk niteliğindedir.
- Çalışmamızda, BRONJ'un tedavisine yönelik başka herhangi bir konservatif veya cerrahi girişim uygulanmamış olmasına rağmen, histomorfometrik incelemede osteonekroz alanında küçülme ve radyolojik incelemede diş çekim boşluğunda daha yoğun kemik gözlenmesi, bu değişikliklerin yalnızca teriparatidin etkisine bağlı olduğu düşüncesini güçlendirmektedir.
- Çalışmamızda deney gruplarındaki tüm sıçanlarda osteonekrozun açığa çıkmış kemik varlığı olmaksızın gerçekleşmesi ve deney sonundaki ağırlık ölçümlerindeki fark birlikte düşünüldüğünde, BRONJ tanımlamasının bu 'açığa çıkmamış kemik' terimini de içermesinin ve klinik bulguların BRONJ tanısında dikkate alınmasının gerektiği düşünülmüştür.
- Yapılan teriparatid uygulaması, zoledronik asitin osteoklastlar üzerindeki olumsuz etkilerini gidererek, kemik yüzeyine olan temasını yitiren ve apoptotik osteoklastların sayısında azalma sağlamıştır. Böylece, zoledronik asitin osteoklast aktivitesini engellemesiyle baskılanan kemiğin yeniden şekillenmesinin, teriparatidin kemik yapımını arttırıcı etkisi ile tekrar kazanıldığı düşünülmüştür.

- Çalışmamızda, BRONJ'un tedavisine yönelik başka herhangi bir konservatif veya cerrahi girişim uygulanmamış olmasına rağmen, elde edilen klinik, radyolojik, histomorfometrik ve histopatolojik veriler, oluşturulan bu modelde sistemik teriparatid uygulamasının çekim boşluğu içerisindeki kemik yoğunluğunu arttırması ve nekrotik kemik miktarında azalma sağlaması nedeniyle, kemik oluşumunu artırarak zoledronik asitin neden olduğu olumsuz etkileri geriye çevirdiğini gösterilmiştir.
- Araştırmamızın bulguları teriparatid uygulamasının bifosfonata bağlı çene osteonekrozu tedavisinde alternatif tedavi yöntemi olarak kullanılabilceği görüşünü desteklemektedir. Bununla birlikte çalışmamızda nekrotik kemiğin tamamen iyileştiği gözlenmemiştir. Bu durum ilacın tek başına ve 28 gün gibi çok kısa bir süre uygulanmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.
- Diş hekimliği pratiğinde her geçen gün daha çok rastlanmaya başlanan BRONJ olgularında tercih edilebilecek konservatif tedavi yaklaşımlarından biri de kısa süreli teriparatid uygulaması olabilir. Bu deneysel çalışmadan elde edilen sonuçların klinik etkinliğinin ve güvenilirliğinin değerlendirilebilmesi için, dozlar ve süreler de göz önüne alınarak ileri deneysel ve klinik çalışmaların tasarlanmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

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*, 49(1):2-19, 2011.
2. Russell RG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone*, 25:97-106, 1999.
3. 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*, 49(1):2-19, 2011.
4. 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*, 1:12-18, 1970'den naklen Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone*, 49(1):2-19, 2011.
5. Reid IR. Anti-resorptive therapies for osteoporosis. *Semin Cell Dev Biol*, 19:473-478, 2008.
6. Fleisch H. Bisphosphonates: Mechanism of Action. *Endocrine Reviews*, 19(1):80-100, 1998.
7. 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*, 1117:209-257, 2007.

8. Russell RG, Watts NB, Ebetino FE, Rogers MJ. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteop Int*, 19:6733-75, 2008.
9. Green JR, Müller K, Jaeggi KA. Preclinical pharmacology of CGP 42'446, a new, strong, heterocyclic bisphosphonate compound. *J Bone Miner Res*, 9:745-51, 1994.
10. Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: Mechanisms of action. *J Clin Invest*, 97:2692, 1996.
11. Cheng A, Daly CG, Logan RM, Stein B, Goss AN. Alveolar bone and the bisphosphonates. *Aust Dent J*, 54 Suppl s1:51-61, 2009.
12. Rogers MJ. From molds and macrophages to mevalonate: a decade of progress in understanding the molecular mode of action of bisphosphonates. *Calcif Tissue Int*, 75:451-461, 2004.
13. Hughes DE, Wright KR, Uy HL, Sasaki A, Yoneda T, Roodman GD, Mundy GR, Boyce BF. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res*, 10:1478-87, 1995.
14. Evans CE, Braidman IP. Effects of two novel bisphosphonates on bone cells in vitro. *Bone Miner*, 26:95-107, 1994.
15. Cheng A, Mavrokokki A, Carter G, Stein B, Fazzalari NL, Wilson DF, Goss AN. The dental implications of bisphosphonates and bone disease. *Aust Dent J*, 50:4-13, 2005.
16. Marx RE. Oral & Intravenous Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaws. History, Etiology, Prevention, and Treatment. Illinois: Quintessence Publishing Co, Inc, 2007.

17. Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, Cosman F, Lakatos P, Leung PC, Man Z, Mautalen C, Mesenbrink P, Hu H, Caminis J, Tong K, Rosario-Jansen T, Krasnow J, Hue TF, Sellmeyer D, Eriksen EF, Cummings SR; HORIZON Pivotal Fracture Trial. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*, 356(18):1809-22, 2007.
18. Tanvetyanon T, Stiff PJ. Management of the adverse effects associated with intravenous bisphosphonates. *Ann Oncol*, 17:897-907, 2006.
19. Campisi G, Di Fede O, Musciotto A, Lo Casto A, Lo Muzio L, Fulfaro F, Badalamenti G, Russo A, Gebbia N. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): run dental management designs and issues in diagnosis. *Ann Oncol*, 18(6):68-72, 2007.
20. Marx RE, Stern D, editors. Oral and maxillofacial pathology: a rationale for treatment. Hanover Park, IL: Quintessence Publishing, 2002.
21. Advisory Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg*, 65(3):369-76, 2007.
22. Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Mouloupoulos LA, Melakopoulos I, Bozas G, Koutsoukou V, Gika D, Anagnostopoulos A, Papadimitriou C, Terpos E, Dimopoulos MA. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *J Clin Oncol*, 23(34):8580-7, 2005.
23. Ruggiero SL, Woo SB. Biophosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Dent Clin North Am*, 52(1):111-128, 2008.
24. Cartsos VM, Zhu S, Zavras AI. Bisphosphonate use and the risk of adverse jaw outcomes: a medical claims study of 714,217 people. *JADA*, 139(1):23-30, 2008.

25. Durie BG, Katz M, Crowley J. Osteonecrosis of the jaws and bisphosphonates [Letter]. *N Engl J Med*, 353(1):99-102, 2005.
26. Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y, Poveda R, Milian MA, Sanchis JM, Silvestre FJ, Scully C. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J Oral Pathol Med*, 34:120-3, 2005.
27. Migliorati CA. Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. *J Clin Oncol*, 21:4253-4, 2003.
28. Kyrgidis A, Vahtsevanos K, Koloutsos G, Andreadis C, Boukovinas I, Teleioudis Z, Patrikidou A, Triaridis S. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a case-control study of risk factors in breast cancer patients. *J Clin Oncol*, 26:4634-8, 2008.
29. Mavrokokki T, Cheng A, Stein B, Goss A. Nature and frequency of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in Australia. *J Oral Maxillofac Surg*, 65:415-23, 2007.
30. Dimopoulos MA, Kastiris E, Anagnostopoulos A, Melakopoulos I, Gika D, Mouloupoulos LA, Bamia C, Terpos E, Tsionos K, Bamias A. Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates: evidence of increased risk after treatment with zoledronic acid. *Haematologica*, 91(7):968-71, 2006.
31. Zavras AI, Zhu S. Bisphosphonate are associated with increased risk for jaw surgery in medical claims data; is it osteonecrosis? *J Oral Maxillofac Surg*, 64:917-23, 2006.
32. Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D, Gagel RF, Gilsanz V, Guise T, Koka S, McCauley LK, McGowan J, McKee MD, Mohla S, Pendrys DG, Raisz LG, Ruggiero SL, Shafer DM, Shum L, Silverman SL, Van

- Poznak CH, Watts N, Woo SB, Shane E; American Society for Bone and Mineral Research. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res*, 22(10):1479-91, 2007.
33. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*, 63(11):1567-75, 2005.
 34. Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws (published correction appears in *Ann Intern Med*, 145[3]:235, 2006). *Ann Intern Med*, 144(10):753-761, 2006.
 35. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg*, 62(5):527-534, 2004.
 36. Geist L. Die Regeneration des Unterkiefers nach totaler Nekrose durch Phosphordämpfe. Erlangen: Verlag von Ferdinand Enke, p. 66, 1852'den naklen Pautke C, Kreutzer K, Weitz J, Knödler M, Münzel D, Wexel G, Otto S, Hapfelmeier A, Stürzenbaum S, Tischer T. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw: A minipig large animal model. *Bone*, 51(3):592-9, 2012.
 37. Abu-Id MH, Warnke PH, Gottschalk J, Springer I, Wiltfang J, Acil Y, Russo PA, Kreusch T. "Bis-phossy jaws"—high and low risk factors for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Craniomaxillofac Surg*, 36:95-103, 2008.
 38. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg*, 61:1115-7, 2003.
 39. Wang J, Goodger NM, Pogrel MA. Osteonecrosis of the jaws associated with cancer chemotherapy. *J Oral Maxillofac Surg*, 61:1104-7, 2003.

40. Badros A, Weikel D, Salama A, Goloubeva O, Schneider A, Rapoport A, Fenton R, Gahres N, Sausville E, Ord R, Meiller T. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. *J Clin Oncol*, 24:945-52, 2006.
41. Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, Katodritou E, Triaridis S, Andreadis CG, Boukovinas I, Koloutsos GE, Teleioudis Z, Kitikidou K, Paraskevopoulos P, Zervas K, Antoniadis K. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Clin Oncol*, 27:5356-62, 2009.
42. Curtis JR, Westfall AO, Cheng H, Delzell E, Saag KG. Risk of hip fracture after bisphosphonate discontinuation: implications for a drug holiday. *Osteoporosis Int*, 19:1613-20, 2008.
43. Kühl S, Walter C, Acham S, Pfeffer R, Lambrecht JT. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--a review. *Oral Oncol*, 48(10):938-47, 2012.
44. Forteo (teriparatide [rDNA origin] injection) [package insert]. Product Information. Indianapolis, Ind: Eli Lilly and Co; 2002.
45. Tashjian AH Jr, Chabner BA. Commentary on clinical safety of recombinant human parathyroid hormone 1-34 in the treatment of osteoporosis in men and postmenopausal women. *J Bone Miner Res*, 17(7):1151-61, 2002.
46. Dempster DW, Cosman F, Parisien M, Shen V, Lindsay R. Anabolic actions of parathyroid hormone on bone. *Endocr Rev*, 14:690-709, 1993.
47. Finkelstein JS, Klibanski A, Schaeffer EH, Hornstein MD, Schiff I, Neer RM. Parathyroid hormone for the prevention of bone loss induced by estrogen deficiency. *N Engl J Med*, 331(24):1618-23, 1994.

48. Rosen CJ, Bilezikian JE. Clinical review 123: Anabolic therapy for osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 86:957-964, 2001.
49. Rubin MR, Cosman F, Lindsay R, Bilezikian JP. The anabolic effects of parathyroid hormone. *Osteoporos Int*, 13(4):267-77, 2002.
50. Harper RP, Fung E. Resolution of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the mandible: Possible application for intermittent low-dose parathyroid hormone (rhPTH[1-34]) [published correction appears in *J Oral Maxillofac Surg*. 65:1059, 2007]. *J Oral Maxillofac Surg*, 65:573-580, 2007.
51. Song K, Min Y, Lee J, Lee KB, Joo HJ, Kwack K, Chung Y. A Probable Case of Oral Bisphosphonate-Associated Osteonecrosis of the Jaw and recovery with Parathyroid Hormone Treatment. *Current Therapeutic Research*, 69:356-62, 2008.
52. Lau AN, Adachi JD. Resolution of osteonecrosis of the jaw after teriparatide [recombinant human PTH-(1-34)] therapy. *J Rheumatol*, 36(8):1835-7, 2009.
53. Narongroeknawin P, Danila MI, Humphreys LG Jr, Barasch A, Curtis JR. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw, with healing after teriparatide: a review of the literature and a case report. *Spec Care Dentist*, 30(2):77-82, 2010.
54. Tsai KY, Huang CS, Huang GM, Yu CT. More on the resolution of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *J Rheumatol*, 37(3):675, author reply 76, 2010.
55. Cheung A, Seeman E. Teriparatide therapy for alendronate associated osteonecrosis of the jaw. *N Engl J Med*, 363(25):2473-74, 2010.
56. Chtioui H, Lamine F, Daghfous R. Teriparatide therapy for osteonecrosis of the jaw. *N Engl J Med*, 17;364(11):1081-2; author reply 1082, 2011.

57. Lee JJ, Cheng SJ, Jeng JH, Chiang CP, Lau HP, Kok SH. Successful treatment of advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible with adjunctive teriparatide therapy. *Head Neck*, 33(9):1366-71, 2011.
58. Kyrgidis A, Antoniadis K. Could teriparatide be the treatment for osteonecrosis of the jaws? *Head Neck*, 33(9):1382-83, 2011.
59. Subramanian G, Cohen HV, Quek SY. A model for the pathogenesis of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw and teriparatide's potential role in its resolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 112(6):744-53, 2011.
60. Miller CS. Teriparatide's potential role in jaw bone related diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 112(6):703-5, 2011.
61. Li YF, Hu J. Parathyroid hormone may be a promising therapy for bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw bones. *Int J Oral Maxillofac Surg*, Epub ahead of print, 2 Jul 2012.
62. Kwon YD, Lee DW, Choi BJ, Lee JW, Kim DY. Short-term teriparatide therapy as an adjunctive modality for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Osteoporos Int*, 23(11):2721-5, 2012.
63. Iwamoto J, Yago K, Sato Y, Matsumoto H. Teriparatide therapy for bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in an elderly Japanese woman with severe osteoporosis. *Clin Drug Investig*, 1;32(8):547-53, 2012.
64. Subramanian G, Quek SY. Teriparatide's role in the management of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *Osteoporos Int*, 23(11):2727-8; author reply 2729-30, 2012.

65. Ohbayashi Y, Miyake M, Sawai F, Minami Y, Iwasaki A, Matsui Y. Adjunct teriparatide therapy with monitoring of bone turnover markers and bone scintigraphy for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, pii: S2212-4403(12)01519-2. doi: 10.1016/j.oooo.2012.09.006. [Epub ahead of print], 12 Dec 2012.
66. Lee WSS, Cowin SC editor. *Integrated bone tissue physiology: Anatomy and physiology*. Bone Mechanics Handbook. 2nd ed. Florida: CRC press:1-68, 2001.
67. Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials*, 22: 2581-93, 2001.
68. Kierszenbaum AL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi: Patolojiye Giriş*. Ankara: Palme Yayıncılık, 2006.
69. Janquerira LC, Carnerio J. *Basic Histology*. Barış Kitabevi. İstanbul, 2005.
70. Downey PA, Siegel MI. Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Phys Ther*, 86(1):77-91, 2006.
71. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol*, 3 Suppl 3: S131-9, 2008.
72. Young B, Heath JW. *Wheather's Functional Histology*. 4th ed. Edinburg: Churchill Livingstone: 142-15, 2000.
73. Kalfas IH. Principles of Bone Healing.. *Neurosurg Focus*, 10(4):1-4, 2001.
74. Datta HK, Ng WF, Walker JA, Tuck SP, Varanasi SS. The cell biology of bone metabolism. *J Clin Pathol*, 61(5): 577-87, 2008.

75. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423(6937):337-42, 2003.
76. Ross MH, Pawlina W. *Histology. A Text and Atlas. (5th ed).* Lippincott Williams & Wilkins, pp. 213-214, 2006.
77. Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*, 30(9), 809-818, 2003.
78. Raisz LG. Physiology and pathophysiology of bone remodeling. *Clin Chem*, 45:1353-8, 1999.
79. Chow JW, Fox SW, Lean JM, Chambers TJ. Role of nitric oxide and prostaglandins in mechanically induced bone formation. *J Bone Miner Res*, 13(6):1039-44, 1998.
80. Naot D, Cornish J. The role of peptides and receptors of the calcitonin family in the regulation of bone metabolism. *Bone*, 43(5):813-8, 2008.
81. Stroud ML, Stilgoe S, Stott VE, Alhabian O, Salman K. Vitamin D - a review. *Aust Fam Physician*, 37(12):1002-5, 2008.
82. Zofkova I. Pathophysiological and clinical importance of insulin-like growth factor-I with respect to bone metabolism. *Physiol Res*, 52(6):657-79, 2003.
83. Aubin JE, Bonnellye E. Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption. *Osteoporos Int*, 11(11):905-13, 2000.
84. Gogakos AI, Duncan Bassett JH, Williams GR. Thyroid and bone. *Arch Biochem Biophys*, 503(1):129-36, 2010.

85. Manolagas SC, Kousteni S, Jilka RL. Sex steroids and bone. *Recent Prog Horm Res*, 57:385-409, 2002.
86. Potts JT. Parathyroid hormone: past and present. *J Endocrinol*, 187(3):311-25, 2005.
87. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*, 10th ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2006.
88. Webb JCJ, Tricker J. A review of fracture healing. *Current Orthopaedics*, 14(6): 457-463, 2000.
89. 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). 88:2961-78, 2000.
90. Fleisch H. Development of Bisphosphonates. *Breast Cancer Research*, 4:30-34, 2002.
91. 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*, 19(1):80-100, 1998.
92. 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*, 49(1):2-19, 2011.
93. Baeyer HV, Hofmann KA. Acetodiphosphorige Säure. *Beitr Dtsch Chem Ges*, 20:1973-78, 1897'den naklen Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone*, 49(1):2-19, 2011.

94. Font RF, Garcia ML, Martinez JM. Osteochemonecrosis of the jaws due to bisphosphonate treatments: Update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 13:318-324, 2008.
95. 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*, 136(12):1658-68, 2005.
96. Lacy CF, Armstrong LL, Goldman Mp, Lance LL. *Drug Information Handbook*. Lexi-Comp. Inc P.:53-54, 2003.
97. McLeod NM, Davies BJ, Brennan PA. Bisphosphonate osteonecrosis of the jaws; an increasing problem for the dental practitioner. *Br Dent J*, 8:641-4, 2007.
98. Papapoulos SE. Bisphosphonate actions: Physical chemistry revisited. *Bone*, 38(5):613-616, 2006.
99. Watts NB, Diab DL. Long-term use of bisphosphonates in osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 95:1555-65, 2010.
100. Chavassieux PM, Arlot ME, Reda C, Wei L, Yates AJ, Meunier PJ. Histomorphometric assessment of the long-term effects of alendronate on bone quality and remodeling in patients with osteoporosis. *J Clin Invest*, 100:1475-80, 1997.
101. Marini JC. Do bisphosphonates make children's bones better or brittle? *N Engl J Med*. 349:423-426, 2003.
102. 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*, 102(4):433-41, 2006.

103. Lipton A, Theriault RL, Hortobagyi GN, Simeone J, Knight RD, Mellars K, Reitsma DJ, Heffernan M, Seaman JJ. Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long-term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer*. 88(5):1082-90, 2000.
104. Derenne S, Amiot M, Barillé S, Collette M, Robillard N, Berthaud P, Harousseau JL, Bataille R. Zoledronate is a potent inhibitor of myeloma cell growth and secretion of IL-6 and MMP-1 by the tumoral environment. *J Bone Miner Res*, 14:2048-56, 1999.
105. Jagdev SP, Coleman RE, Shipman CM, Rostami-H A, Croucher PI. The bisphosphonate, zoledronic acid, induces apoptosis of breast cancer cells: evidence for synergy with paclitaxel. *Br J Cancer*, 84(8):1126-34, 2001.
106. Boissier S, Ferreras M, Peyruchaud O, Mignetto S, Ebtino FH, Colombel M. Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *Cancer Res*, 60:2949-54, 2000.
107. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, Bellahcene A, Devy L, Foidart JM, Castronovo V, Green JR. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther*. 302(3):1055-61, 2002.
108. Pazianas M, Cooper C, Ebtino FH, Russell RG. Long-term treatment with bisphosphonates and their safety in postmenopausal osteoporosis. *Ther Clin Risk Manag*, 21:325-43, 2010.
109. Boccuzzi SJ, Folz SH, Omar MA, Kahler KH. Assessment of adherence and persistence with daily and weekly dosing regimens of oral bisphosphonates. *Osteoporosis Int*, 16(Suppl 4):35-36, 2005.

110. Lo JC, Pressman AR, Omar MA, Ettinger B. Persistence with weekly alendronate therapy among postmenopausal women. *Osteoporosis Int*, 17(6):922–928, 2006.
111. Miles AE. Phosphorus necrosis of the jaw: 'phossy jaw'. *Br Dent J*, 133(5):203-6, 1972'den naklen Abu-Id MH, Warnke PH, Gottschalk J, Springer I, Wiltfang J, Acil Y, Russo PA, Kreusch T. "Bis-phossy jaws"—high and low risk factors for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Craniomaxillofac Surg*, 36:95-103, 2008.
112. Epstein J, van der Meij E, McKenzie M, Wong F, Lepawsky M, Stevenson-Moore P. Postradiation osteonecrosis of the mandible: a long-term follow-up study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 83:657–662, 1997.
113. Carter G, Goss AN, Doecke C. Bisphosphonates and avascular necrosis of the jaw: a possible association. *Med J Aust*, 182:413-415, 2005.
114. Melo MD, Obeid G. Osteonecrosis of the jaws in patients with a history of receiving bisphosphonate therapy. *J Am Dent Assoc*, 136:1675-81, 2005.
115. Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG, Kogan R. BisphosphonateInduced Osteonecrosis of the Jaws, Bone markers, and a Hypothesized Candidate Gene. *J Oral Maxillofac Surg*, 67:159-61, 2009.
116. Helsloot R, van den Berg T, Frank MH, Everts V. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw; a literature review and a new hypothesis. *IJOR*, 2;e3, 2011.
117. Naidu A, Dechow PC, Spears R, Wright JM, Kessler HP, Opperman LA. The effects of bisphosphonates on osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 106:5-13, 2008.

118. Almazrooa SA, Woo SB. Bisphosphonate and nonbisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a review. *J Am Dent Assoc*, 140(7):864-75, 2009.
119. 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*, 104:249-58, 2007.
120. Elad S, Gomori MJ, Ben-Ami N, Friedlander-Barenboim S, Regev E, Lazarovici TS, Yarom N. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: clinical correlations with computerized tomography presentation. *Clin Oral Investig*, 14:43-50, 2010.
121. O'Ryan FS, Khoury S, Liao W, Han MM, Hui RL, Baer D, Martin D, Liberty D, Lo JC. Intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: bone scintigraphy as an early indicator. *J Oral Maxillofac Surg*, 67(7):1363-72, 2009.
122. Chiandussi S, Biasotto M, Cavalli F, Cova MA, Di Learda R. Clinical and diagnostic imaging of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Dentomaxillofac Radiol*, 35:236-43, 2006.
123. Fantasia JE. Bisphosphonates--what the dentist needs to know: practical considerations. *J Oral Maxillofac Surg*, 67(5 Suppl):53-60, 2009.
124. Treister N, Sheehy N, Bae EH, Friedland B, Lerman M, Woo S. Dental panoramic radiographic evaluation in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Oral Dis*, 15(1):88-92, 2009.
125. Bisdas S, Chambron Pinho N, Smolarz A, Sader R, Vogl TJ, Mack MG. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: CT and MRI spectrum of findings in 32 patients. *Clin Radiol*, 63:71-7, 2008.

126. Ruggiero SL, Mehrotra B. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: diagnosis, prevention, and management. *Annu Rev Med* 60:85-96, 2009.
127. Dello Russo NM, Jeffcoat MK, Marx RE, Fugazzotto P. Osteonecrosis in the jaws of patients who are using oral bisphosphonates to treat osteoporosis. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 22(1):146-153, 2007.
128. Migliorati CA, Schubert MM, Peterson DE, Seneda LM. Bisphosphonate – associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bone. *Cancer*, 104(1):83-93, 2005.
129. [No authors listed]. Teriparatide: new indication. During corticosteroid therapy: no fewer clinical fractures. Unnecessarily inconvenient. *Prescrire Int*, 18(102):159, 2009.
130. Honeywell M, Phillips S, Branch E, Vo KA, Marks EI, Thompson M. Teriparatide for osteoporosis: A clinical review. *Pharmacy and Therapeutics*, 28(11):713-716, 2003.
131. Whitfield JF. The parathyroid hormones (PTHs): anabolic tools for mending fractures and treating osteoporosis. www.medscape.com/viewprogram/604_pnt, 2002.
132. Locklin RM, Khosla S, Turner RT, Riggs BL. Mediators of the biphasic responses of bone to intermittent and continuously administered parathyroid hormone. *J Cell Biochem*, 89(1):180-90, 2003.
133. Pleiner-Duxneuner J, Zwettler E, Paschalis E, Roschger P, Nell-Duxneuner V, Klaushofer K. Treatment of osteoporosis with parathyroid hormone and teriparatide. *Calcif Tissue Int*, 84(3):159-70, 2009.

134. Stroup J, Kane MP, Abu-Baker AM. Teriparatide in the treatment of osteoporosis. *Am J Health Syst Pharm*, 65(6):532-9, 2008.
135. Vahle JL, Long GG, Sandusky G, Westmore M, Ma YL, Sato M. Bone neoplasms in F344 rats given teriparatide [rhPTH(1-34)] are dependent on duration of treatment and dose. *Toxicol Pathol*, 32(4):426-38, 2004.
136. Kanis JA, Burlet N, Cooper C, Delmas PD, Reginster JY, Borgstrom F, Rizzoli R; European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 19(4):399-428, 2008.
137. Schechtman E. Odds ratio, relative risk, absolute risk reduction, and the number needed to treat — Which of these should we use? *Value Health*, 5(5):431-6, 2002.
138. Warshawsky H, Moore G. A technique for the fixation and decalcification of rat incisors for electron microscopy. *J Histochem Cytochem*, 15(9):542-9, 1967.
139. Hortobagyi GN, Theriault RL, Porter L, Blayney D, Lipton A, Sinoff C, Wheeler H, Simeone JF, Seaman J, Knight RD. 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*, 335(24):1785-91, 1996.
140. Berenson JR, Lichtenstein A, Porter L, Dimopoulos MA, Bordoni R, George S, Lipton A, Keller A, Ballester O, Kovacs MJ, Blacklock HA, Bell R, Simeone J, Reitsma DJ, Heffernan M, Seaman J, Knight RD. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. Myeloma Aredia Study Group. *N Engl J Med*. 334(8):488-93, 1996.
141. Sevcik MA, Luger NM, Mach DB, Sabino MA, Peters CM, Ghilardi JR, Schwei MJ, Röhrich H, De Felipe C, Kuskowski MA, Mantyh PW. Bone cancer pain: the

- effects of the bisphosphonate alendronate on pain, skeletal remodeling, tumor growth and tumor necrosis. *Pain*, 111(1-2):169-180, 2004.
142. Novartis AG. Zometa: Zoledronic acid injection. Product information sheet, 2004.
143. Grbic JT, Landesberg R, Lin SQ, Mesenbrink P, Reid IR, Leung PC, Casas N, Recknor CP, Hua Y, Delmas PD, Eriksen EF; Health Outcomes and Reduced Incidence with Zoledronic Acid Once Yearly Pivotal Fracture Trial Research Group. Incidence of osteonecrosis of the jaw in women with postmenopausal osteoporosis in the health outcomes and reduced incidence with zoledronic acid once yearly pivotal fracture trial. *J Am Dent Assoc*, 139(1):32–40, 2008.
144. Migliorati CA. Low incidence of osteonecrosis of the jaw in postmenopausal women with osteoporosis taking zoledronic acid once yearly. *J Evid Based Dent Pract*, 9(1):13-5, 2009.
145. Grbic JT, Black DM, Lyles KW, Reid DM, Orwoll E, McClung M, Bucci-Rechtweg C, Su G. The incidence of osteonecrosis of the jaw in patients receiving 5 milligrams of zoledronic acid: data from the health outcomes and reduced incidence with zoledronic acid once yearly clinical trials program. *J Am Dent Assoc*, 141(11):1365-70, 2010.
146. Otto S, Sotlar K, Ehrenfeld M, Pautke C. Osteonecrosis of the jaw as a possible rare side effect of annual bisphosphonate administration for osteoporosis: A case report. *J Med Case Rep*, 5:477, 2011.
147. Uña E. Early appearance of osteonecrosis of the jaw after zoledronic acid in a patient with a long history of taking oral bisphosphonates. *BMJ Case Rep*, pii: bcr1120115244. doi: 10.1136/bcr.11.2011.5244, 27 Mar 2012.
148. Fitzpatrick SG, Stavropoulos MF, Bowers LM, Neuman AN, Hinkson DW, Green JG, Bhattacharyya I, Cohen DM. Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaws in 3

- osteoporotic patients with history of oral bisphosphonate use treated with single yearly zoledronic acid infusion. *J Oral Maxillofac Surg*, 70(2):325-30, 2012.
149. Lee JJ, Cheng SJ, Wang YP, Jeng JH, Chiang CP, Kok SH. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of yearly zoledronic acid: Report of 2 cases. *Head Neck*, 35(1):E6-E10, 2013.
150. Harada S, Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature*, 423(6937):349-55, 2003.
151. Allen MR, Kubek DJ, Burr DB, Ruggiero SL, Chu TM. Compromised osseous healing of dental extraction sites in zoledronic acid-treated dogs. *Osteoporos Int*, 22(2):693-702, 2011.
152. 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*, 27:663–672, 2009.
153. Sonis ST, Watkins BA, Lyng GD, Lerman MA, Anderson KC. Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients. *Oral Oncol*, 45:164–172, 2009.
154. 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*, 35(5):390–396, 2010.
155. Kikuri T, Kim I, Yamaza T, Akiyama K, Zhang Q, Li Y, Chen C, Chen W, Wang S, Le AD, Shi S. Cell-based immunotherapy with mesenchymal stem cells cures bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *J Bone Miner Res*, 25(7):1668-79, 2010.

156. Kobayashi Y, Hiraga T, Ueda A, Wang L, Matsumoto-Nakano M, Hata K, Yatani H, Yoneda T. Zoledronic acid delays wound healing of the tooth extraction socket, inhibits oral epithelial cell migration, and promotes proliferation and adhesion to hydroxyapatite of oral bacteria, without causing osteonecrosis of the jaw, in mice. *J Bone Miner Metab*, 28:165–175, 2010.
157. Senel FC, Duman MK, Muci E, Cankaya M, Pampu AA, Ersoz S, Gunhan O. Jaw bone changes in rats after treatment with zoledronate and pamidronate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endo*, 109(3):385–391, 2010.
158. Maahs MP, Azambuja AA, Campos MM, Salum FG, Cherubini K. Association between bisphosphonates and jaw osteonecrosis: a study in Wistar rats. *Head Neck*, 33(2):199-207, 2010.
159. Hokugo A, Christensen R, Chung EM, Sung EC, Felsenfeld AL, Sayre JW, Garrett N, Adams JS, Nishimura I. Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res*, 25(6):1337-49. doi: 10.1002/jbmr.23, 2010.
160. 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*, 1;16(7):e879-83, 2011.
161. 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*, 41(9):702-12, 2012.
162. 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*, 38Spec No:511-8. doi: 10.1563/AAID-JOI-D-11-00057, 2012.
163. Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA. The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comp Med*, 58:424–30, 2008.
164. Recker RR, Kimmel DB, Dempster D, Weinstein RS, Wronski TJ, Burr DB. Issues in modern bone histomorphometry. *Bone*, 49:955–64, 2011.
165. Lopez-Jornet P, Camacho-Alonso F, Molina-Minano F, Gomez-Garcia F, Vicente-Ortega V. An experimental study of bisphosphonate-induced jaws osteonecrosis in Sprague–Dawley rats. *J Oral Pathol Med*, 39:697–702, 2010.
166. Bi Y, Gao Y, Ehirchiou D, Cao C, Kikuri T, Le A, Shi S, Zhang L. Bisphosphonates cause osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *Am J Pathol*, 177:280–90, 2010.
167. Polizzotto MN, Cousins V, Schwarer AP. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the auditory canal. *Br J Haematol*, 132(1):114, 2006.
168. Froelich K, Radeloff A, Köhler C, Mlynski R, Müller J, Hagen R, Kleinsasser NH. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the external ear canal: a retrospective study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 268(8):1219-25, 2011.
169. Dimopoulos MA, Kastritis E, Bamia C, Melakopoulos I, Gika D, Roussou M, Migkou M, Eleftherakis-Papaiakovou E, Christoulas D, Terpos E, Bamias A. Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid. *Ann Oncol*, 20:117–20, 2009.
170. Amler MH, Johnson PL, Salman I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wound. *JADA*, 61: 46-

- 48, 1960'dan naklen Horowitz R, Holtzclaw D, Rosen PS. A review on alveolar ridge preservation following tooth extraction. *J Evid Based Dent Pract*. 12(3 Suppl):149-60, 2012.
171. Evian, CI, Rosenberg ES, Coslet JG, Corn H. The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. *J Periodontol*, 53: 81-85, 1981.
172. Devlin PS. Early bone healing events in the human extraction socket. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 31:641–645, 2002.
173. American Dental Association Council on Scientific Affairs. Dental management of patients receiving oral bisphosphonate therapy: expert panel recommendations. *J Am Dent Assoc*, 137(8):1144–50, 2006.
174. Ruggiero SL, Gralow J, Marx RE, Hoff AO, Schubert MM, Huryn JM, et al. Practical guidelines for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with cancer. *J Oncol Pract*, 2(1):7–14, 2006.
175. Bagán J, Blade J, Cozar JM, Constela M, García Sanz R, Gómez Veiga F, Lahuerta JJ, Lluch A, Massuti B, Morote J, San Miguel JF, Solsona E. Recommendations for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw (ONJ) in cancer patients treated with bisphosphonates. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 12:E336–40, 2007.
176. Perez SB, Barrero MV, Hernandez MS, Knezevic M, Castellano Navarro JM, Millares JR. Bisphosphonate-associated osteo-necrosis of the jaw. A proposal for conservative treatment. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 13(12):E770–3, 2008.
177. Khan AA, Sándor GK, Dore E, Morrison AD, Alsahli M, Amin F, Peters E, Hanley DA, Chaudry SR, Dempster DW, Glorieux FH, Neville AJ, Talwar RM, Clokie CM, Al Mardini M, Paul T, Khosla S, Josse RG, Sutherland S, Lam DK, Carmichael RP, Blanas N, Kendler D, Petak S, St-Marie LG, Brown J, Evans AW,

- Rios L, Compston JE; Canadian Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. Canadian consensus practise guidelines for bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw. *J Rheumatol*, 35(7):1391–7, 2008.
178. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mahrotra B. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws – 2009 update. *J Oral Maxillofac Surg*, 67(Suppl. 1):2–12, 2009.
179. Grötz KA, Kreuzsch T. Zahnärztliche Betreuung von Patienten unter/nach Bisphosphonat-Medikation. *Dtsch Zahnärztl Z*, 60(10):1–11, 2006.
180. Weitzman R, Sauter N, Eriksen EF, Tarassoff PG, Lacerna LV, Dias R, Altmeyer A, Csermak-Renner K, McGrath L, Lantwicki L, Hohneker JA. Critical review: update recommendations for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw in cancer patients – May 2006. *Crit Rev Oncol Hematol*, 62(2):148–52, 2007.
181. Bone HG, Hosking D, Devogelaer JP, Tucci JR, Emkey RD, Tonino RP, Rodriguez-Portales JA, Downs RW, Gupta J, Santora AC, Liberman UA; Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N Engl J Med*, 350(12):1189-99, 2004.
182. Ma YL, Bryant HU, Zeng Q, Schmidt A, Hoover J, Cole HW, Yao W, Jee WS, Sato M. New bone formation with teriparatide [human parathyroid hormone-(1-34)] is not retarded by long-term pretreatment with alendronate, estrogen, or raloxifene in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 144(5):2008-15, 2003.
183. Stanton DC, Balasarian E. Outcome of surgical management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: review of 33 surgical cases. *J Oral Maxillofac Surg*, 67(5):943–950, 2009.

184. Yamashita J, Koi K, Yang DY, McCauley LK. Effect of zoledronate on oral wound healing in rats. *Clin Cancer Res*, 17(6):1405-14, 2011.
185. Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, Shoff M, Ronconi M, Gotcher JE, Bezouglaia O, Dry SM, Tetradis S. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J Bone Miner Res*, 26(8):1871-82, 2011.
186. Portero-Muzy NR, Chavassieux PM, Bouxsein ML, Gineyts E, Garnero P, Chapurlat RD. Early effects of zoledronic acid and teriparatide on bone microarchitecture, remodeling and collagen crosslinks: comparison between iliac crest and lumbar vertebra in ewes. *Bone*, 51(4):714-9, 2012.
187. Yuan Q, Sato T, Densmore M, Saito H, Schüler C, Erben RG, Lanske B. FGF-23/Klotho signaling is not essential for the phosphaturic and anabolic functions of PTH. *J Bone Miner Res*, 26(9):2026-35, 2011.
188. Junquera L, Gallego L. Nonexposed bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: another clinical variant? *J Oral Maxillofac Surg*, 66(7):1516-7, 2008.
189. Mawardi H, Treister N, Richardson P, Anderson K, Munshi N, Faiella RA, Woo SB. Sinus tracts--an early sign of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws? *J Oral Maxillofac Surg*, 67(3):593-601, 2009.
190. Lazarovici TS, Yahalom R, Taicher S, Elad S, Hardan I, Yarom N. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a single-center study of 101 patients. *J Oral Maxillofac Surg*, 67(4):850-5, 2009.
191. Fedele S, Porter SR, D'Aiuto F, Aljohani S, Vescovi P, Manfredi M, Arduino PG, Broccoletti R, Musciotto A, Di Fede O, Lazarovici TS, Campisi G, Yarom N. Nonexposed variant of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a case series. *Am J Med*, 123(11):1060-4, 2010.

192. Wilde F, Steinhoff K, Frerich B, Schulz T, Winter K, Hemprich A, Sabri O, Kluge R. Positron-emission tomography imaging in the diagnosis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 107:412-9, 2009.
193. McMahon RE, Bouquot JE, Glueck CJ, Griep JA, Adams WR, Spolnik KJ, Deardorf KA. Staging bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw should include early stages of disease. *J Oral Maxillofac Surg*, 65(9):1899-900, 2007.
194. Patel S, Choyee S, Uyanne J, Nguyen AL, Lee P, Sedghizadeh PP, Kumar SK, Lytle J, Shi S, Le AD. Non-exposed bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a critical assessment of current definition, staging, and treatment guidelines. *Oral Dis*, 18(7):625-32, 2012.
195. Fusco V, Galassi C, Berruti A, Ciuffreda L, Ortega C, Ciccone G, Angeli A, Bertetto O. Osteonecrosis of the jaw after zoledronic acid and denosumab treatment. *J Clin Oncol*, 29(17):e521-2; author reply e523-4, 2011.
196. Yarom N, Yahalom R, Shoshani Y, Hamed W, Regev E, Elad S. Osteonecrosis of the jaw induced by orally administered bisphosphonates: incidence, clinical features, predisposing factors and treatment outcome. *Osteoporos Int*, 18(10):1363-70, 2007.
197. Reid IR, Bolland MJ, Grey AB. Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity? *Bone*, 41:318-20, 2007.
198. Allen MR, Burr DB. The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: so many hypotheses, so few data. *J Oral Maxillofac Surg*, 67(5 Suppl):61-70, 2009.

199. Scheper MA, Badros A, Chaisuparat R, Cullen KJ, Meiller TF. Effect of zoledronic acid on oral fibroblasts and epithelial cells: a potential mechanism of bisphosphonate-associated osteonecrosis. *Br J Haematol*, 144:667–76, 2009.
200. Agis H, Blei J, Watzek G, Gruber R. Is zoledronate toxic to human periodontal fibroblasts? *J Dent Res*, 89:40–5, 2010.
201. Wilde F, Heufelder M, Winter K, Hendricks J, Frerich B, Schramm A, Hemprich A. The role of surgical therapy in the management of intravenous bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 111:153-63, 2011.
202. Stockmann P, Vairaktaris E, Wehrhan F, Seiss M, Schwarz S, Spriewald B, Neukam FW, Nkenke E. Osteotomy and primary wound closure in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a prospective clinical study with 12 months follow-up. *Support Care Cancer*, 18:449-60, 2010.
203. Wilde F, Heufelder M, Lorenz K, Liese S, Liese J, Helmrich J, Schramm A, Hemprich A, Hirsch E, Winter K. Prevalence of cone beam computed tomography imaging findings according to the clinical stage of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 114(6):804-11, 2012.
204. Catalano L, Del Vecchio S, Petruzzello F, Fonti R, Salvatore B, Martorelli C, Califano C, Caparrotti G, Segreto S, Pace L, Rotoli B. Sestamibi and FDG-PET scans to support diagnosis of jaw osteonecrosis. *Ann Hematol*, 86:415-23, 2007.
205. Cho YA, Yoon HJ, Lee JI, Hong SP, Hong SD. Histopathological features of bisphosphonate-associated osteonecrosis: findings in patients treated with partial mandibulectomies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 114(6):785-91, 2012.

206. Miller SC, Hunziker J, Mecham M, Wronski TJ. Intermittent parathyroid hormone administration stimulates bone formation in the mandibles of aged ovariectomized rats. *J Dent Res*, 76(8):1471-6, 1997.
207. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res*, 2:595-610, 1987.
208. Cavanna L, Berte` R, Arcari A, Mordenti P, Pagani R, Vallisa D. Osteonecrosis of the jaw. A newly emerging sitespecific osseous pathology in patients with cancer treated with bisphosphonates. Report of five cases and review of the literature. *Eur J Intern Med*, 18:417–22, 2007.
209. Andrew ER. Bone—the tissue: organic and inorganic component. In: Stancey EM, editor. *Bone histology for pathologist*. 3rd ed. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins; p. 84–85, 2007.
210. Rogers MJ, Crockett JC, Coxon FP, Mönkkönen J. Biochemical and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Bone*, 49:34–41, 2011.
211. Hata K, Kukita T, Akamine A, Kukita A, Kurisu K. Trypsinized osteoclast-like multinucleated cells formed in rat bone marrow cultures efficiently form resorption lacunae on dentine. *Bone*, 13(2):139-46, 1992.
212. Kuroshima S, Go VA, Yamashita J. Increased numbers of nonattached osteoclasts after long-term zoledronic acid therapy in mice. *Endocrinology*, 153(1):17-28, 2012.
213. Weinstein RS, Roberson PK, Manolagas SC. Giant osteoclast formation and long-term oral bisphosphonate therapy. *N Engl J Med*, 1;360(1):53-62, 2009.

214. Abtahi J, Agholme F, Sandberg O, Aspenberg P. Effect of Local vs. Systemic Bisphosphonate Delivery on Dental Implant Fixation in a Model of Osteonecrosis of the Jaw. *J Dent Res*, 21 Dec 2012. [Epub ahead of print]

215. Bertoldo F, Santini D, Lo Cascio V. Bisphosphonates and osteomyelitis of the jaw: a pathogenic puzzle. *Nat Clin Pract Oncol*, 4(12):711-21, 2007.



YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ

T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU (YÜDHEK)

ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
13.04.2012	260	11.04.2012 tarihli yazı	Dt.Nilüfer ERSAN

'Sıçanlarda bifosfonat kullanımı sonrası diş çekimiyle oluşan osteonekroz üzerinde teriparatidin etkisi' başlıklı bilimsel araştırma Etik Kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 1Yıl

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. Ertuğrul KILIÇ	
Üye	Doç. Dr. C. Narter YEŞİLDAĞLAR	KATILMADI
Üye	Yrd. Doç. Dr. Ediz DENİZ	
Üye	Hatice ÖZTÜRK	
Üye	Semra TECÜMEN	KATILMADI

ÖZGEÇMİŞ

Nilüfer Ersan 31.01.1985 tarihinde Kırıkkale’de doğmuştur. İlköğrenimini Adana Mimar Kemal İlkokulu’nda, lise öğrenimini İstanbul Özel Bahçeşehir Lisesi’nde tamamlamıştır. 2002 yılında girmiş olduğu Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nden 2008 yılında mezun olmuştur. Aynı yıl Yeditepe Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi (Oral Diagnoz ve Radyoloji) Anabilim Dalı’nda başladığı doktora eğitimine halen devam etmektedir.