



T.C.

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DIŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

ZOLENDRONİK ASİT UYGULANAN
OVAREKTOMİLİ SIÇANLARDA R_hKMP-2'NİN
DIŞ ÇEKİM BÖLGESİNDEKİ YARA
İYİLEŞMESİNE ETKİSİNİN DENEYSEL
İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

DIŞ HEKİMİ

BERKEM ATALAY

DANIŞMAN

Prof. Dr. KEMAL ŞENÇİFT

İSTANBUL - 2010

Doktora öğrencisi Dt. Berkem ATALAY'ın çalışması jürimiz tarafından Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı doktora tezi olarak uygun görülmüştür.

İMZA

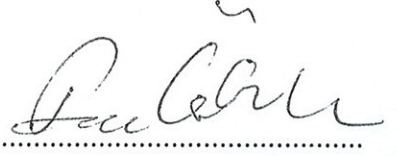
Başkan : Prof. Dr. Kemal ŞENÇİFT
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi


.....

Üye : Prof. Dr. Sina UÇKAN
Üniversite : Başkent Üniversitesi


.....


Üye : Doç. Dr. Ferda ÖZKAN
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi


.....

Üye : Doç. Dr. Nurhan GÜLER
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi


.....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ahmet ARSLAN
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi

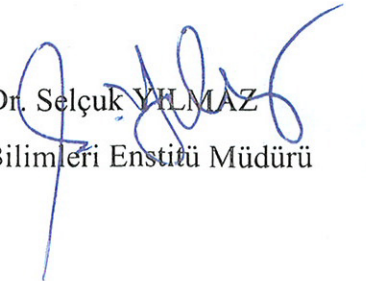

.....

ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 09/06/2010
sayılı kararı ile onaylanmıştır.

tarikh ve15-6....

Prof. Dr. Selçuk YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü



ÖZET

ATALAY B. Zolendronik Asit Uygulanan Ovarektomili Sıçanlarda RhKMP-2'nin Diş Çekim Bölgesindeki Yara İyileşmesine Etkisinin Deneysel İncelenmesi. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul 2010. Bu çalışmanın amacı, zolendronik asit (ZOL) uygulanan ovarektomili sıçanlarda, rhKMP-2'nin diş çekimi yara iyileşmesine etkisinin deneysel olarak incelenmesidir. Çalışma 42 adet diş, 12 haftalık, 225 gram ağırlığında Spraque-Dawley cinsi sıçan üzerinde yürütüldü. Hayvanlarda osteopeninin gelişmesi için ovarektomi işleminden sonra 4 hafta beklenildi ve tüm deney hayvanları üç gruba ayrıldı. Kontrol grubunda 14 adet sıçana 2 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg ZOL ve her gün 1mg/kg deksamethazon (DX) uygulandı, ilk yapılan dozdan 15 gün sonra 7 sıçanın sağ maksiller molar dişi, diğer 7'sinin ise sağ mandibular molar dişi çekildi. İkinci gruptaki (A grubu) 14 adet sıçana 2 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg ZOL ve her gün 1mg/kg DX uygulandı, ilk yapılan dozdan 2 hafta sonra 7 sıçanın sağ maksiller molar dişi, diğer 7'sinin ise sağ mandibular molar dişi çekildi ve çekim bölgesine rhKMP-2 emdirilmiş spanç tampon yerleştirildi. Üçüncü gruptaki (B grubu) 14 adet sıçana 3 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg ZOL ve her gün 1mg/kg DX uygulandı, ilk yapılan dozdan 3 hafta sonra 7 sıçanın sağ maksiller molar dişi, diğer 7'sinin ise sağ mandibular molar dişi çekildi ve çekim bölgesine rhKMP-2 emdirilmiş spanç tampon yerleştirildi. Tüm deney hayvanları diş çekimlerinden 4 hafta sonra sakrifiye edildi. Tüm gruplarda sıçanların ovarektomi, diş çekimi, birinci enjeksiyon ve sakrifiye zamanlarındaki ağırlıkları kaydedildi. Tüm gruplarda diş çekimi yapılan bölgelerde inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığı histolojik olarak incelendi. Tüm gruplardaki sıçanların ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim izlendi. Sıçanların birinci enjeksiyon ile diş çekimine kadar geçen

sürede B grubundaki ağırlıklarında görülen azalma, kontrol ($p=0.005$; $p<0.01$) ve A grubundan ($p=0.001$; $p<0.01$) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. Maksilla ve mandibulada inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Grupların mandibulada yeni kemik oluşum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.05$). A grubunda ileri düzeyde yeni kemik oluşumu 5 sıçanda (%71,4) izlenirken, B grubunda 2 sıçanda (%28,6) izlendi ($p=0,017$). A grubunun yeni kemik oluşum düzeyi, kontrol grubundan anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p=0.021$; $p<0.05$). Grupların mandibulada sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.05$). Sökestr, kontrol grubunda 1 sıçanda (%14,3) izlenirken, A grubunda 1 sıçanda (%14,3) ve B grubunda 5 sıçanda (%71,4) izlendi ($p=0,032$; $p<0.05$). B grubunda sökestr varlığı, kontrol ve A grubundan anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p=0.031$; $p<0.05$). Çalışmamızdan elde edilen histolojik bulgular ile ovarektomi sonrası bifosfonat uygulanan sıçanlarda yeni kemik oluşumunu sağlaması için uygulanan rhKMP-2 dozunun arttırılması gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Ovarektomi, Zolendronik asit, Osteonekroz, rhKMP-2.

ABSTRACT

ATALAY B. The effects of RhBMP-2 on the Extracted Bone Healing After Zolendronic Acid Treatment in Ovariectomized Rats. Yeditepe University Health Sciences Institute PHD Thesis in Oral Surgery, İstanbul, 2010. The aim of this study is to determine the histologic findings of rhBMP-2 on extracted bone healing after zolendronic acid (ZOL) treatment in ovariectomized rats. This study was performed on 42 female, 12 weeks old, 225 gr Spraque-Dawley rats. All rats were untreated for the first 4 weeks after surgery to allow for the development of osteopenia and all rats were divided into 3 groups. In control group, 14 rats were injected 7,5 µg/kg ZOL a week and 1mg/kg deksamethazone (DX) everyday for 2 weeks. In second group (group A), 14 rats were injected 7,5 µg/kg ZOL a week and 1mg/kg deksamethazone (DX) everyday for 2 weeks. In third group (group B), 14 rats were injected 7,5 µg/kg ZOL a week and 1mg/kg deksamethazone (DX) everyday for 3 weeks. Each groups were divided into two groups according to extraction of molar teeth in maxilla or mandible. 2 weeks after first injection for control and group A and 3 weeks after for group B. Collagen carrier with rhBMP-2 implanted into the extraction socket in group A and B. All animals were sacrificed 4 weeks following tooth extractions. In all groups, weights of the rats on ovariectomy, tooth extraction, first injection and sacrifice and histological findings such as inflammation, new bone formation and necrotic bone presence were recorded. There was statistically significant difference between the body weights of rats in all groups. A significant decrease of body weights was found in group B then control ($p=0.005$; $p<0.01$) and group A ($p=0.001$; $p<0.01$) between first injection and tooth extraction. There was no statistically difference between inflammation, new bone formation and necrotic bone in maxilla and mandible ($p>0.05$). New bone formation was observed in 5 (%71,4) group A and 2 (%28,6) group B ($p=0,017$). In all groups there was a statistically significant difference in

mandible for new bone formation ($p < 0.05$). There were better new bone formation in group A than control group ($p = 0.021$; $p < 0.05$). Necrotic bone was observed 1 (%14,3) in control and group A, 5 (%71,4) in group B ($p = 0.032$; $p < 0.05$). A statistically significant difference was found in mandible for necrotic bone presence ($p < 0.05$). Necrotic bone presence was statistically significant in group B than control and group A ($p = 0.031$; $p < 0.05$). We concluded that increase rhBMP-2 dosage on extracted bone healing after ZOL treatment in ovariectomized rats can obtain new bone formation.

Keywords: Ovariectomy, Zolendronic Acid, Osteonecrosis, rhBMP-2

TEŞEKKÜR

Tecrübesi ve bilgisi ile her türlü sıkıntıda her zaman bana yardımcı olan Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım Sayın **Prof. Dr. Kemal Şençift'e**,

Üniversitede bulunduğum ilk günden itibaren, eğitimim ve tez çalışmam süresince yakın ilgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, pratik ve teorik bilgilerini büyük özveriyle, yorulmadan gösteren ve anlatan, her zaman yanımda olan ve başarılı olmam için büyük fedakarlıkta bulunan, kendisini örnek aldığım sevgili hocam Sayın **Doç. Dr. Nurhan Güler'e**,

Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ni Türk Diş Hekimliği'ne kazandıran dekanımız Sayın **Prof. Dr. Türker Sandallı'ya**,

Çalışmanın tamamlanması bilgilerini benimle paylaşan Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Sedat Çöloğlu'na**,

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

Bana, yaşamımın her döneminde güvenen, başarılı olmam için maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, benim üzüntümle üzülen, sevincimle sevinen, annem **Ecz. Müfide Atalay'a**, babam **Dt. Erol Atalay'a** ve ağabeyim **Dr. Görkem Atalay'a**,

Çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR ve SİMGELER	xi
ŞEKİLLER	xii
RESİMLER	xiv
TABLolar	xvi
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Alendronat	6
2.2. Zolendronik Asit	7
2.3. Çenelerin Bifosfonata Bağlı Osteonekrozu	9
2.4. Osteoporotik Kemiğin Özellikleri	16
2.5. Ovaryektomize Sıçanlarda Bifosfonat Uygulamaları	18
2.6. Kemik Morfogenetik Proteini	20
2.7. KMP'nin Etkinliği Üzerinde Rol Oynayan Faktörler	22

2.8. RhKMP-2'nin Diş Hekimliği'nde Kullanımı	26
MATERYAL VE METOD	
3.1. Materyal	29
3.2. İstatistiksel Analiz	35
BULGULAR	36
TARTIŞMA	63
SONUÇLAR	75
KAYNAKLAR	77
EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi	96
ÖZGEÇMİŞ	97

KISALTMALAR ve SİMGELER

Ark.	Arkadaşları
ZOL	Zolendronik Asit
ATP	Adenozintrifosfat
FPS	Farnesil pirofosfat sintaz
GTP	Guazintrifosfat
KMY	Kemik mineral yoğunluğu
IV	İntravenöz
ÇBON	Çenelerin bifosfonata bağlı osteonekrozu
DX	Deksamethazon
OİSH	Orofasiyal ilik stromal hücreleri
AAOMS	American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons
DKM	Demineralize kemik matriksi
KMP	Kemik morfogenetik proteini
TGF-β	Transforming büyüme faktörü beta
BFF	Büyüme farklılaşma faktörü
FBF	Fibroblast büyüme faktörü
RhKMP	Rekombinant insan kemik morfogenetik proteini

ŞEKİLLER

Şekil 2.1 Alendronatın kimyasal formülü	7
Şekil 2.2 Zolendronik asitin kimyasal formülü	9
Şekil 4.1 Kontrol grubundaki ağırlık değişimi grafiği	39
Şekil 4.2 A grubundaki ağırlık değişimi grafiği	40
Şekil 4.3 B grubundaki ağırlık değişimi grafiği	41
Şekil 4.4 Birinci enjeksiyon ile diş çekimine kadar geçen zamandaki değişimlerin gruplara göre dağılımı	43
Şekil 4.5 Tüm grupların ovarektomi ile sakrifiye edilme dönemine kadar geçen zamandaki ortalama ağırlıkları	44
Şekil 4.6 Tüm gruplardaki sıçanların diş çekim bölgesindeki inflamasyon düzeylerinin dağılımı	46
Şekil 4.7 Tüm gruplardaki sıçanların diş çekim bölgesindeki yeni kemik oluşum düzeylerinin dağılımı	47
Şekil 4.8 Tüm gruplardaki sıçanların diş çekim bölgesindeki sökestr varlığının dağılımı	48
Şekil 4.9 Tüm grupların maksillada yeni kemik oluşum düzeylerinin dağılımı	57

- Şekil 4.10** Tüm grupların diş çekimi yapılan mandibulada inflamasyon düzeylerinin dağılımı 60
- Şekil 4.11** Tüm grupların diş çekimi yapılan mandibulada yeni kemik yapım düzeylerinin dağılımı 60
- Şekil 4.12** Tüm grupların mandibulasında sökestr varlığının dağılımı 61

RESİMLER

Resim 3.1 Ovarektomi öncesi sedasyon uygulanan Spraque-Dawley sıçanın sabitlenmesi	29
Resim 3.2 Steril operasyon sahasının hazırlanması	30
Resim 3.3 Ovaryumların diseksiyonu	31
Resim 3.4 Eksize edilen ovarler	31
Resim 3.5 Cilt ve cilt altı dokuların suture edilmesi	32
Resim 3.6 Rekombinant İnsan Kemik Morfogenetik Proteini-2	33
Resim 4.1 Kontrol grubunda maksillada, çekim bölgesini doldurmakta olan yeni kemik yapımı, x100	49
Resim 4.2 Kontrol grubunda mandibulada, diş çekim bölgesini (E) doldurmakta olan yeni kemik yapımı, x100	49
Resim 4.3 A grubunda maksillada, çekim bölgesinde yeni kemik yapımında güçlü osteoblastik aktivite, x200	51
Resim 4.4 A grubunda mandibulada, çekim bölgesinde yeni kemik yapımı (ok), x100	51
Resim 4.5 B grubunda maksillada, çekim bölgesinde yeni kemik yapımı (ok), (K), x200	53

- Resim 4.6** B grubunda maksillada, çekim bölgesinde iyileşme alanı 53
içinde nötrofil polimorflarla çevrili sökestr (ok) ve yeni kemik yapımı (K), x100
- Resim 4.7** B grubunda maksillada, çekim bölgesinde iyileşme alanı 54
içinde nötrofil polimorflarla çevrili sökestr. (ok), x200
- Resim 4.8** B grubunda mandibulada, çekim bölgesinde iyileşme alanı 55
içinde nötrofil polimorflarla çevrili sökestr (ok), x100
- Resim 4.9** B grubunda mandibulada, çekim bölgesinde iyileşme alanı 55
içinde nötrofil polimorflarla çevrili sökestr. Sökestr (ok) ve nötrofil polimorflar (Np), x200

TABLolar

Tablo 4.1 Tüm gruplarda sıçanların her bir işlem zamanlarındaki ağırlıklarının ortalaması	37
Tablo 4.2 Tüm gruplarda sıçanların her bir işlem öncesinde ölçülen ağırlık değişimlerinin ortalaması	41
Tablo 4.3 Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin histolojik değerlendirme bulguları	44
Tablo 4.4 Kontrol grubunda, maksilla ve mandibulada inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı	48
Tablo 4.5 A grubunda, diş çekimi yapılan maksilla ve mandibulada inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı	50
Tablo 4.6 B grubunda, diş çekimi yapılan maksilla ve mandibuladaki inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı	52
Tablo 4.7 Tüm gruplarda diş çekimi yapılan maksiller kemikteki histolojik bulguların dağılımı	57
Tablo 4.8 Tüm gruplarda diş çekimi yapılan mandibular kemikteki histolojik bulguların dağılımı	58

Tablo 4.9 Tüm gruplarda diş çekimi yapılan maksiler kemikteki inflamasyona göre yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı	61
Tablo 4.10 Tüm gruplarda diş çekimi yapılan mandibular kemikteki inflamasyona göre yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı	62

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Osteonekroz, trabeküler kemiğin hematopoetik kompartmanında bulunan kemik iliği hücrelerinin ve kortikal kemikteki osteositlerin ölümü nedeniyle kullanılan bir terimdir. Histolojik incelemelerde hematopoetik kök hücrelerinin, kemik iliği stromal hücrelerinin, preosteoblastların, olgun osteoblastların ve osteoklastların da nekrozu gözlenmektedir. Osteonekroz vakalarında, kemik endotelyal hücrelerinin parçalandığı ve kemik içinde kan akışını sağlayan damarlanmanın bozulduğu da izlenmektedir. Ancak çenelerde oluşan osteonekroz, yüksek doz radyasyon, glukokortikosteroid kullanımı ve kemiğe uzun süreli bakteri invazyonu gibi etkenlerden oluşabileceği için bifosfonat kullanımıyla geliştiğinde "çenelerin bifosfonata bağlı osteonekrozu" (ÇBON) olarak tanımlanmaktadır.

Bifosfonatların, osteoklastlar üzerindeki kısıtlayıcı etkisi ile kemik remodelinginin ve kemik turnoverının azaldığı bildirilmektedir. Teorik olarak bifosfonatların, vasküler endotelyal büyüme faktörünü ve yeni kapiller oluşumunu engellemesi ile yüksek vaskülarizasyonu ve kemik turnoveri olan çene kemiklerinde bu etkilerin şiddetlenmesine neden olmakta ve avasküler nekroz gelişmektedir. İliyak krestle karşılaştırıldığında maksilla ve mandibulada bulunan orofasiyal kemik stromal hücrelerinin proliferasyon yeteneklerinin fazla olması, maksilla ve mandibulanın yüksek doz bifosfonata duyarlı hale gelmesiyle sonuçlanmaktadır. ÇBON, bifosfonat kullanan ancak baş-boyun bölgesine radyoterapi görmeyen hastalarda, çene kemiklerinde 8 haftadan uzun süreli görülen nekrotik kemik gelişimi olarak tanımlanmaktadır. ÇBON'un, çenelerde kemiğin açığa çıkması ve genellikle spontan iyileşmemesi ile karakterizedir.

ZOL nitrojen içeren bifosfonat molekülüdür. ZOL'un pamidronata göre 100 kat, ibandronata göre 10 kat daha güçlü etkiye sahip olduğunu rapor etmektedir. ZOL'un, osteoklast oluşumunu ve osteoklast rezorpsiyon

aktivitesinin engellendiği ve bu nedenle kemik turnoverinin bozulduğu savunulmaktadır. Hidroksiapatit rezorbsiyonunu, osteoklastların rezorbsiyon bölgesine migrasyonunu ve tümör hücrelerinin kemik matrikse yayılmasını engellediği de ileri sürülmektedir. Sıçan tibiasında kanserin meydana getirdiği ağrılı kemik metastazı modelinde, diğer bifosfonatlara göre ZOL'ün tümör proliferasyonunu engellediği, trabeküler ve kortikal kemiğin yapısını koruduğu, terapödik kullanımında osteoklast yapımını engellediği ve antitümör özelliğinden dolayı ağrıyı belirgin şekilde önlediğini, farelerde ZOL'ün, çekim soketindeki kan damarlarının sayısını, endotelial hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu azalttığını bununla birlikte çekim soketinin iyileşmesinde rol oynayan anjiogenezi engellediği bildirilmektedir.

KMP, peptit büyüme faktörleri içeren transforming büyüme faktörü beta (TGF- β) süperfamilyasının üyesidir. KMP'lerin, kemik ve kırık dokularının gelişim ve rejenerasyonunda etkisi olduğu bildirilmektedir. KMP'lerin, farklılaşmamış mezenşimal ve osteoprojenitör hücrelerin çoğalmasını ve osteoblastlara farklılaşmalarını sağladıkları, bununla birlikte osteoblastların alkalen fosfataz salınımını ve mezenşimal hücrelerin kemotaksis ile tip-4 kollajene bağlanmalarını arttırdıkları rapor edilmektedir. KMP'nin etkileri üzerine yapılan in vitro çalışmalar, multipotent hücrelerin kemik indüksiyonunda rol oynadıklarını kanıtlamaktadır. Prenatal/postnatal hayvanlarda veya insan ve hayvan kemik iliği hücrelerinde bulunan multipotent hücrelerin KMP'lere karşı duyarlılık gösterdikleri bununla birlikte yenidoğan sıçan kalvariial hücreleri ve sıçan osteosarkom hücreleri rhKMP-7 ile tedavi edildiklerinde osteojenik diferansiyasyon gösterdikleri rapor edilmektedir. Ayrıca fare embriyosundan elde edilen fibroblastik hücre zincirinin rhKMP-2'ye karşı osteoindüktif cevap oluşturduğu bildirilmektedir. Sıçan ve fare kemik iliğinin rhKMP-2, insan kemik iliğinin ise rhKMP-2 ve rhKMP-7 tedavisi

sonrası osteoblastik parametrelerde artışın gözleendiği rapor edilmektedir. KMP-2'nin osteoindüktif özelliğinin diğer proteinlere oranla daha fazla olduğu bildirilmektedir.

Günümüzde bifosfonat grubu ilaçlar, osteoporoz, Paget hastalığı, multiple myeloma, metabolik kemik hastalıkları, meme, akciğer, prostat kanserleri gibi tümörlerin kemik metastazlarının bulunduğu vakalarda kullanılmaktadır. Bifosfonat kullanan hastalarda görülen osteonekroz tedavisinde, kemik iyileşmesini hızlandıran ve komplikasyonların gelişmesini engelleyen mekanizmaların etkinliği bilinmemektedir. Bu çalışmada, potansiyel olarak bifosfonat kullanımı gerektiren sistemik rahatsızlıklara sahip olan hastaların yaşı ve cinsiyeti göz önünde bulundurularak, ovariectomi sonrası ZOL uygulanan sıçanlarda rhKMP-2'nin diş çekim bölgesindeki yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin deneysel olarak incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

Bifosfonatlar 1865 yılında Almanya'da, Menshutkin tarafından sentezlenmiş olup ilk kez tekstil, yağ, gübreleme gibi endüstriyel alanlarda kullanılmıştır (1,2). Son 30 yılda osteoklastik aktivite üzerindeki inhibitör etkilerinin ve antianjiyotik özelliklerinin tanımlanmasıyla, maligniteye bağlı hiperkalsemi, göğüs, prostat, akciğer kanserleri gibi solid tümörlerin kemik metastazlarında ve multiple miyeloma gibi kanser ilişkili hastalıklarda, ayrıca osteoporoz, osteopeni, Paget hastalığı, osteogenezis imperfekta gibi sistemik rahatsızlıklarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (3,4,5).

Bifosfonatların kemik metabolizması üzerindeki etkilerinin, doğrudan kemik yıkımından sorumlu osteoklastik aktivitenin engellenmesi ile sağlandığı ayrıca ekstraselüler matriksteki tümör hücre tutulumunu, tümörün invazyonunu engelleme ve/veya tümör hücresinin apoptozu gibi antitümör etkileri de bulunduğu rapor edilmektedir (6,7). Bifosfonatların, fizyolojik dozlarda uygulandıklarında, kemiğe olan spesifik affinitelerinden dolayı yeni oluşan kemikte ve osteoklastların yakınında çökeldiği bildirilmektedir. Rezorbe olan osteoklastlar, etrafında açığa çıkan kemik minerallerine hızlı bir şekilde bağlandığı ve rezorbe olan kemik boşluğunda yüksek miktarlarda görüldüğü ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, kan dolaşımındaki yarılanma ömürlerinin 30 dakika ile 2 saat arasında değiştiği, ancak kemikle birleşmiş metabolize olmayan bifosfonatların uzun süre yüksek konsantrasyonlarda bulunabildiği ve 10 yıla kadar vücutta rastlanabildiği de savunulmaktadır (8,9).

Bifosfonat molekülünün kimyasal yapısının kolayca değiştirilebileceği ve bu sayede biyolojik, terapötik ve toksik karakterleri farklı olan çok sayıda bifosfonat oluşturulabileceği gösterilmiştir (9,10). Nitrojen içeriğine göre iki gruba ayrılmaktadır. Nitrojen içermeyen

bifosfonatlar; etidronat, klodronat ve tiludronat iken, nitrojen içeren bifosfonatlar; alendronat, risedronat, ibandronat, pamidronat ve zoledronik asittir (ZOL). Nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonatların osteoklastlara karşı gösterdikleri etki mekanizmaları farklı olmaktadır. Nitrojen içermeyen bifosfonatların, osteoklastların içerisine girerek hidrolize olmayan sitotoksik adenozintrifosfat (ATP) analoglarına metabolize olduğu ve ATP analoglarının ise osteoklastların apoptozuna yol açtığı bildirilmektedir (6). Nitrojen içeren bifosfonatların ise hücre içine girerek biyosentetik mevalonat geçiş yolundaki farnesil pirofosfat sintaz (FPS) enzim aktivitesini ve bununla birlikte farnesil pirofosfat ve geranil-geraniol pirofosfat gibi ara ürünlerin oluşmasını inhibe ederek etkili oldukları gösterilmektedir. Bu ara ürünlerin guazintrifosfata (GTP) bağlı RAS, RHO ve RAC gibi hücre proliferasyonu ve hücre iskeleti organizasyonunda görev yapan sinyal proteinlerinin aktivasyonunu engellediği rapor edilmektedir (11). RAS hücre içi vezikül transportunda görevli bir protein olup osteoklastik kemik yıkımını uyarmaktadır. RAS'ın engellenmesi ile osteoklastik kemik yıkımının durduğu, bununla birlikte FPS aktivitesinin bozulması ile nitrojen içermeyen bifosfonatlara benzer şekilde ATP analoglarının oluşmasına ve osteoklast apoptozuna neden olmaktadır (6).

Düzenli bifosfonat kullanımının kemik mineral yoğunluğunda (KMY) artışa neden olduğu, günlük ya da belirli aralıklarla verilen dozların aynı derecede etkili olmasına rağmen doz veriliş sürelerinden çok uygulanan toplam dozun önemli olduğu rapor edilmektedir (12).

Günümüzde kemik metabolizması üzerindeki etkilerinin tanımlanmasıyla birçok hastalıkta geniş kullanım alanı bulunan bifosfonatların, hastaların yaşam kalitesini arttırmanın yanı sıra gastrointestinal sistemde intolerans, özefagus ülseri, renal toksisite, akut böbrek yetmezliği, elektrolit dengesizlikleri, atrial fibrilasyon, ateş, miyalji,

influenza ve bifosfonata bağlı çene osteonekrozu gibi yan etkilerinin de olabileceği bildirilmektedir (13,14,15,16).

2.1 Alendronat

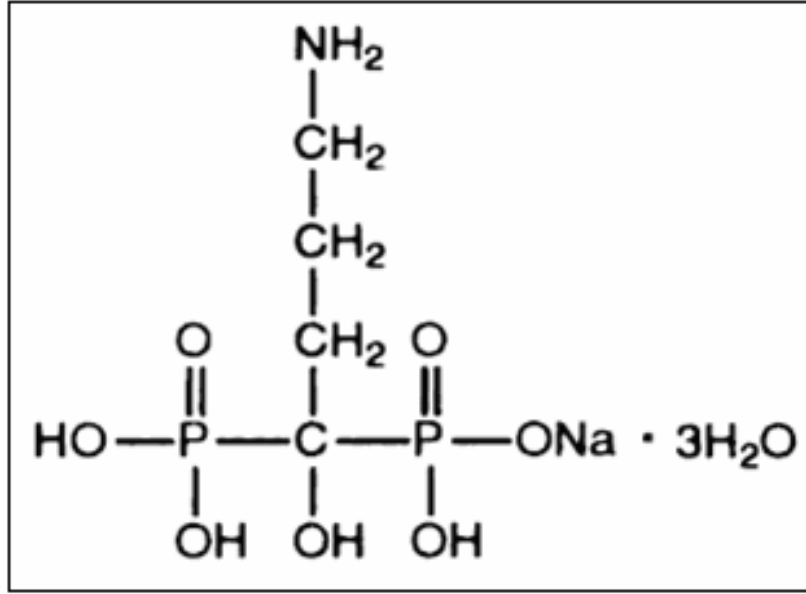
Nitrojen içeren ikinci nesil jenerasyon bifosfonat olan alendronatın, içerdiği yan zincir olan amino grubu ile gulu ve selektif yapısı olduğu bildirilmektedir. Alendronat, kemik turnoverının ve rezorpsiyonun arttığı Paget hastalığı, fibröz displazi ile osteoporozun önlenmesi ve tedavisinde kullanılmaktadır.

Alendronat sodyum, kimyasal olarak 4-amino-1-hidroksibtiliden-1, 1-bifosfonik asit ve monosodyum trihidrat tuzu Şeklinde olduğu bildirilmektedir. Formlu $C_4H_{12}NNaO_7P_2 \cdot 3H_2O$ olup, formül ağırlığı 325,12 g/Mol'dür (Şekil 2.1). Beyaz, kristalin ve nonhidroskopik toz halinde olan alendronat sodyum suda çözünebilmekte ancak alkolde çok az, kloroformda ise hiç znememektedir.

Sato ve ark.'ları (1991), in vitro çalışmasında alendronatın kemikteki rezorpsiyon yüzeylerine bağlandığını ve asidifikasyon sırasında lokal olarak açığa çıktığını ve burada konsantrasyon artıŐına bağlı olarak osteoklastların dalgalı membran yapılarını bozduğunu belirtmektedir (17). Bifosfonat grubundaki diğer ilaçlardan farklı olarak alendronatın, kemik iliğinde oluşan osteoklast prekürsörlerinin osteoklastik potensiyelini etkilemediği ve etkinin olgunlaŐmıŐ osteoklastlar üzerinden olduğu bildirilmektedir (18). Alendronatın osteoklast hücre fonksiyonlarının yerine getirilmesinde önemi olan protein-tirozin-fosfataz enzim grubunu direkt olarak inhibe ettiği ayrıca doza ve sreye bağlı olarak hücre içinde alendronat konsantrasyonunun artıŐının gözlemlendiği rapor edilmektedir (19).

Alendronatın kemik inhibisyonundaki diğer etki mekanizması, osteoklastlardaki kolesterol sentez yolunu (mevalonate yolu) engellemesiyle

olmaktadır. Kemik turnoverını yavaşlatır ve bu özelliği sayesinde mineralizasyon süresi ve bununla beraber kemik yoğunluğu da artmaktadır. Alendronat tedavisi gören kemik doku biyomekanik anlamda direnç kazanmaktadır (20,21). Sistemik kullanımında ateş, akut faz proteinlerinin artışı gibi inflamasyon artışı, gastrointestinal rahatsızlıklar ve oftalmik inflamasyon gibi istenmeyen yan etkilerin geliştiği bildirilmektedir (22,23).

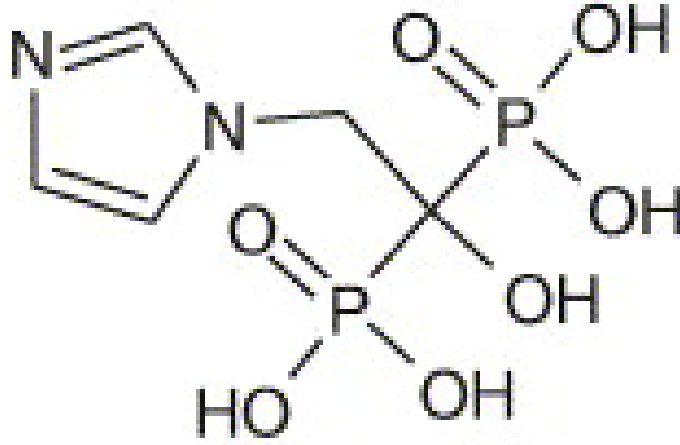


Şekil 2.1 Alendronatın kimyasal formülü

2.2 Zoledronik Asit (ZOL)

ZOL nitrojen içeren bifosfonat molekülüdür. Osteoklastik aktiviteyi ve kemik rezorpsiyonunu engellemesi ile hiperkalsemi tedavisinde, multiple myeloma, prostat kanseri göğüs kanseri ve solid kemik metastazlarında antineoplastik tedavide, bununla birlikte Paget hastalığı ve postmenopozal osteoporoz tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Onkolojik tedavi amaçlı kullanımda önerilen doz 4 haftada bir 15 dk'lık intravenöz (IV) infüzyon yoluyla 4 mg iken, Paget hastalığı ve postmenopozal osteoporozda ise yılda bir 15 dk'lık infüzyonla 5mg şeklindedir. ZOL yapısal olarak fosfor-karbon-fosfor kolu ve R1 pozisyonunda bir hidroksil grubu içermesi

nedeniyle diğer bifosfonatlarla benzerlik gösterir (24). Bununla birlikte R2 pozisyonuna bağlı heterosiklik imidazol grubu ile diğerlerinden ayrılır. Kimyasal formülü $C_5H_{10}N_2O_7P_2 \cdot H_2O$ ve molekül ağırlığı 290,1 g/Mol olan ZOL'ün bugüne kadar hazırlanan en güçlü bifosfonat preparatı olduğu bildirilmektedir (Şekil 2.2)(25). Green (2001), ZOL'un pamidronata göre 100 kat, ibandronata göre 10 kat daha güçlü etkiye sahip olduğunu rapor etmektedir (24). ZOL'un, osteoklast oluşumunu ve osteoklast rezorpsiyon aktivitesini engellediği ve bu nedenle kemik turnoverinin bozulduğu savunulmaktadır. Hidroksiapatit rezorpsiyonunu, osteoklastların rezorpsiyon bölgesine migrasyonunu ve tümör hücrelerinin kemik matrikse yayılmasını engellediği de ileri sürülmektedir (25,26,27). Walker ve ark.'ları (2002), sıçan tibiasında kanserin meydana getirdiği ağrılı kemik metastazı modelinde 19 gün 30µg/kg ZOL uyguladıklarında, diğer bifosfonatlara göre ZOL'ün tümör proliferasyonunu engellediği, trabeküler ve kortikal kemiğin yapısını koruduğu, terapötik kullanımında osteoklast yapımını engellediği ve antitümör özelliğinden dolayı ağrıyı belirgin şekilde önlediğini bildirmektedir (28). Kobayashi ve ark.'ları (2009), farelerde yaptıkları çalışmada ZOL'ün çekim soketindeki kan damarlarının sayısını, endotelial hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu azalttığını bununla birlikte çekim soketinin iyileşmesinde rol oynayan anjiogenezi engellediğini bildirmektedir (29).



Şekil 2.2 Zoledronik asitin kimyasal formülü

2.3 Çenelerin Bifosfonata Bağlı Osteonekrozu

Osteonekroz, trabeküler kemiğin hematopoetik kompartmanında bulunan kemik iliği hücrelerinin ve kortikal kemikteki osteositlerin ölümü nedeniyle kullanılan bir terimdir. Histolojik incelemelerde hematopoetik kök hücrelerinin, kemik iliği stromal hücrelerinin, preosteoblastların, olgun osteoblastların ve osteoklastların da nekrozu gözlenmektedir. Ayrıca osteonekroz vakalarında, kemik endotelial hücrelerinin parçalandığı ve kemik içinde kan akışını sağlayan damarlanmanın bozulduğu da izlenmektedir. Ancak çenelerde oluşan osteonekroz, yüksek doz radyasyon, glukokortikosteroid kullanımı ve kemiğe uzun süreli bakteri invazyonu gibi etkenlerden oluşabileceği için bifosfonat kullanımıyla geliştiğinde “çenelerin bifosfonata bağlı osteonekrozu” (ÇBON) olarak tanımlanmaktadır. ÇBON patogenezi kemiğin ve epitelyal hücrelerin travmadan sonra normal yara iyileşmesi sürecindeki yetersizliği ile ilgili olduğu hala tartışılan teoriye dayanmaktadır (30).

Kemik iliği organı içerisindeki postnatal kök hücre topluluğu olarak kabul edilen kemik iliği stromal hücreleri, preosteoblast ve osteoblast dahil birçok hücre tipine farklılaşabilmektedir. Kemik iliği stromal hücreleri osteoblast-osteklast dengesini de dolaylı olarak modüle etmektedir. İliyak

krestle karşılaştırıldığında maksilla ve mandibulada bulunan orofasiyal kemik stromal hücrelerinin proliferasyon yeteneklerinin fazla olması, maksilla ve mandibulanın yüksek doz bifosfonata duyarlı hale gelmesiyle sonuçlanmaktadır (31,32).

Çene kemiklerinin, vücudun diğer kemiklerine göre vaskülarizasyonunun ve turnoverının daha fazla olması bifosfonat konsantrasyonunun yüksek olmasına neden olduğu bildirilmektedir. Çiğneme fonksiyonu ve dişlerin etrafında bulunan periodontal ligamanların, periodonsiyum etrafında hızlı kemik yapım-yıkım oluşturması ile bifosfonatların sebep olduğu aselüler ve avasküler kemikte mikro kırıklar meydana geldiği ancak ince olan oral mukozanın travmatize olduğu veya cerrahi sırasında hasar görebildiği ve oral florada bulunan bakterilerin nekrotik kemiğe ulaşabildiği rapor edilmektedir (33). Bifosfonatların, osteoklastlar üzerindeki kısıtlayıcı etkisi ile kemik remodelinginin ve kemik turnoverının azaldığı bildirilmektedir. Teorik olarak bifosfonatların, vasküler endotelial büyüme faktörünü ve yeni kapiller oluşumunu engellemesi ile yüksek vaskülarizasyonu ve kemik turnoveri olan çene kemiklerinde bu etkilerin şiddetlenmesine neden olmakta ve avasküler nekroz ile sonuçlanmaktadır (34).

ÇBON, bifosfonat kullanan ancak baş-boyun bölgesine radyoterapi görmeyen hastalarda, çene kemiklerinde 8 haftadan uzun süreli görülen nekrotik kemik gelişimi olarak tanımlanmaktadır (35). ÇBON'un, çenelerde kemiğin açığa çıkması ve genellikle spontan iyileşmemesi ile karakterizedir (13). Klinik olarak, osteolitik lezyonu olan kanser hastalarının, bifosfonatlardan bağımsız olarak kemoterapiyi de içeren birçok ilaç almaları ÇBON gelişmesinde rol oynamaktadır (35). Kemik metabolizması üzerinde katabolik etki gösteren glukokortikoidler osteoblastogenezisi inhibe ederek osteoblastların apoptozunu hızlandırmaktadır. Sentetik yapıda glukokortikoid olan deksametazonun (DX) uzun süreli sistemik

kullanımında histomorfometrik ve klinik olarak kemik yoğunluğunda azalmaya neden olduğu rapor edilmektedir. Deksamethazon kanser tedavisinde diğer ilaçlara ait etkilerin ortaya çıkmasında yardımcı nitelik taşıyan madde olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Bazı çalışmalarda bifosfonat ile beraber oral glukokortikosteroidin ve östrojenin kronik olarak uygulanmasının ÇBON riskini arttırdığı da rapor edilmektedir (33,36). Deneysel çalışmalarda ZOL ve DX verilen sıçanlarda diş çekimi sonrasında yumuşak doku ve kemikte gelişen değişikliklerin insanlardaki ile aynı olduğunu, osteonekrozun patogenezi ve tedavisi için iyi bir model oluşturdukları belirtilmektedir (37). Kemoterapi, uzun dönem bifosfonat kullanımına bağlı orofasiyal ilik stromal hücreleri (OISH) üzerindeki selüler stres, osteoblast-osteoklast dengesinin bozulması, vaskülerizasyonun azalması, kemikte mikro kırık oluşumu ve periodonsiyum aracılığıyla bakteri invazyonunun kombinasyonu ile oluşan sinerjinin etkisi (bandwagon effect) ÇBON'un oluşmasına ve/veya büyümesine neden olduğu ileri sürülmektedir (38).

ÇBON'a bağlı gelişen lezyonlar genellikle sarımsı beyaz renkli kemik alanları şeklinde olup ekstraoral veya intraoral fistüller ve lezyon etrafında ülserasyonlar şeklinde de görülebilmektedir. Hastalarda, tipik olarak orofasiyal ağrı, diş ağrısı, trismus, oroantral fistüle bağlı olarak kronik sinüzit veya kütanoz fistül görülebilmektedir (39,40). ÇBON vakalarında anatomik komşuluğa bağlı olarak maksilla veya mandibulada hissizlik oluşabileceği de bildirilmektedir (41,42). Çenelerde en çok etkilenen bölgenin oral mukozanın ince olduğu mandibular ve palatinal torus ve mylohiyoid çıkıntı'nın bulunduğu posterior mandibula olduğu rapor edilmektedir (33,36,41,42,43).

ÇBON'un görülme insidansı maksillada %16,7 ile %38,8, mandibulada %55,5 ile %83,3 arasında iken her iki çenede görülmesi ise %5,7 ile %14 olarak bildirilmektedir. (44,45,46,47). ÇBON'un genellikle diş

çekimi ya da oral cerrahi işlem sonrasında gelişebildiği gibi %40 oranında spontan olarak oluşabildiği de bildirilmektedir (43).

ÇBON gelişiminde ilacın etkisi, uygulama şekli ve uygulama süresi gibi ilaca bağlı risk faktörleri, cerrahi işlemler, torus ve eksoztoz gibi anatomik yapılarla ilgili lokal risk faktörleri, kötü ağız hijyeni, periodontal hastalıklar, abse oluşumu, yaş, beyaz ırk ve kanser tanısı ayrıca sigara kullanımı, diyabet, kortikosteroid tedavisi, alkolizm ve kemoterapi rol oynamaktadır.

Üç ay süre ile bifosfonat kullanımının ÇBON'u tetikleyici özellikte olmadığı ve güvenli periyod olduğu ileri sürülmesine rağmen herhangi bir kanıt ile desteklenmemektedir (43). Bazı araştırmacılar, kemik turnoverinin inhibisyon derecesinin, IV bifosfonat kullanan hastalardaki ÇBON riski ile ilişkili olmadığı rapor edilmektedir (48). Diğerleri osteoklastik iyileşmeye izin vermek için oral bifosfonat kullanımının 1 ile 3 ay durdurulmasını önermekte (49), bu sürecin cerrahi tedaviden sonra yara iyileşmesini arttırdığını böylece potansiyel olarak ÇBON riskini azalttığını ileri sürmektedir (49,51). Ancak klinik veriler bu görüşü desteklememektedir.

Bifosfonatlar arasında özellikle ZOL ve pamidronat kullanılan ve 36 aydan uzun süren tedavilerde osteonekroz riskinin arttığı (51,52), sıklıkla tedavilerin ikinci ve üçüncü yıllarında ortaya çıktığı (53), bununla birlikte tedaviye başladıktan sonraki 4 ile 5 ay sonrasında da görülebildiği rapor edilmektedir (43,54). Bamias ve ark.'larının (2005), bifosfonat ile tedavi edilen kanser hastalarında gelişen ÇBON'un insidansını ve risk faktörlerini inceledikleri çalışmada, 4 ile 12 ay süre ile bifosfonat kullananlarda ÇBON oluşma insidansının %1,5, 37 ile 48 ay süre kullanımında ise %7,7 olduğu rapor edilmektedir (55). Stumpe ve ark.'ları (2009), ÇBON teşhis edilenlerde ortalama bifosfonat kullanım süresi 17 ay iken, ÇBON izlenmeyenlerde ise bu sürenin 9 ay olduğunu bildirmektedir (45). Abu-Id ve ark.'ları (2008),

ÇBON'un risk faktörlerini inceledikleri çalışmalarında, bifosfonat kullanan hastalarda ÇBON gelişim süresinin ortalama 31,8 ay olduğunu bildirmektedir (56).

IV bifosfonat kullanan hastalarda en sık görülen klinik belirti ve semptomlar; orofasiyal ağrı, diş ağrısı, trismus, enfeksiyon, fistülizasyon, dişlerde lüksasyon, dudakta parestezi ve hissizliktir. Bu belirti ve semptomlar; periodontal dokularda yıkım ve iyileşmeyen mukozal ülserler şeklinde görülebilir ve osteonekroz oluşumu klinik olarak belirgin hale gelmeden ortaya çıkabilir (50,51).

IV bifosfonat olan pamidronat ve ZOL'ün, alendronat gibi oral bifosfonatlara göre osteoklastlar üzerinde daha güçlü etkiye sahip oldukları, uzun dönem kullanımları sonucunda osteoklastların, kemiğin rezorbsiyonunu engelleyerek, osteoblastların ve osteositlerin aselüler kemik matriksinden ayrılarak ölümüne neden oldukları, bununla birlikte kapiller dejenerasyon, avaskularizasyon ve mikrokırıklara yatkınlığın izlendiği bildirilmektedir. Osteonekroz ile IV bifosfonat kullanımı arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda, özellikle ZOL ve pamidronat gibi bifosfonatların IV kullanımına bağlı olarak ÇBON geliştiği rapor edilmektedir (57,58). Woo ve ark.'ları (2006), ÇBON gelişen hastaların %94'ünün IV ZOL veya pamidronat kullanımına bağlı olduğunu bildirmektedir. IV bifosfonat kullanan hastaların çenelerinde ÇBON görülme insidansının %0.8 ile %28 oranında değiştiği ancak oral bifosfonat kullanan hastalarda %0.09 ile %0.34 oranında olduğu rapor edilmektedir (3,41,55,59,60,61,62). Durie ve ark.'larının (2005), bifosfonat kullanan meme kanseri ve multiple myeloma hastalarını incelediği çalışmasında, ZOL kullanan 211 hastanın %10'unda ÇBON görüldüğünü bildirmektedir (59).

ÇBON teşhisi konan hastalarda tedavi planı; ağrının giderilmesi, yumuşak ve sert dokuda oluşan enfeksiyonun kontrolü ve ÇBON'un

ilerlemesini en aza indirgemeyi içermektedir. ÇBON gelişen hastalar, osteomyelit veya osteoradyonekroz gelişen hastalara uygulanan cerrahi tedavilere farklı cevap vermektedir. Yumuşak doku irritasyonuna neden olan nekrotik kemik düzeltilmeli veya uzaklaştırılmalıdır. Patolojik mandibular kırık oluşan semptomatik hastalarda segmental rezeksiyon ve plak ile immediyat rekonstrüksiyon gerekebilmektedir. Ancak non-vaskülerize veya vaskülerize kemik ile rekonstrüksiyon, alıcı sahada nekroz gelişme riski olduğundan problem oluşturabilmektedir.

Bifosfonat kullanan hastaların tedavi planını oluşturabilmek için American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS), ÇBON gelişiminin evrelerini katagorize etmektedir (3). Bu sınıflandırma aşağıdaki gibidir;

- A. Riskte olan hastalar: Bifosfonat tedavisi gören ve ekspozite veya nekrotik kemik oluşumu bulunmayan hasta grubu
- B. ÇBON gelişen hastalar:
 - 1. Evre: Asemptomatik ve enfeksiyon bulunmayan ekspozite veya nekrotik kemik oluşumu görülen hasta grubu
 - 2. Evre: Ağrı ve enfeksiyon bulunan ekspozite veya nekrotik kemik oluşumu görülen hasta grubu
 - 3. Evre: Ağrı, enfeksiyon ve patolojik kırık, ekstraoral fistül veya inferior sınıra uzayan osteolizis görülen hasta grubu

ÇBON katagorizasyonuna göre tedavi stratejileri de AAOMS tarafından aşağıdaki gibi belirlenmektedir;

- A. Tedavi endikasyonu bulunmamaktadır. Ağız hijyen eğitimi gerekmektedir.

- B. 1. Evre: Antibakteriyal ağız gargarası, klinik takip, ağız hijyen eğitimi ve devam eden bifosfonat tedavisi nedeniyle endikasyonların gözden geçirilmesi
2. Evre: Geniş spektrum antibiyotiklerle semptomatik tedavi, antibakteriyal ağız gargarası, ağrı kesiciler ve yumuşak doku travması engellemek için yüzeysel debriman
3. Evre: Antibakteriyal ağız gargarası, antibiyotik tedavisi ve ağrı kesici, enfeksiyon ve ağrının giderilmesi için cerrahi debriman veya rezeksiyon

Onkoloji hastalarında, ağrı ve patolojik kırık insidansının azaltılması amacı ile bifosfonatların terapötik etkilerinden yararlanmaktadır. IV bifosfonatların kesilmesini kısa dönemde yaralı olmayıp, sistemik durum elverişli ise bifosfonata uzun dönem ara verilmesi, ÇBON gelişen alanların iyileşmesini sağlaması, yeni nekrotik alanların oluşma riskini ve klinik semptomları azaltması nedeniyle faydalı olabilmektedir.

Primer yara iyileşmesinin sağlanması, antiseptik ağız gargarası kullanımı, sistemik antibiyotik profilaksisi ve vazokonstrüktörsüz lokal anestetik ajanların kullanımının da ÇBON riskini azalttığı ileri sürülmektedir (48,63). Alveolar cerrahi yapılan tüm vakalarda ve kemik enfeksiyonu için ek risk faktörlerinin bulunduğu ve/veya önemli kemik cerrahisi gerektiren tedavilerde, cerrahi öncesi ve sonrası antibiyotik profilaksisi önerilmektedir (64).

Kanser hastalarında şiddetli kemik ağrısı, kırık riski veya hiperkalsemi nedeniyle bifosfonat tedavisi ertelenememekte ve hastalar bifosfonat tedavisinin dental komplikasyonları hakkında her zaman bilgilendirilememektedir. Barker ve ark.'ları (2007), IV bifosfonat tedavisi görecekte olan multiple myeloma hastalarının tedavi için gittikleri doktorların

%54'nün bifosfonat tedavisi öncesinde diş hekimlerine yönlendirilmediğini rapor etmektedir (65).

Bifosfonat kullanılan hastaların dental tedavisi, ilacın kullanım zamanına ve dişlerin tedavi gerekliliğine göre değişmektedir. İdeal olan, tedaviye başlamadan önce ağız ortamının sağlıklı hale gelmesi ve bunun devamlılığının sağlanmasıdır. Bu amaçla, 2006 yılında AAOMS'un ÇBON için düzenlediği protokol uygulanmaktadır. Bu protokolün amacı, hastaları, bifosfonat kullanımına başlamadan önce veya başladıktan sonra invazif girişim gereksinimi eleme etmek ve kemiğin enfeksiyonundan korumaktır (3,64). Ancak günümüzde bifosfonat kullanan hasta sayısının artması ve ÇBON riskinin varlığı, dental müdahalelerde diş hekimlerini kısıtlamaktadır. Bifosfonat kullanan hastalarda farklı tedavi yöntemlerinin araştırılması ise etik nedenlerden dolayı mümkün olamamaktadır. Bununla birlikte deneysel modellerde bifosfonatların, etkileri, yan etkileri ve meydana gelen yan etkilerin tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. Hayvan modellerindeki amaç ÇBON'un klinik görünümünü taklit etmektir. Birçok ÇBON vakasında bifosfonat tedavisinin yanında dental travma, periodontal hastalık ve immünosupresyon gibi risk faktörleri de bulunmaktadır. Bu nedenle insanlarda gelişen ÇBON'u hayvan modellerinde de oluşturabilmek için risk faktörlerinin de biraraya getirilmesi gerektiği rapor edilmektedir (66).

2.4 Osteoporotik Kemiğin Özellikleri

Mandibulada kortikal porozitenin yaşla beraber arttığı, kemik rezorpsiyon ve depozisyonunun mandibula gövdesine zıt olarak alveoler proste daha aktif olduğu bildirilmektedir. Kortikal kalınlığın, metabolik kemik kaybını değerlendirmede önemli parametre olduğu ve gonial kortikal kalınlığın 1 mm'den az olmasının metabolik kemik kaybının göstergesi olduğu savunulmaktadır. Semptomatik osteoporozlu bireylerin

maksillasındaki kemik mineral içeriği değerinin, aynı yaştaki sağlıklı ve menapoz yaşı aynı olan kadınların kemik mineral değerine göre daha düşük olması ile osteoporozun maksiller kemikte rezorpsiyonu arttıracığı rapor edilmektedir. Total dişsiz kadınlarda, semptomatik osteoporozun maksilladaki alveol kemik kaybı aısından yüksek risk oluşturduğu bildirilmektedir (67,68,69,70).

İnsanlarda kemik biyopsi işlemlerinde yaşanan gúçlükler, tedavi sonuşlarının kısa zamanda görülememesi, yaşam tarzı, sigara ve/veya alkol kullanımı, diyet gibi birçok faktörün etki etmesi nedeniyle osteoporozla ilişkin çalışmalardan dolayı homojen deney gruplarının oluşturulabilmesi gúçtür. Bu nedenle araştırmalarda sıklıkla osteoporotik hayvan modelleri kullanılmaktadır (71). Osteoporotik hayvan modellerinin oluşturulmasında genellikle bilateral ovarektomi uygulamaları, ovarektomi ile birlikte düşük kalsiyum diyeti uygulaması, kortikosteroid uygulamaları, lokal iskelet bölgesinin denervasyonu, yer çekimsiz ortam ve kemiğin değişik metodlarla hareketsizleştirilmesi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Postmenapozal osteoporozun en iyi taklit edilebildiği modelin ovarektomi yapılan hayvan modeli olduğu bildirilmektedir (72). Wronski ve ark.'ları (1993), ovarektominin, sıçanlarda osteopeniyi uyardığını ve kemiksel kütlenin kaybını arttırdığını rapor etmektedir. Ovarlerin ift taraflı olarak eksize edildiği cerrahi işlem sonrasında gelişen östrojen eksikliği ile menopoz sonrası kemik metabolizması değişiklikleri arasında belirgin bir fark olmadığı bildirilmektedir. Bununla birlikte ovarektomize sıçanların östrojen eksikliği modeli olarak kullanılan bir yöntem olduğu savunulmaktadır (73).

Kolay temin edilebilmesi ve hızlı bir metabolizmaya sahip olması nedeniyle sıçan bu amaçla en sık kullanılan deney hayvanıdır ancak östrojen eksikliğinin bazen menopoza göre aşırı oluşabilmesi, tekrarlayan kan ve kemik örneklerinin alınmasındaki gúçlükler ve intrakortikal havers kanal sisteminin ovarektomiden etkilenmemesi nedeniyle değerlendirilememesi

ve bazı bölgelerde kemik döngüsünün insana göre aşırı hızlı olması en önemli dezavantajlarıdır. Ayrıca sıçanlarda kırık tedavileri ve implant uygulamaları gibi çalışmalar için kemik büyüklüğü yetersiz kalabilmektedir (74,75).

Li ve Nishimra (1994), ovariectomi yapılan sıçanlarda çekilen molar dişlerin alveoler kemik yapılarının morfolojik ve histolojik yapıyı inceledikleri çalışmada, alveoler yapının ovariectomi yapılan sıçanlarda yapılmayanlardan farklı olarak kalsifiye bir dokuyla örtüldüğünü bildirmektedir. Dev hücreler ve ağ şeklinde ince ekstraselüler matriksle karakterize kondroid kemik şeklindeki bu doku oluşumunun ovariectomiye bağlı osteoklastik aktivitenin azalmasıyla farklı tipte kalsifiye bir dokunun oluşturduğunu rapor etmektedir (76).

Ovariectomi yapılan sıçanlarda östrojen hormonunun kemik rezorpsiyonunu stimüle ettiği, çekim sonrasında maksillanın bukkal bölgesinde yeni oluşan kemik desteğinde önemli ölçüde azalmaya yol açtığı, iyileşme esnasında kemik formasyonunda azalma görüldüğü tespit edilmiştir (77).

2.5 Ovariectomize Sıçanlarda Bifosfonat Uygulamaları

ÇBON'un risk faktörlerini, patogenezi ve tedavisini araştıran çalışmalar, hastalardan alınan doku örneklerinin inceleme için yetersiz olması, cerrahi girişim ile yayılma riski ve klinik öngörülebilirliğin eksikliği nedeniyle sınırlı kalmaktadır. Bu nedenle araştırmalar bifosfonat kullanan hastalarla aynı koşullara getirilen hayvan modelleriyle yapılmaktadır (37,73,78,79).

Gasser ve ark.'ları (2008), postmenapozal osteopeni oluşturulan ovariectomili sıçanlarda ZOL kullanımının uzun dönem koruyucu etkilerini

araştırdıkları çalışmada, ZOL'ün tek dozunun (100µg/kg) kemik üzerindeki etkisinin 32 hafta sürdüğünü bildirmektedir (80).

Yao ve ark.'ları (2007), yaşlı ovarektomili sıçanlarda kemik mineralizasyonunun derecesini inceledikleri çalışmalarında, tek doz verilen ZOL'ün trabeküler kemik kaybını 180 güne kadar engellediğini bildirmektedirler (81).

Brouwers ve ark.'ları (2008), ovarektomili sıçanlarda erken ve geç dönem bifosfonat tedavisinin kemik dejenerasyonu ve iyileşmesi üzerine yaptıkları çalışmada, erken dönem ZOL tedavisinin, ovarektomi sonrası kemiğin mikro yapısındaki değişimleri engellediğini rapor etmektedir (82).

Perilli ve ark.'ları (2009), ZOL enjeksiyonundan sonra bilgisayarlı mikrotomografi (mikro-CT) kullanarak ovarektomili sıçanlar ile normal sıçanların, erken dönem kemiksel değişimlerini karşılaştırdıkları çalışmada, ovarektomi yapılan sıçanlara 2 hafta içinde ZOL uygulandığında kansellöz kemiğin tamamen iyileştiğini bildirmektedir (83).

Günümüzde, deney hayvanları üzerinde bifosfonatların kemik metabolizmasına etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır ancak bifosfonatların çenelerde oluşturduğu yan etkilerinden biri olan osteonekrozu inceleyen çalışmalar sınırlı kalmaktadır.

Burr ve Allen (2009), 6 ay boyunca yüksek doz ZOL uyguladığı (0,06mg/kg/ay) av köpeklerinde, alveoler kemikte ve osteositlerde nekroz olduğunu ancak kemiğin açığa çıkmadığını rapor etmektedir (84).

Hikita ve ark.'larının (2009) çalışmasında, diş çekimi öncesinde çekim bölgesine 16 gün süre ile lokal olarak alendronat uyguladıkları 5 haftalık erkek sıçanlarda, alendronat uygulanan grupta diş çekim soketinde yeni kemik oluşumunun geciktiğini, ayrıca iyileşme sürecinin erken

dönemindeki enfeksiyonun, ÇBON gelişimini tetikleyebileceğini bildirmektedir (85).

Kobayashi ve ark.'ları (2009), insanlarda gelişen ÇBON mekanizmasını farelerde dış çekim modeli oluşturarak ZOL'un çekim soketi üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmada, ZOL uygulamasına dış çekiminden 7 gün önce başlanarak 13 gün süre devam ettiğini ancak farelerde dış çekimi sonrasında ÇBON gelişmediğini bildirmektedir (29).

Sonis ve ark.'ları (2009), sıçanlara ZOL ve DX uyguladıktan sonra dış çekimlerini yaptıkları çalışmada, ZOL ve DX uygulanan sıçanlarda insanlarda oluşan ÇBON'a benzer, mukozada ülserasyon, nekrotik kemik ve inflamatuvar infiltrasyon gözleendiği, bununla birlikte maksiller molar dişleri çekilen sıçanların %80'inde, mandibular molar dişleri çekilen sıçanların ise %60'ında çekim bölgelerinde ülserasyon meydana geldiğini rapor etmektedir (37).

2.6 Kemik Morfogenetik Proteini

İskelet dışı bölgelere yerleştirilen demineralize kemik matriksinin (DKM), kemik formasyonunu tetiklediği ve doğal kemik oluşumunu sağladığı rapor edilmektedir (86). İnsan, maymun, sığır ve sıçan üzerinde yapılan histolojik ve biokimyasal analizler sonucunda DKM'nin yerleştirilmesinden 5 ile 10 gün sonra kartilaj dokunun geliştiği, 7 ile 14 gün arasında kartilaj dokunun mineralize olduğu ve kemik dokusuyla yer değiştirdiği, 21 gün sonra hematopoetik kemik iliği oluşumunun gözleendiği bildirilmektedir (87,88,89). DKM'nin yerleştirilmesini takiben gelişen hücresel aktiviteyi, embriyojenik kemik oluşumunu ve normal kemik iyileşmesini taklit ettiği ileri sürülmektedir (90).

Urist (1979), DKM'nin izolasyonu ile kemik oluşumunu tetikleyen proteinin kemik morfogenetik proteini (KMP) olduğunu rapor etmiştir (91).

Vücutta eser miktarda bulunan KMP'lerin, osteoblastlar ve osteositler tarafından sentezlendiği, kemikte ve dentinde bulunduğu gösterilmiştir (92).

KMP, peptit büyüme faktörleri içeren transforming büyüme faktörü beta (TGF- β) süperfamilyasının üyesidir. TGF- β süperfamilyasının KMP, büyüme ve differansiyasyon faktörleri (GDF), inhibin/aktivinler, TGF- β ve Müllerman inhibisyon maddeleri gibi 40 adet üyesi bulunmaktadır. KMP'ler, kemik formasyonu için gereken 7 adet disülfid bağ ile bağlanmış dimer içerir. KMP'ler hem iki benzer zincir içeren homodimer olarak hem de iki farklı zincir içeren heterodimer olarak aktiftir (93,94). Günümüzde 15 adet KMP tanımlanmakta ve aminoasit diziliş benzerliklerine göre alt gruplara ayrılmaktadır (88). KMP-2 ve KMP-4 birinci alt grubu, KMP-5 ve KMP-8 ikinci alt grubu, KMP-3 ve GDF-10 ise üçüncü alt grubu oluşturmaktadır (96). Kusumoto ve ark.'ları (1999), KMP-2'nin osteoindüktif özelliğinin diğer proteinlere oranla daha fazla olduğunu bildirmektedir (96).

Endokondral kemikleşme sırasında kondrositlerin, spongios kemik ve perikondriumda kemik oluşumunu KMP aracılığı ile uyarılmaktadır. KMP-2,3,4,5,6,7 ve büyüme farklılaşma faktörü-5'in (BFF) büyüme plağından salınmaktadır (97,98).

KMP-2 hipertrofik kondrositlerden, perikondriumdan ve eklem bölgelerindeki gelişim alanlarından salgılanmaktadır. Perikondriumun epifizi kuşatan bölümleri dışında kalan kısımlarında KMP-3 salınımının olduğu belirtilmektedir. Perikondriyum oluşturulan hücrelerde ve olgun hipertrofik kondrositlere komşu olan alanlarda immunohistokimyasal olarak KMP-4'ün varlığı gösterilmektedir. KMP-5'in perikondriumda, KMP-6'nın ise hipertrofik kondrositlerde ve eklemlerde bulunduğu rapor edilmektedir. KMP-7 proliferatif kondrositlerde ve perikondriumun iç bölümündedir ve hipertrofik kondrositlerden salgılanan temel KMP'lerin KMP-2 ve KMP-6 oldukları savunulmaktadır (98,99).

Travma cerrahi rezeksiyon ya da tümör sonrasında gelişen kemik defektlerinin ve kırıklarının tedavisi, çene cerrahisi ve ortopedide önemini korumaktadır. Kemik iyileşmesinde büyüme faktörlerinin etkisini araştıran birçok çalışma bildirilmektedir. Fibroblast büyüme faktörü-1'in (FBF) pariyetal kemik defektlerinde köprülenmeye yardımcı olduğu ve titanyum ile birlikte kullanıldığında kemik implant integrasyonunu arttırdığı bildirilmektedir. Yoğun olarak kullanılan FBF-2'nin, kallusu arttırdığı kemik oluşumunu hızlandırdığı bildirilmektedir (100,101).

KMP'lerin, kemik ve kırıkta dokularının gelişim ve rejenerasyonunda etkisi olduğu bildirilmektedir. KMP'lerin, farklılaşmamış mezenşimal ve osteoprojenitör hücrelerin çoğalmasını ve osteoblastlara farklılaşmalarını sağladıkları, bununla birlikte osteoblastların alkalen fosfataz salınımını ve mezenşimal hücrelerin kemotaksis ile tip-4 kollajene bağlanmalarını arttırdıkları rapor edilmektedir.

İmmatür hücrelerin bulunduğu kemik iyileşmesi safhasında KMP'lerin gözlemlendiği ve KMP'lerin lokal regülatör olarak buldukları rapor edilmektedir. İyileşme gözlenmeyen defektlerden alınan hücrelerin KMP'ye osteojenik cevap verdiği ve bölgede bulunan KMP'lerin yeterli sayıda olmadığı ileri sürülmektedir (92,102).

2.7 KMP'nin Etkinliği Üzerinde Rol Oynayan Faktörler

KMP'nin kemik oluşumunu etkileyen lokal ve sistemik birçok faktör gösterilmektedir. FBF, prostoglandinler ve TGF- β , KMP'ye sinerjik etki eden lokal faktörler olarak kabul edilmektedir. Sıçan kemik iliği kültür hücrelerinde temel FBF'nün KMP-2 ile sinerjik etki gösterdiği ancak yüksek dozlarda temel FBF'nün inhibitör etkisi bildirilmektedir. KMP etkinliğinde sistemik faktörlerin de rol oynadığı, glukokortikosteroidlerin KMP-2'nin osteoindüktivitesini arttırdığı rapor edilmektedir. Vitamin-D ile KMP-3'ün

insan kemik iliği kültürlerinde sinerjik etki yaptığı ve sıçan kas içi yerleştirilen KMP-2'nin osteoindüktif etkisini arttırdığı savunulmaktadır (96,103,104,105).

KMP'nin klinik kullanımı için çeşitli rekonstrüksiyon teknikleri uygulanmaktadır. Bu tekniklerden bazıları, direkt olarak defekt bölgesine KMP yerleştirilmesi, donör sahada KMP indüksiyonu ile kemik oluşturulması ve defekt bölgesine yerleştirilmesi ya da donör sahaya KMP uygulanması ve aynı zamanda otojen, allojen ve/veya vaskülerize kemik greftlerinin birlikte kullanılmasıdır.

Wozney ve ark.'ları (1988), KMP'lerin klonlanarak (rhKMP) istenilen miktarda elde edilebileceğini savunmaktadır (106). Bessho ve ark.'ları (1999), rekombinant insan kemik morfogenetik protein'leri (rhKMP) ile insan kemik matriksinden saflaştırılarak elde edilen KMP'leri karşılaştırdıkları çalışmalarında, rhKMP'leri saflaştırılarak elde edilen KMP'lere göre daha güvenli kullanılabileceğini rapor etmektedir (107).

Yaşlanma, mezenşimal primitif hücre sayısının azalması veya bu hücrelerin rhKMP-2'ye olan cevaplarında değişikliğin olması nedeniyle rhKMP-2'nin kemik oluşturma kapasitesini negatif etkilediği bildirilmektedir (108).

Rekombinant olarak üretilen KMP in vivo ortamda çözülebilir olduğundan ilgili bölgeye yerleştirildikten kısa süre sonra ortamdaki uzaklaştığı, bununla birlikte KMP'nin yeterli miktarda kemik indüksiyonu yapabilmesi için yavaş salınım yapabilme özelliğine sahip taşıyıcı ile birlikte uygulanması gerektiği bildirilmektedir. KMP taşıyıcısının hücrelerin ve kan damarlarının geçişi için yeterli poroziteye sahip olması, basınç ve gerilim kuvvetlerine karşı mekanik olarak direnç gösterebilmesi, bio-uyumlu

olması, ayrışabilmesi, inorganik olması ve defekte adaptasyon sağlayabilmesi için şekillendirilebilir olması gerektiği belirtilmektedir (109).

KMP'nin etkileri üzerine yapılan in vitro çalışmalar, multipotent hücrelerin kemik indüksiyonunda rol oynadıklarını kanıtlamaktadır. Prenatal/postnatal hayvanlarda veya insan ve hayvan kemik iliği hücrelerinde bulunan multipotent hücrelerin KMP'lere karşı duyarlılık gösterdikleri bununla birlikte yenidoğan sıçan kalvariyal hücreleri ve sıçan osteosarkom hücreleri rhKMP-7 ile tedavi edildiklerinde osteojenik diferansiyasyon gösterdikleri rapor edilmektedir (110,111). Ayrıca fare embriyosundan elde edilen fibroblastik hücre zincirinin rhKMP-2'ye karşı osteoindüktif cevap oluşturduğu bildirilmektedir. Sıçan ve fare kemik iliğinin rhKMP-2, insan kemik iliğinin ise rhKMP-2 ve rhKMP-7 tedavisi sonrası osteoblastik parametrelerde artışın gözlemlendiği rapor edilmektedir (112,113,114,115,116).

Günümüzde, KMP'ler için uygun taşıyıcı olarak veya kemik greft yerine kullanılan kollajen, ekstraselüler matriks protein jeli, inorganik alloplastik, rezorbe olmayan kemik matriksi, fibröz cam membran veya rezorbe olabilen sentetik polimer gibi çeşitli biyosentetik materyaller bulunmaktadır (117,118). Bu taşıyıcıların, farklı hayvan modellerinde, farklı dozlarda ve donör sahalarda uygulanmaları nedeniyle göreceli etkilerinin karşılaştırılmadığı rapor edilmektedir (119). Kemik indüksiyonunun sağlanabilmesi ve KMP'nin biyolojik aktivitesinin devamlılığı için taşıyıcının KMP salgılama hızının etkili olduğu, bununla birlikte kollajen ilk uygulandığında çok miktarda salınım yaptığı ancak sonrasında salınımın dereceli olarak devam ettiği bildirilmektedir. KMP taşıyıcı ile ilgili bölgeye yerleştirildikten sonra KMP salınımı için taşıyıcı materyalin rezorbe olması istenilen bir özelliktir. Ancak taşıyıcı hızlı rezorbe olduğunda, KMP'nin bölgeden uzaklaşabildiği ve yeterli osteoindüksiyon sağlanamadığı da rapor edilmektedir. Kemiğin kollajen komponentinin osteokondüktif olması

nedeniyle kemik greft materyali olarak kollajenin tek başına kullanımının kemik rejenerasyonu için yetersiz olduğu bildirilmektedir (118,120). Kollajen kalsiyum fosfat ile kombine kullanıldığında osteoprogenitor hücrelerin diferansiyasyon etkisiyle kemik hacmini arttırmaktadır (121). KMP-2 taşıyıcısı olarak hiyalüranik asit polimeri ve kollajen spanç karşılaştırıldığında hiyalüranik asit polimerinin kemik oluşumunda daha etkili olduğu rapor edilmektedir (122). KMP'nin taşıyıcısının özelliği yanında kullanım dozu da önemlidir. Çalışmalarda KMP-2'nin mandibular kemik iyileşmesi üzerinde etkili olduğu, yeni kemik oluşumu için ideal dozun KMP-2 için 1µgr ile 10µgr arasında olduğu bildirilmektedir (119).

Higuchi ve ark.'ları (1999), sıçan mandibulasında oluşturulan defekte rhKMP-2 taşıyıcısı olarak polilaktik asit-poliglolik asit kopolimeri/jelatin sponge kullandıkları çalışmada, materyalin 4 hafta sonunda defekte kemik rejenerasyonu oluşturduğunu bildirmektedirler (123).

Arosarena ve Collins (2005), KMP-2 taşıyıcısı olarak hiyalüranik asit polimeri ile kalsiyum hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat içeren kollajeni karşılaştırdıkları çalışmada, her iki taşıyıcının da kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin eşit olduğunu rapor etmektedir (119).

Schliephake ve ark.'ları (2007), 45 wistar sıçanında mandibular defekti rhKMP-2 içeren yavaş salımlı polilaktik asit taşıyıcısı ogmente edildiğinde hacminin korunduğu ve defekt bölgesinde yeni kemik yapımını sağlandığını rapor etmektedir (124).

Son yıllarda kollajen taşıyıcıların, biyouyumluluk, fizyolojik son ürünlere parçalanma, hücreler ve makromoleküllerle uygun etkileşimleri nedeniyle kullanımlarının arttığı bildirilmektedir. (125). Kollajenin, hücreyel infiltrasyonu ve yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin araştırıldığı, bununla birlikte enjekte edilebilen form, doku ve vasküler sealant, toz ve spanç gibi

çeşitli formları kullanıldığı rapor edilmektedir (126). Kollajen spanç, iyi bir hemostatik ajan ve yara kapatılmasında güvenli materyal olarak bildirilmekte, ayrıca doku mühendisliği alanında da araştırılmaktadır (127,128).

Kollajen spanç üretiminin, saflaştırılmış kollajen materyalinin, fiber yapının absorpsiyonu ve ayrışması için gerekli olan uygun PH'da su bazlı solüsyon ve süspansiyon içerisine yerleştirilerek sağlandığı belirtilmektedir (126). Homojen poroz kollajen yapının oluşturulması için dondurma-kurutmanın en etkili yöntem olduğu rapor edilmektedir (129).

RhKMP'nin farklı materyallerle kombinasyonlarının başarısının küçük hayvan deney modelleri kullanılan çalışmalarda anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmektedir. Büyük hayvan türlerinde iyileşme hızının ve kapasitesinin azaldığı, bununla birlikte rhKMP-2'nin farklı materyallerle kombinasyonunun, kırık iyileşmesinde veya segmental defektlerde kullanıldığında başarı oranının düştüğü rapor edilmektedir. Ancak birçok çalışmada rhKMP-2'nin kollajen spanç ile kombinasyonunun kritik boyutta defektlerin onarılması, kırık iyileşmesinin hızlandırılması, kraniyal defektlerin onarılması ve spinal kordda iyileşmenin desteklenmesi gibi farklı alanlarda uygulandığı belirtilmektedir (125).

2.8 RhKMP-2'nin Diş Hekimliği'nde Kullanımı

Maksillofasiyal defektlerin onarımı, çene rekonstrüksiyonu ve dental işlemlerde yeni kemik indüksiyonunu sağlamak için rhKMP-2/kollajen taşıyıcısının kullanımının önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Boyne (1996), maymun mandibulasında oluşturulan segmental defektin rhKMP-2/kollajen ile tedavi ettiği çalışmasında, tüm hayvanların kritik boyuttaki defektlerinde rejenerasyon gözlendiğini bildirmektedir (130).

Howell ve ark.'larının (1997), rhKMP-2 içeren kollajen spancın dış çekimi sonrasında alveoler kemiğe etkisini inceledikleri çalışmasında, rhKMP-2 içeren kollajen spancın lokal ve sistemik olarak yan etki oluşturmadığı, iyi tolere edilebildiği ve dış çekimi sonrasında alveoler kemiğin rezorbsiyonunu engellediği rapor edilmektedir (131).

Cochran ve ark.'ları (2000), dış çekimi sonrası, alveoler kret yüksekliğinin korunması için rhKMP-2/kollajen kombinasyonunun uygulandığı çalışmada, 3 yıllık takip sonucu tüm çekim soketlerinde yeni kemik oluşumu gözleendiği ve bu bölgelere dental implant uygulandığında komplikasyon meydana gelmediğini rapor etmektedir (132).

Matin ve ark.'ları (2001), sıçanlarda rhKMP-2 içeren polilaktik asit/poliglikolik asit ile kaplı jelatin spanç taşıyıcı kullandıkları çalışmasında çekim soketine uygulanan rhKMP-2 içeren taşıyıcının uygulanan çekim soketinde 5 gün sonra yeni kemik gözleendiği ve histomorfometrik değerlendirmede kontrol grubuna göre daha fazla kemik rejenerasyonunun geliştiğini bildirmektedir (133).

Brick ve ark.'ları (2008), Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda oluşturdukları akut enfeksiyonlu segmental femur defekte, rhKMP-2/kollajen implantı yerleştirdikleri çalışmada, enfeksiyon gelişen defektlerde rhKMP-2 ile yeni kemik oluşumu gözleendiği ve enfeksiyonun etkilerini engellediği rapor edilmektedir (134).

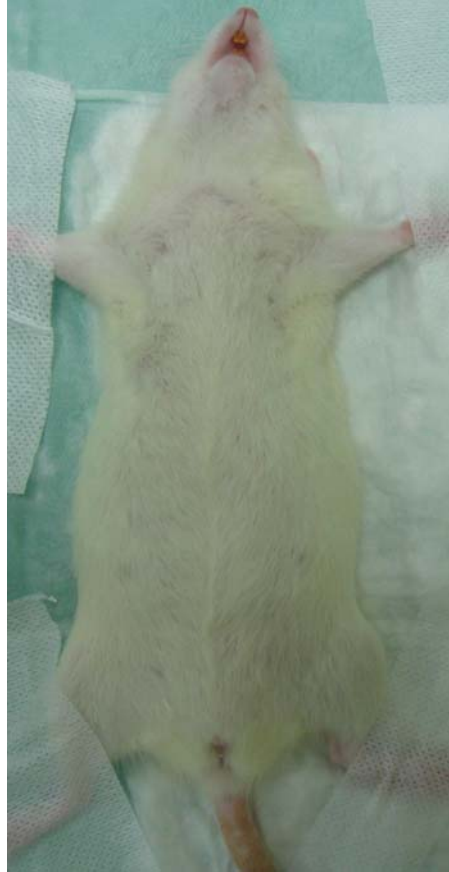
Wang ve ark.'ları (2009), rhKMP-2 içeren taşıyıcıların osteonekrotik kemikte oluşturduğu rejenerasyonu inceledikleri çalışmalarında, kontrollü salınım gerçekleştiren rhKMP-2 içeren taşıyıcıların nekrotik kemiği örten kallus oluşumunu indüklediğini ve ölü kemik içerisinde neovaskülarizasyon oluşturduğunu rapor etmektedir (135).

Günümüzde bifosfonat grubu ilaçlar, osteoporoz, Paget hastalığı, multiple myeloma, metabolik kemik hastalıkları, meme, akciğer, prostat kanserleri gibi tümörlerin kemik metastazlarının bulunduğu vakalarda kullanılmaktadır (35). Bifosfonat kullanan hastalarda görülen osteonekroz tedavisinde, kemik iyileşmesini hızlandıran ve komplikasyonların gelişmesini engelleyen mekanizmaların etkinliği bilinmemektedir. Bu çalışmada, potansiyel olarak bifosfonat kullanımı gerektiren sistemik rahatsızlıklara sahip olan hastaların yaşı ve cinsiyeti göz önünde bulundurularak, ovarektomi sonrası ZOL uygulanan ovarektomili sıçanlarda rhKMP-2'nin diş çekimi bölgesindeki yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin deneysel olarak incelenmesi amaçlanmaktadır.

4. MATERYAL ve METOD

3.1 Materyal

Çalışma Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde 42 adet 12 haftalık, ortalama 225 gram ağırlığında Spraque-Dawley cinsi dişi sıçan üzerinde yürütüldü. Tüm sıçanlar, 21 C° sıcaklıkta %40 ile %60 nem oranında, sürekli ılık ve temiz hava olan, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklusda üçerli olarak metal kafeslerde barındırıldı. Sıçanların beslenmesi; sürekli ve sınırsız su olacak şekilde ve herhangi bir gıda kısıtlaması yapılmadan uygulandı.

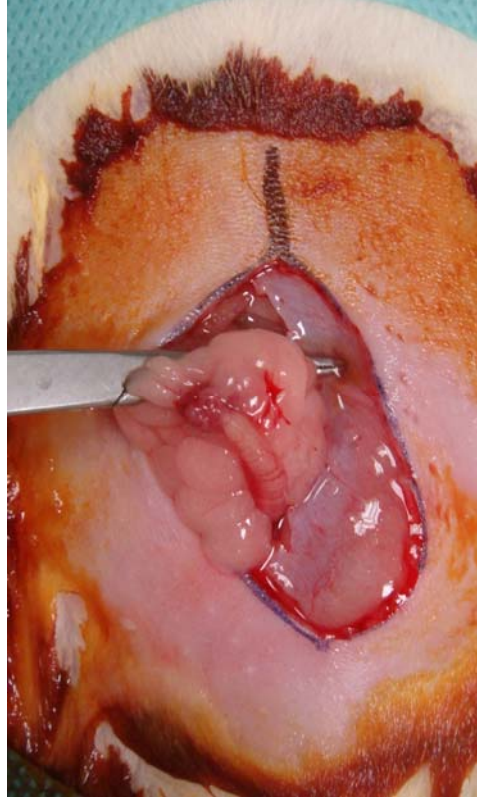


Resim 3.1. Ovarektomi öncesi sedasyon uygulanan Spraque-Dawley sıçanın sabitlenmesi

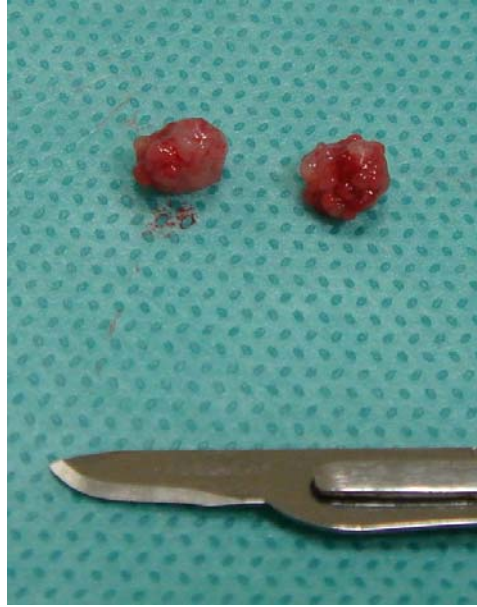
Çalışmanın her aşamasında tüm sıçanlara intraperitoneal 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar®, 50 mg/ml, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg xylazin (Rompun®, 23,32 mg/ml, Bayer, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu ile anestezi yapıldı. Anestezi sağlanan hayvanların karın bölgesi tıraşlandıktan sonra povidon iyodin solüsyonu ve steril cerrahi örtü ile cerrahi bölgede antisepsi sağlandı. Ovaryektomi yapılan sıçanların karın orta hattı üzerinde 2 cm'lik laparotomi insizyonu ile karın boşluğu açıldı (Resim 3.2.). Ovaryumlara ulaşıldıktan sonra mezovaryum ve tuba uterina ligatüre edildi (Resim 3.3.). Over dokuları çift taraflı olarak eksize edildi (Resim 3.4.). Kanama kontrolü yapıldıktan sonra karın duvarı, cilt altı ve cilt dokuları katmanlar halinde 5-0 Vicryl® ile dikilerek yara primer olarak kapatıldı. Antiseptik ve antibiyotikli yara pomadı uygulanarak operasyon bitirildi (Resim 3.5.).



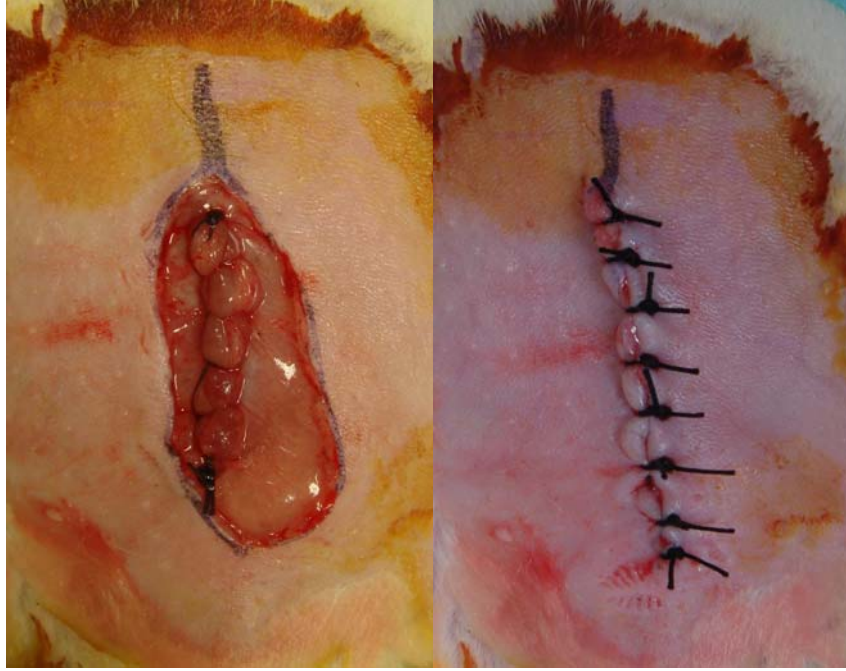
Resim 3.2. Steril operasyon sahasının hazırlanması



Resim 3.3. Ovaryumların diseksiyonu



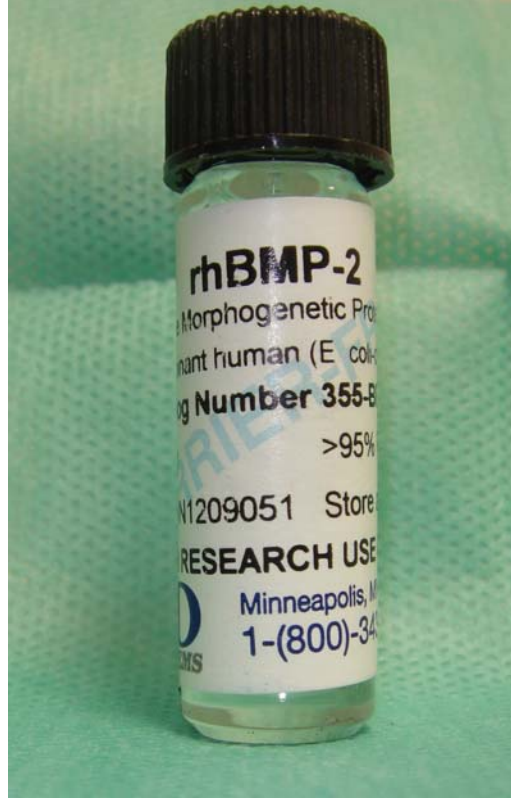
Resim 3.4. Eksize edilen ovarler



Resim 3.5. Cilt ve cilt altı dokuların suture edilmesi

Hayvanlarda osteopeninin gelişmesi için ovarektomi işleminden sonra 4 hafta beklenildi (37). Ovarektomiye bağlı olarak vücut ağırlıklarının artmaması için normal miktarın %50'si verilerek yemeklerinde kısıtlama yapıldı. Tüm sıçanların ağırlıkları, ovarektomi, ilk enjeksiyon, diş çekimi ve sakrifiye edilmeden önce olmak üzere 4 zaman aralığında ölçülerek kaydedildi.

Diş çekim soketlerine yerleştirilmek üzere, *eshcheria coli*'den elde edilen rhKMP-2'nin (R&D® Systems, Inc., Minneapolis, Minn., USA) kullanımı üretici firmanın hazırlanma şekline göre yapıldı (Resim 3.6.). Liyofilize olarak 10µg rhKMP-2 ihtiva eden şişelere, içerisinde %0,1 oranında sığır albumini bulunan 1 ml fosfat buffer saline solüsyonu eklenerek mikrolitresinde 0,01 µg rhKMP-2 konsantrasyonu elde edildi. Steril olarak 5x5x5 mm boyutlarında taşıyıcı olarak hazırlanan kollajen spanç üzerine steril uçlar kullanılarak özel pipet aracılığıyla 200 µl solüsyon eklendi.



Resim 3.6. Rekombinant İnsan Kemik Morfogenetik Proteini-2 (RhKMP-2)

Dört hafta sonunda 42 deney hayvanı üç gruba ayrıldı. Kontrol grubunda 14 adet sıçana 2 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg zolendronik asit (Zometa®, IV 4 mg Zolendronik Asit, Novartis, NJ, USA) ve her gün 1mg/kg deksamethazon (Dekort®, 8 mg Deksamethazon, Deva, İstanbul, Türkiye) uygulandı, ilk yapılan dozdan 15 gün sonra 7 sıçanın sağ maksiller molar dişi, diğer 7'sinin ise sağ mandibular molar dişi çekildi. İkinci gruptaki (A grubu) 14 adet sıçana 2 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg zolendronik asit (Zometa®, IV 4 mg Zolendronik Asit, Novartis, NJ, USA) ve her gün 1mg/kg deksamethazon (Dekort®, 8 mg Deksamethazon, Deva, İstanbul, Türkiye) uygulandı, ilk yapılan dozdan 15 gün sonra 7 sıçanın sağ maksiller molar dişi, diğer 7'sinin ise sağ mandibular molar dişi çekildi ve çekim bölgesine rhKMP-2 emdirilmiş spanç tampon yerleştirildi. Üçüncü gruptaki (B grubu) 14 adet sıçana 3 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg zolendronik asit (Zometa®, IV

4 mg Zolendronik Asit, Novartis, NJ, USA) ve her gün 1mg/kg deksamethazon (Dekort®, 8 mg Deksamethazon, Deva, İstanbul, Türkiye) uygulandı, ilk yapılan dozdan 21 gün sonra 7 sıçanın sağ maksiller molar dişi, diğer 7'sinin ise sağ mandibular molar dişi çekildi ve çekim bölgesine rhKMP-2 emdirilmiş spanç tampon yerleştirildi. Çekim soketleri 5-0 Vicryl® kullanılarak primer olarak kapatıldı (Resim 3.7., 3.8.). Tüm deney hayvanları diş çekimlerinden 4 hafta sonra sakrifiye edildi. Her bir sıçanın çekilen diş bölgesindeki çenesi diseke edilip, alınan doku örnekleri kemik yapıdaki değişikliklerin histolojik olarak değerlendirilmesi amacıyla Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Patoloji Labotatuvarı'na gönderildi.

Tüm örnekler histolojik analiz için 24 saat %10'luk formalinde bekletildi daha sonra %5'lik formik asitte 72 saat bekletilerek dekalsifiye edildi ve 58-65 C derece sıcaklıktaki parafin içine gömülülerek 2 saat bekletildi ve bloklar hazırlandı. Örnekler parafinden uzaklaştırıldıktan sonra hematoksilin ve eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda aynı patolog tarafından kemik dokusundaki değişiklikler ve iyileşmeye dair bulgular incelendi. Bu bulgular inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığına göre değerlendirildi.

Histolojik kesitlerde izlenen inflamasyonun varlığı (+), şiddetli oluşu ise (++) olarak, yeni kemik oluşumu (+) iken, ileri düzeyde yeni kemik oluşumu (++) olarak değerlendirildi. Sökestr varlığı ise var ya da yok olarak kaydedildi.

3.2. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulguların, istatistiksel değerlendirme analizleri için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığın olduğu grubun belirlenmesinde Tukey HDS testi kullanıldı. Grup içi ağırlık değişimlerinin değerlendirilmesinde tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi ve anlamlılığa neden olan dönemin tespitinde Post Hoc Bonferrini testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare ve Fisher's Exact Ki-Kare testleri kullanıldı. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Tüm gruplarda sıçanların her bir işlem zamanlarındaki ağırlıklarının ortalaması tablo 4.1'de gösterilmektedir. Kontrol grubundaki sıçanların ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim izlendi ($p < 0.01$). Sıçanların ovariectomi sonrası ağırlıklarına göre birinci enjeksiyonda ve sakrifiye dönemindeki ağırlıklarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlı iken ($p = 0.001$; $p < 0.01$); ovariectomi sonrasındaki ağırlıklarına göre diş çekimi zamanındaki ağırlıklarında anlamlı bir değişim bulunmadı ($p = 1.000$; $p > 0.05$). Sıçanların birinci enjeksiyondan diş çekimi zamanına kadar geçen süredeki ağırlıklarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlı iken ($p = 0.001$; $p < 0.01$); birinci enjeksiyon ile sakrifiye edilme dönemindeki ağırlıkları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p = 0.589$; $p > 0.05$). Sıçanların diş çekiminden sakrifiye edilme zamanına kadar geçen sürede ağırlıklarında görülen artışlar ileri düzeyde anlamlı bulundu ($p = 0.001$; $p < 0.01$). (Şekil 4.1)

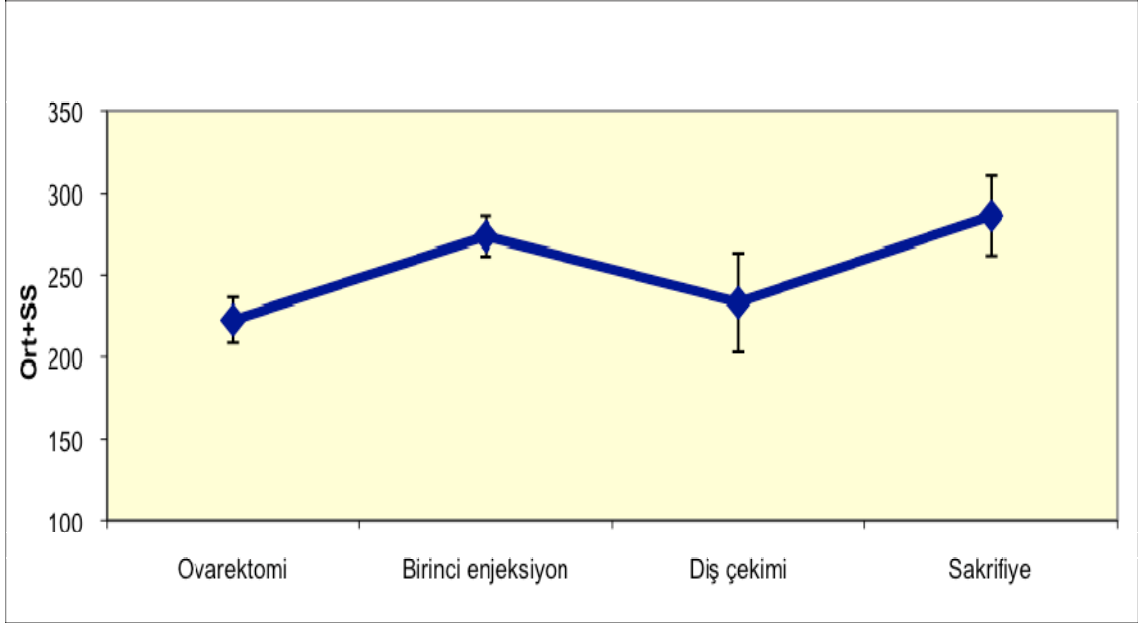
Tablo 4.1: Tüm gruplarda sıçanların her bir işlem zamanlarındaki ağırlıklarının ortalaması

İşlem zamanlarındaki ağırlık (gr)	Kontrol Ort±SS	A Grubu Ort±SS	B Grubu Ort±SS
Ovarektomi	222,58±13,86	215,30±21,10	184,01±17,99
Birinci enjeksiyon	273,76±12,40	267,23±24,21	236,19±18,72
Diş çekimi	233,25±30,23	235,11±24,78	174,86±19,69
Sakrifiye	286,22±24,35	274,43±28,97	223,04±27,43
⁺p	0,001**	0,001**	0,001**
⁺⁺Post-Hoc	1<2,4**	1<2,3,4**	1<2,4**
Değerlendirme	3<2,4**	3<2,4**	3<1,2,4**

⁺Tekrarlayan Ölçümlerde Varyans Analizi

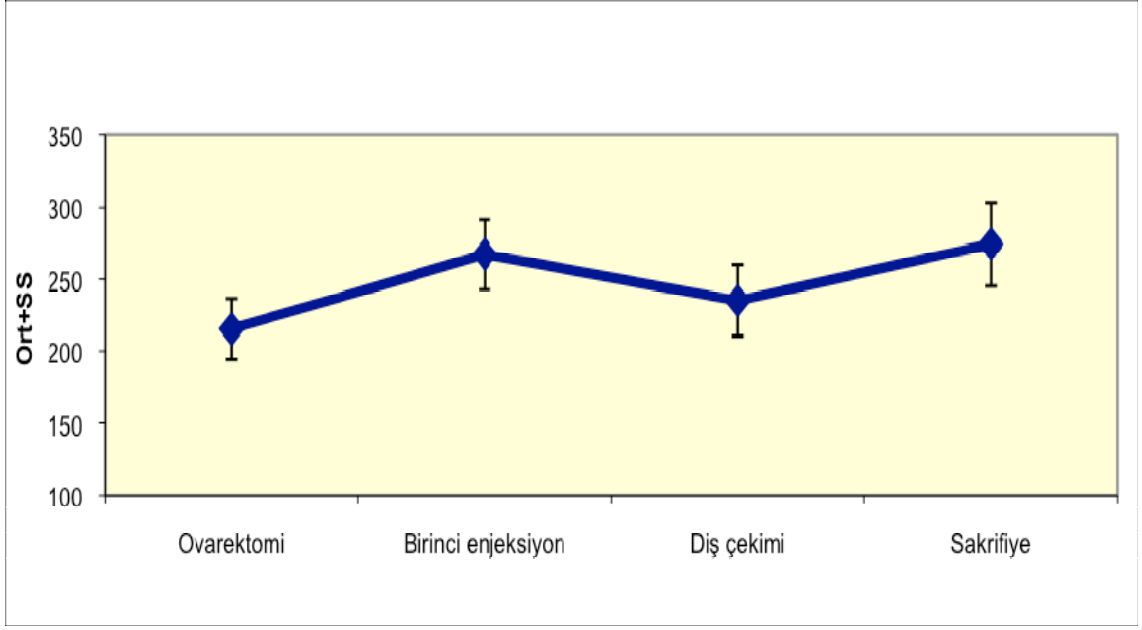
⁺⁺ Post-Hoc Bonferroni Test

** p<0.01



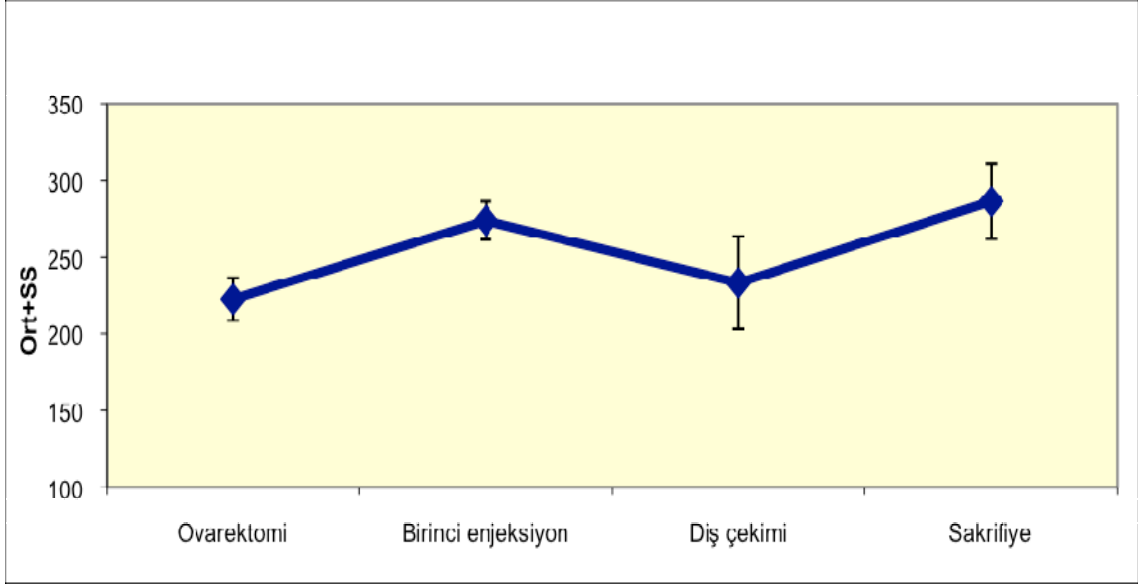
Şekil 4.1: Kontrol grubundaki ağırlık değişimi grafiği

A grubundaki sıçanların tüm işlem zamanı aralıklarındaki ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim izlendi ($p < 0.01$). Sıçanların ovarektomi sonrası ile birinci enjeksiyon tarihindeki, diş çekimi ve sakrifiye dönemindeki ağırlıklarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.001$; $p < 0.01$). Sıçanların birinci enjeksiyon ile, diş çekimi sırasındaki ağırlıklarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlı iken ($p = 0.001$; $p < 0.01$); birinci enjeksiyon ile sakrifiye dönemindeki ağırlıkları arasında anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p = 1.000$; $p > 0.05$). Sıçanların diş çekimi ile sakrifiye dönemi arasında geçen zamandaki ağırlıklarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.001$; $p < 0.01$). (Şekil 4.2)



Şekil 4.2: A grubundaki ağırlık değişimi grafiği

B grubundaki sıçanların tüm işlem zamanı aralıklarındaki ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim izlendi ($p < 0.01$). Sıçanların ovarektomi ile birinci enjeksiyon ve sakrifiye edilme dönemindeki ağırlıklarında görülen artışlar ve ($p = 0.001$; $p < 0.01$); ovarektomi ile dış çekimi ($p = 0.001$; $p < 0.01$). birinci enjeksiyon ile dış çekimi zamanındaki ağırlıklarında görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.001$; $p < 0.01$). Birinci enjeksiyon ile sakrifiye dönemindeki ağırlıkları arasında anlamlı bir farklılık izlenmezken ($p = 0.062$; $p > 0.05$), dış çekimi ile sakrifiye dönemindeki ağırlıklarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.001$; $p < 0.01$). (Şekil 4.3)



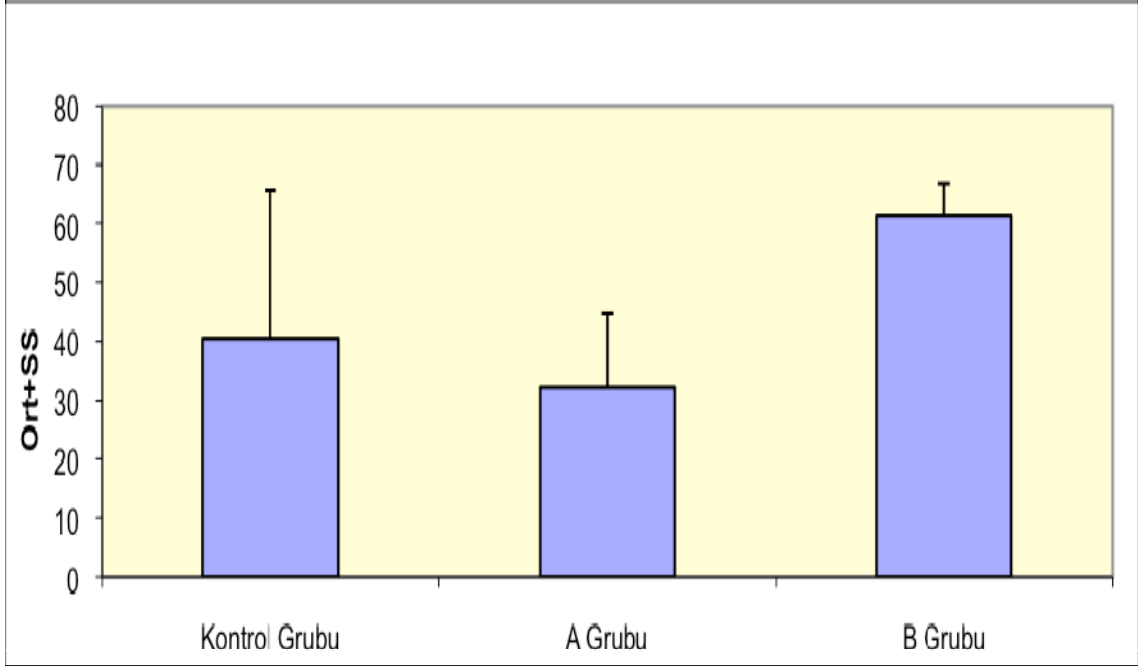
Şekil 4.3: B grubundaki ağırlık değişimi grafiği

Tüm gruplarda sıçanların her bir işlem öncesinde ölçülen ağırlık değişimlerinin ortalaması tablo 4.2’de gösterilmektedir. Sıçanların ovarektomi ile birinci enjeksiyon zamanına kadar geçen sürede ağırlıklarında görülen artış düzeylerinin gruplar arasındaki değişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Sıçanların birinci enjeksiyon ile diş çekimine kadar geçen sürede ağırlıklarında görülen azalma düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.01$). Kontrol ve A grubundaki sıçanların birinci enjeksiyon ile diş çekimi arasındaki zamanda ağırlıklarında görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.379$; $p>0.05$). B grubundaki sıçanların ağırlıklarında görülen azalma, kontrol ($p=0.005$; $p<0.01$) ve A grubundan ($p=0.001$; $p<0.01$) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. (Şekil 4.4)

Tablo 4.2: Tüm gruplarda sıçanların her bir işlem öncesinde ölçülen ağırlık değişimlerinin ortalaması

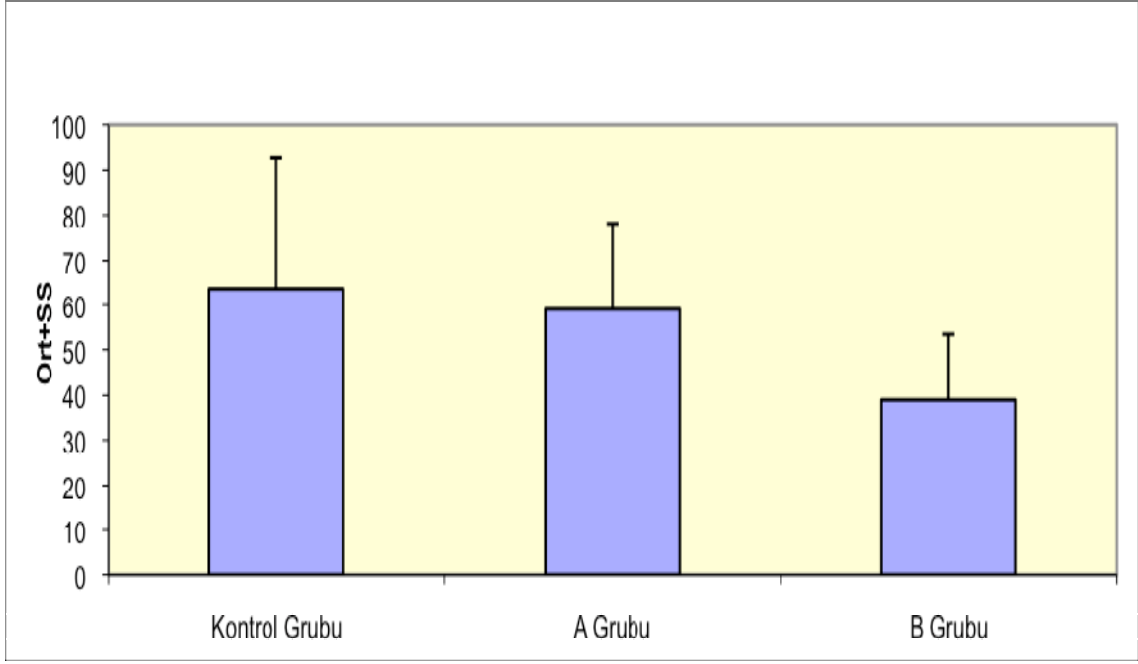
	Kontrol	A Grubu	B Grubu	<i>p</i>
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
Ovarektomi ile ilk enjeksiyon dönemi	51,18±9,08	51,93±12,81	52,18±10,93	0,970
Birinci enjeksiyon ile dış çekimi dönemi	40,51±25,03	32,12±12,63	61,33±5,41	0,001**
Dış çekimi ile sakrifiye edilme dönemi	52,97±22,95	39,32±17,50	48,18±14,01	0,155
Ovarektomi ile sakrifiye edilme dönemi	63,64±28,97	59,12±19,07	39,03±14,69	0,011*
<i>Oneway ANOVA</i>		<i>* p<0.05</i>	<i>** p<0.01</i>	



Şekil 4.4: Birinci enjeksiyon ile diş çekimine kadar geçen zamandaki değişimlerin gruplara göre dağılımı

Tüm sıçanların diş çekimi ile sakrifiye edilme dönemine kadar geçen sürede ağırlıklarında görülen artışta gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Tüm sıçanların ovarektomi işleminden sakrifiye edilmesine kadar geçen sürede ağırlıklarında görülen artışta gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.05$). Kontrol ve A grubundaki sıçanların ovarektomi işleminden sakrifiye dönemine kadar geçen sürede ağırlıklarında görülen artış düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p=0.847$; $p>0.05$), B grubundaki sıçanların ağırlıklarında görülen artış, kontrol ($p=0.013$; $p<0.05$) ve A grubundaki ($p=0.049$; $p<0.05$) sıçanların ağırlıklarından anlamlı bir şekilde düşük bulundu. Kontrol grubunda ortalama artış $63,64\pm 28,97$ gr iken, A grubunda $59,12\pm 19,07$ gr, B grubunda ise $39,03\pm 14,69$ gr olarak kaydedildi ($p=0,011$). (Şekil 4.5)

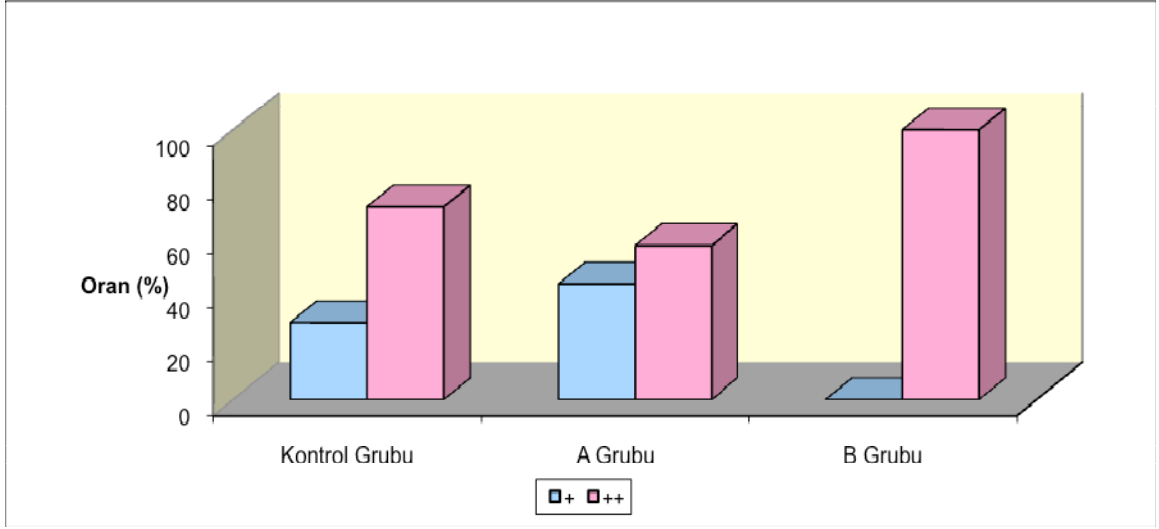


Şekil 4.5: Tüm grupların ovarektomi ile sakrifiye edilme dönemine kadar geçen zamandaki ortalama ağırlıkları

Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin histolojik değerlendirme bulguları tablo 4.3'te gösterilmektedir. Gruplarda inflamasyon görülme düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p < 0.05$). Kontrol grubunun inflamasyon düzeyi ile A ve B grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p = 0.430$, $p = 0.098$; $p > 0.05$). B grubunun inflamasyon şiddeti, A grubundan anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p = 0.016$; $p < 0.05$). B grubunda tüm sıçanlarda (%100) şiddetli inflamasyon izlenirken, aynı şiddetteki inflamasyon kontrol grubunda 10 sıçanda (%71,4), A grubunda ise 8 sıçanda (%57,1) izlendi ($p = 0,025$). (Şekil 4.6)

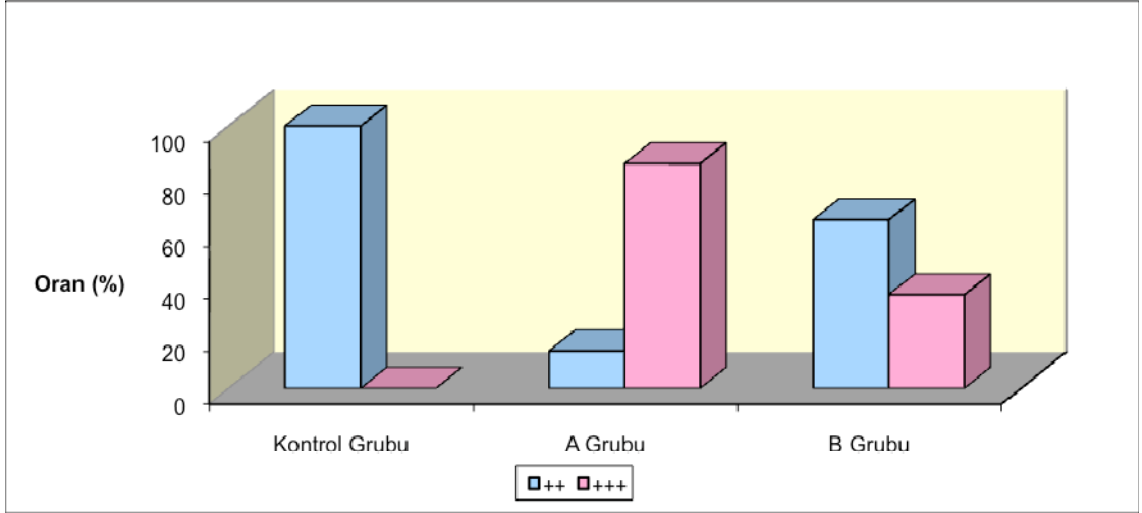
Tablo 4.3: Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin histolojik değerlendirme bulguları

	Kontrol	A Grubu	B Grubu	<i>p</i>
	n (%)	n (%)	n (%)	
İnflamasyon				
+	4 (%28,6)	6 (%42,9)	0 (%0)	0,025*
++	10 (%71,4)	8 (%57,1)	14 (%100)	
Yeni kemik oluşumu				
++	14 (%100)	2 (%14,3)	9 (%64,3)	0,001**
+++	0 (%0)	12 (%85,7)	5 (%35,7)	
Sökestr				
Var	1 (%7,1)	2 (%14,3)	8 (%57,1)	0,005**
Yok	13 (%92,9)	12 (%85,7)	6 (%42,9)	
<i>Ki-kare test</i>	<i>* p<0.05</i>	<i>** p<0.01</i>		



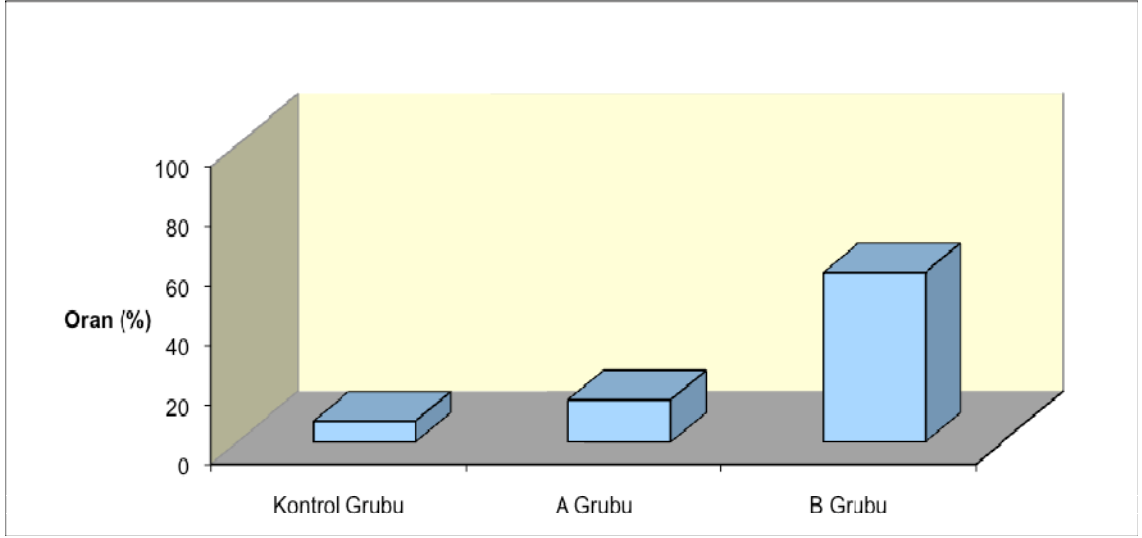
Şekil 4.6: Tüm gruplardaki sıçanların diş çekim bölgesindeki inflamasyon düzeylerinin dağılımı

Tüm gruplardaki sıçanlardan alınan çekim bölgesindeki yeni kemik oluşum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p < 0.01$). A grubunun yeni kemik oluşum düzeyi, B ($p = 0.018$) ve kontrol gruplarından ($p = 0.001$) anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p < 0.05$; $p < 0.01$). A grubunda 12 sıçanda (%85,7) ileri düzeyde yeni kemik oluşumu izlenirken, aynı düzeyde yeni kemik oluşumu B grubunda 5 sıçanda (%35,7) izlendi ($p = 0,001$). B grubunun yeni kemik oluşum düzeyi, kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p = 0.041$; $p < 0.05$). (Şekil 4.7)



Şekil 4.7: Tüm gruplardaki sıçanların diş çekim bölgesindeki yeni kemik oluşum düzeylerinin dağılımı

Tüm gruplardaki sıçanların diş çekim bölgesindeki sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p < 0.01$). B grubunda 8 sıçanda (%57,1) sökestr izlenirken, kontrol grubunda 1 sıçanda (%7,1), A grubunda ise 2 sıçanda (%14,3) sökestr izlendi ($p = 0,005$). B grubunda sökestr görülme oranı, A ($p = 0.046$) ve kontrol gruplarından ($p = 0.013$) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p < 0.05$). A ve kontrol gruplarında sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p = 1.000$; $p > 0.05$). (Şekil 4.8)



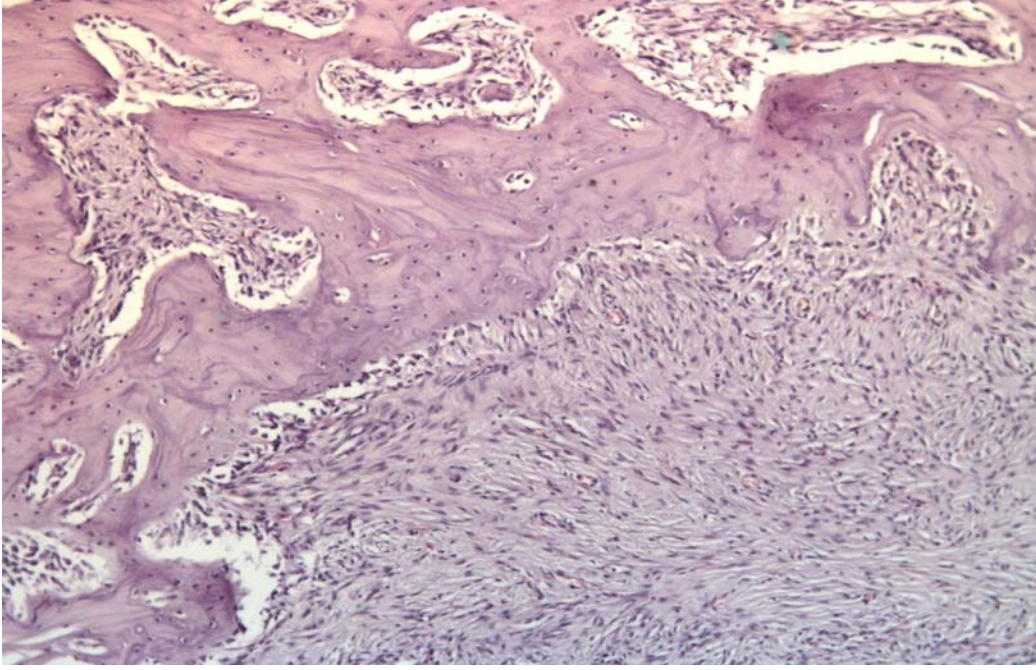
Şekil 4.8: Tüm gruplardaki sıçanların diş çekim bölgesindeki sökestr varlığının dağılımı

Kontrol grubunda, diş çekimi yapılan maksilla ve mandibulada inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı tablo 4.4'te gösterilmektedir. Maksilla ve mandibulada inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Kontrol grubunda tüm sıçanlarda (%100) ileri düzeyde yeni kemik oluşumu izlendi ($p=1,000$) (Resim 4.1, 4.2). Kontrol grubunda sadece 1 sıçanda (%14,3) mandibulada sökestr izlendi.

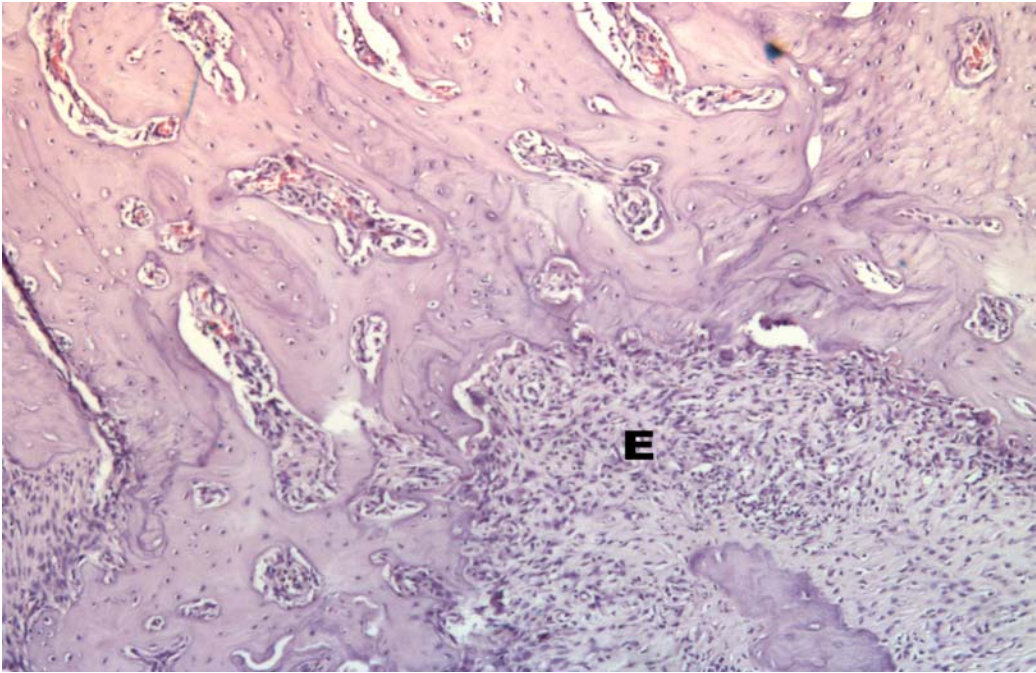
Tablo 4.4: Kontrol grubunda, maksilla ve mandibulada inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı

Kontrol	Maksilla		Mandibula	<i>p</i>
		n (%)	n (%)	
İnflamasyon				
	+	4 (%57,1)	0 (%0)	0,070
	++	3 (%42,9)	7 (%100)	
Yeni kemik oluşumu				
	++	0 (%0)	0 (%0)	1,000
	+++	7 (%100)	7 (%100)	
Sökestr				
	Var	0 (%0)	1 (%14,3)	1,000
	Yok	7 (%100)	6 (%85,7)	

Fisher's Exact test



Resim 4.1: Kontrol grubunda maksillada, çekim bölgesini doldurmakta olan yeni kemik yapımı, x100



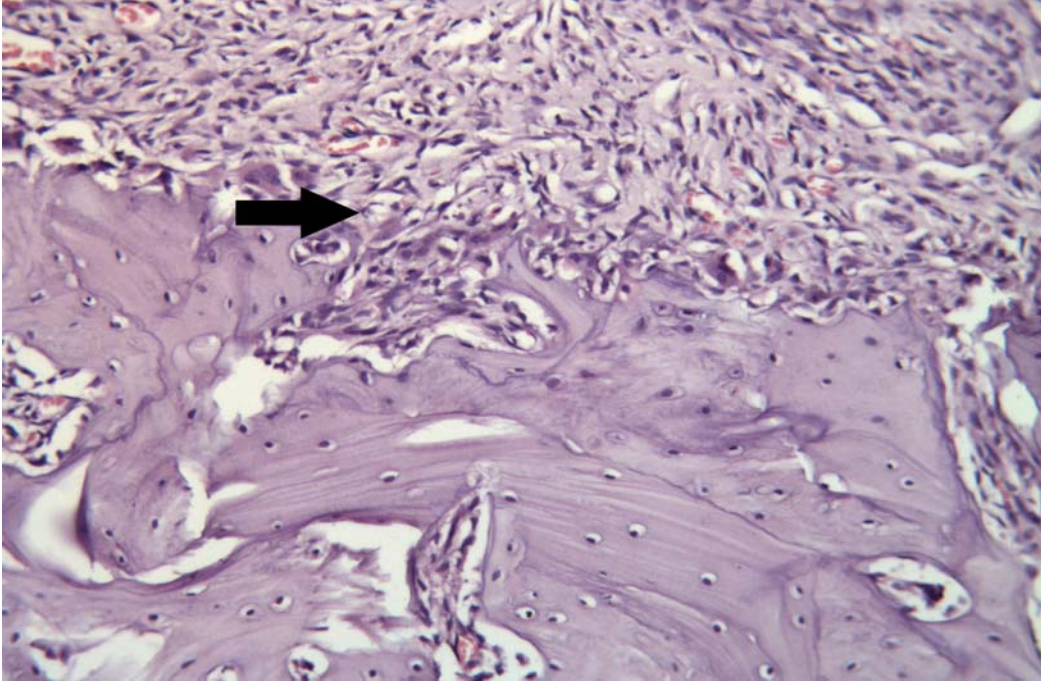
Resim 4.2: Kontrol grubunda mandibulada, diş çekim bölgesini (E) doldurmakta olan yeni kemik yapımı, x100

A grubunda, diş çekimi yapılan maksilla ve mandibulada inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı tablo 4.5'te gösterilmektedir. Maksilla ve mandibulada izlenen inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). A grubunda, ileri düzeyde yeni kemik oluşumu tüm sıçanların maksillasında (%100) izlenirken (Resim 4.3), mandibulada sadece 2 sıçanda (%28,6) yeni kemik oluşumu izlendi ($p=0,462$) (Resim 4.4). Sökestr varlığı her iki çenedeki birer sıçanın çekim bölgesinde izlendi ($p=1,000$; $p>0.05$).

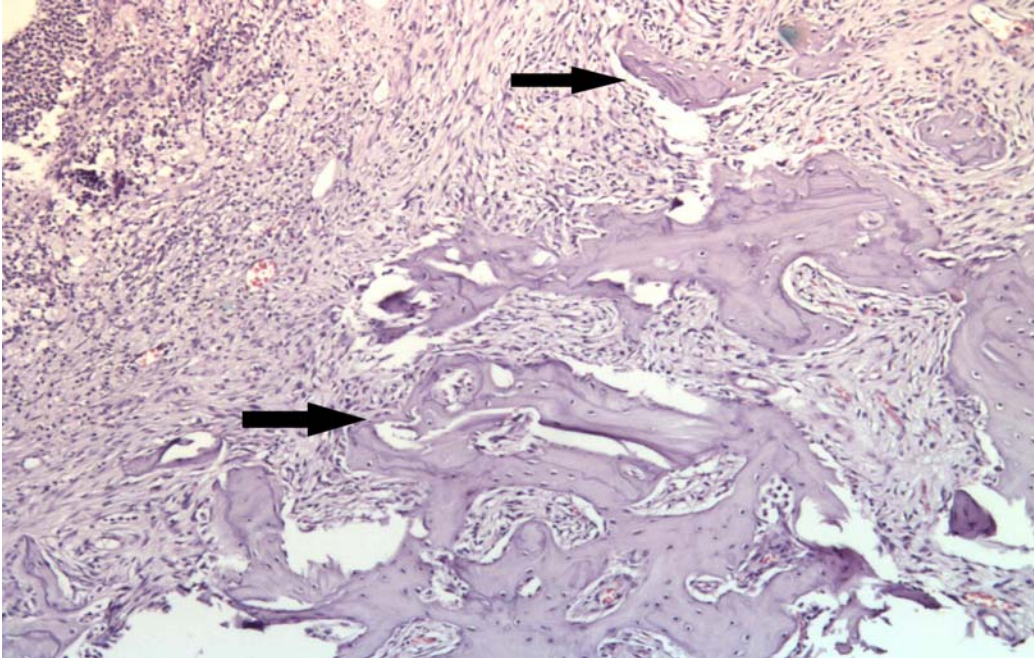
Tablo 4.5: A grubunda, diş çekimi yapılan maksilla ve mandibulada inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı

A Grubu	Maksilla	Mandibula	<i>p</i>
	n (%)	n (%)	
İnflamasyon			
	+ 3 (%42,9)	3 (%42,9)	1,000
	++ 4 (%57,1)	4 (%57,1)	
Yeni kemik oluşumu			
	++ 0 (%0)	2 (%28,6)	0,462
	+++ 7 (%100)	5 (%71,4)	
Sökestr			
	Var 1 (%14,3)	1 (%14,3)	1,000
	Yok 6 (%85,7)	6 (%85,7)	

Fisher's Exact test



Resim 4.3: A grubunda maksillada, çekim bölgesinde yeni kemik yapımında güçlü osteoblastik aktivite, x200



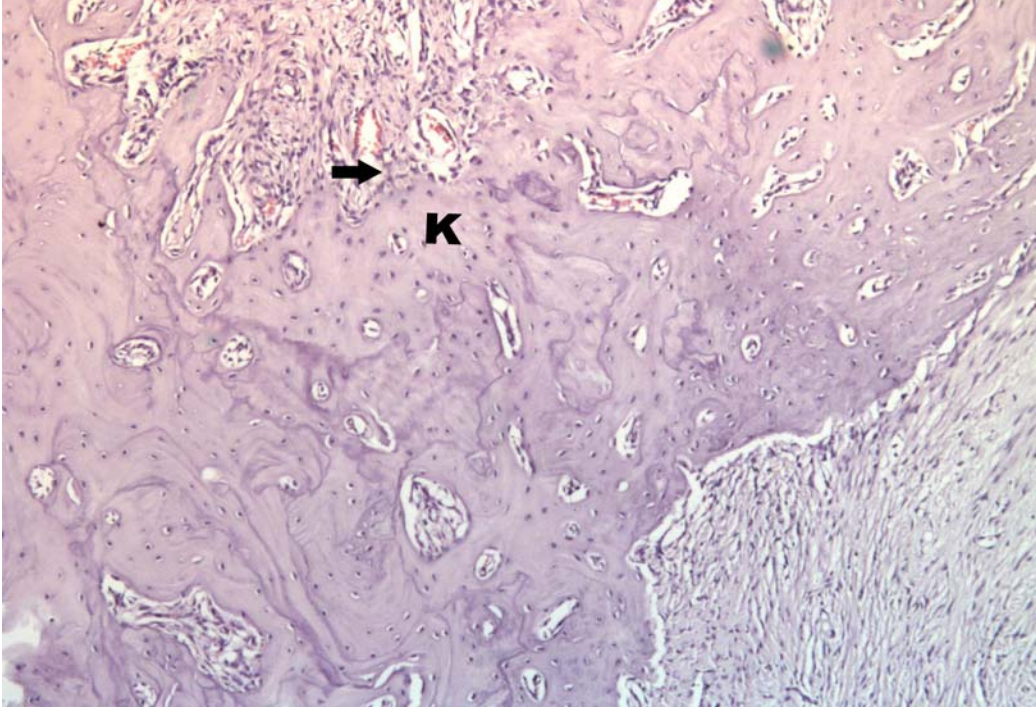
Resim 4.4: A grubunda mandibulada, çekim bölgesinde yeni kemik yapımı (ok), x100

B grubunda, diş çekimi yapılan maksilla ve mandibuladaki inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı tablo 4.6'da gösterilmektedir. Maksilla ve mandibulada inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). B grubunda, ileri düzeyde yeni kemik oluşumu maksillada 3 sığanda (%42,9) izlenirken (Resim 4.5), mandibulada 2 sığanda (%28,6) izlendi ($p=1,000$). Maksillada 3 sığanda (%42,9) (Resim 4.6, 4.7), mandibulada ise 5 sığanda (%71,4) sökestr varlığı belirlendi ($p=0,592$; $p>0.05$) (Resim 4.8, 4.9).

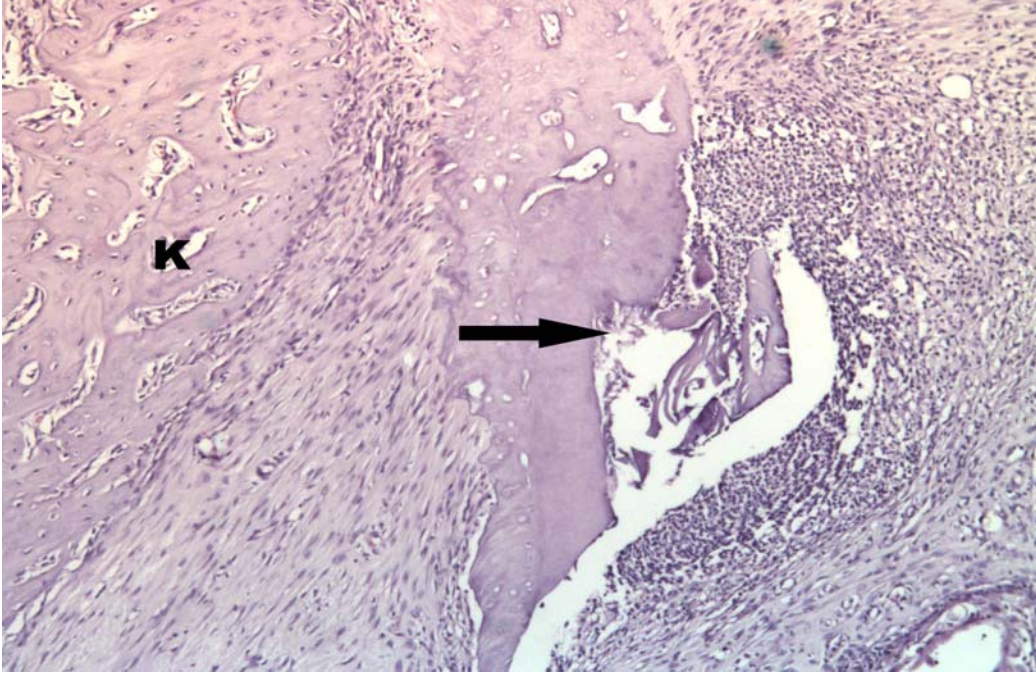
Tablo 4.6: B grubunda, diş çekimi yapılan maksilla ve mandibuladaki inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı

B Grubu	Maksilla		Mandibula	<i>p</i>
	n (%)	n (%)	n (%)	
İnflamasyon				
	+	0 (%0)	0 (%0)	1,000
	++	7 (%100)	7 (%100)	
Yeni kemik oluşumu				
	++	4 (%57,1)	5 (%71,4)	1,000
	+++	3 (%42,9)	2 (%28,6)	
Sökestr				
	Var	3 (%42,9)	5 (%71,4)	0,592
	Yok	4 (%57,1)	2 (%28,6)	

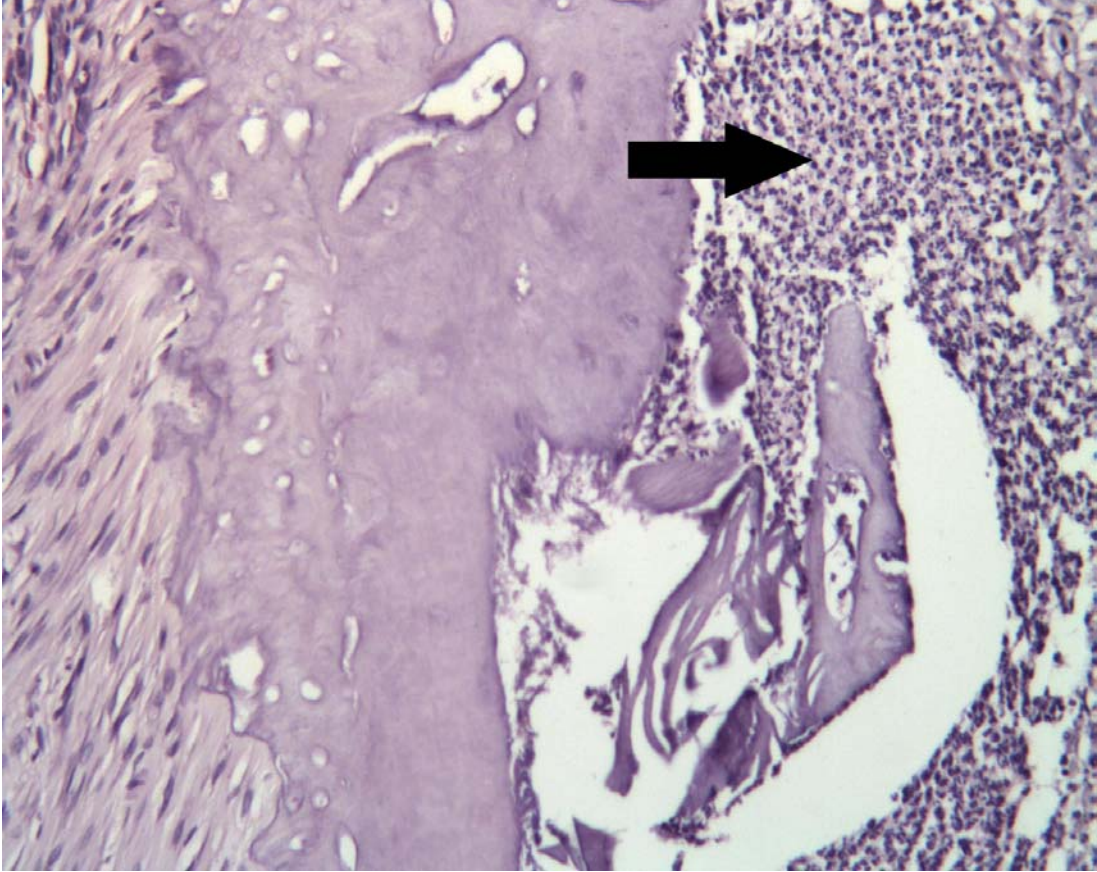
Fisher's Exact test



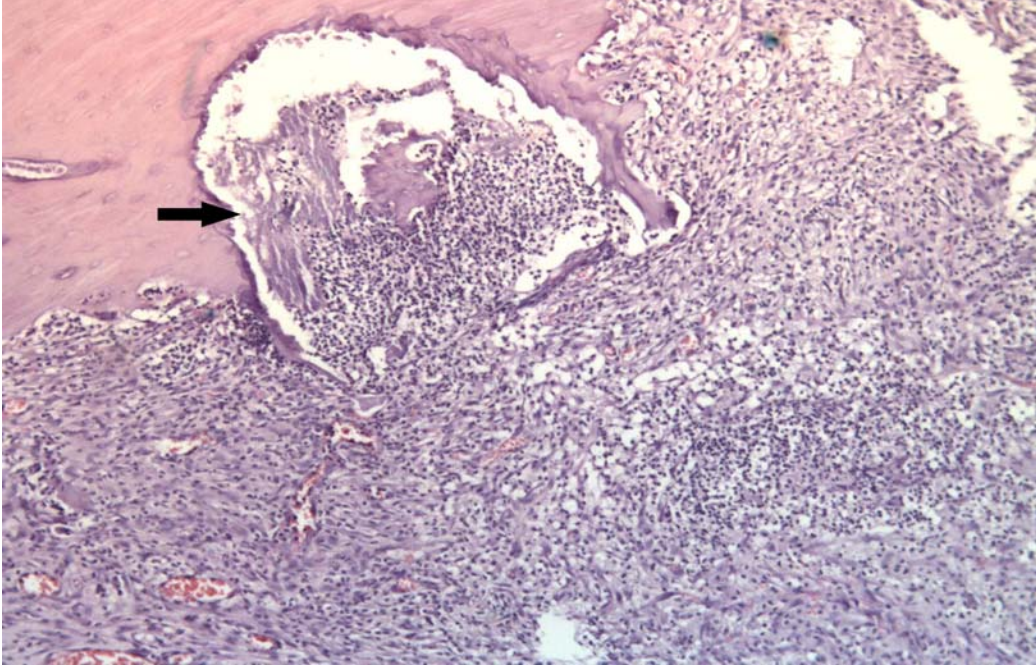
Resim 4.5: B grubunda maksillada, çekim bölgesinde yeni kemik yapımı (ok), (K), x200



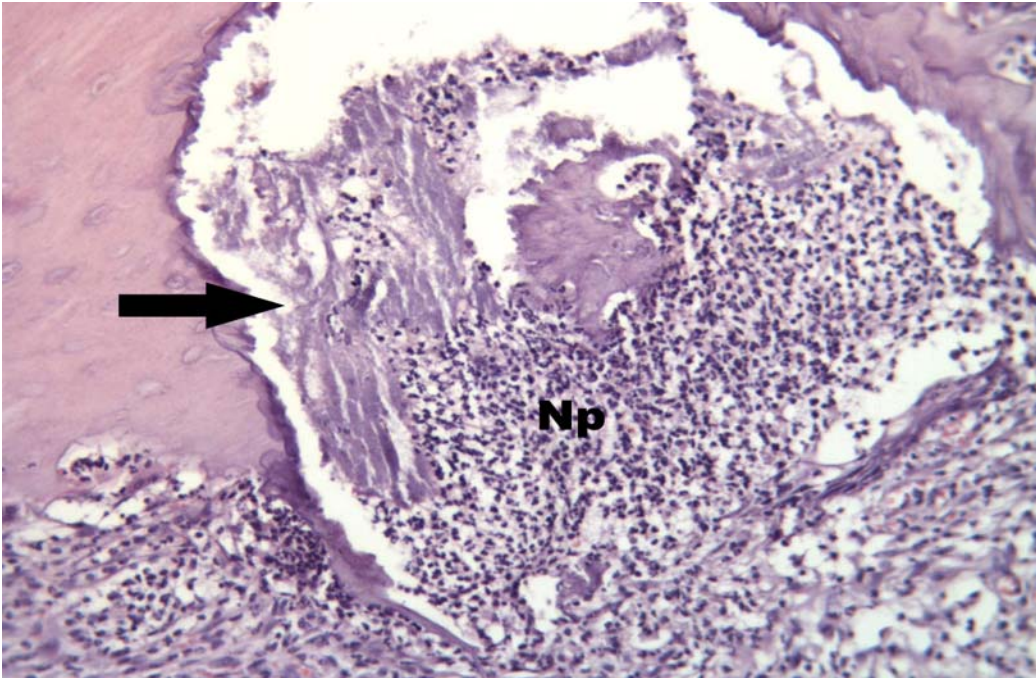
Resim 4.6: B grubunda maksillada, çekim bölgesinde iyileşme alanı içinde nötrofil polimorflarla çevrili sökestr (ok) ve yeni kemik yapımı (K), x100



Resim 4.7: B grubunda maksillada, çekim bölgesinde iyileşme alanı içinde nötrofil polimorflarla çevrili sökestr. (ok), x200



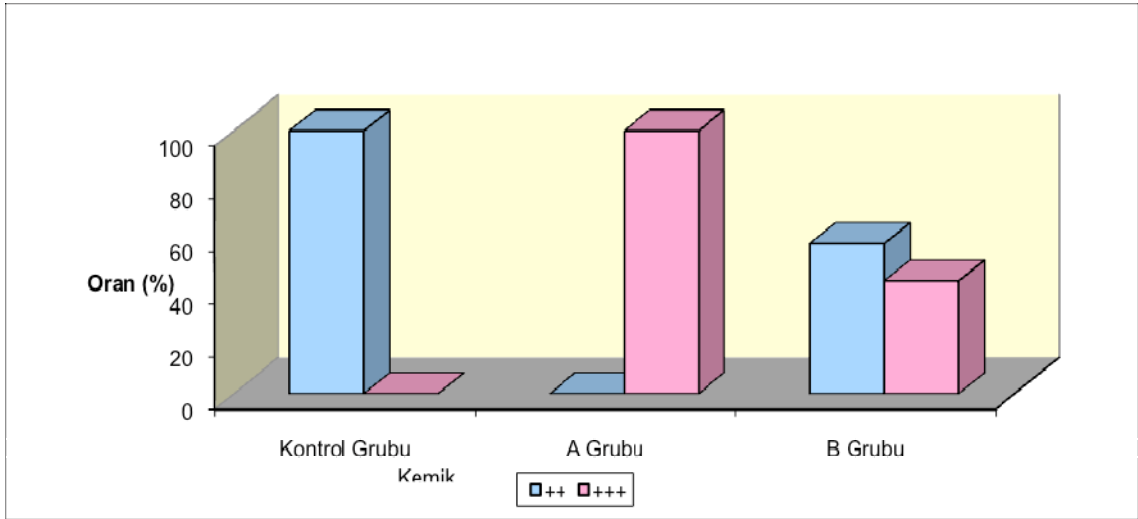
Resim 4.8: B grubunda mandibulada, çekim bölgesinde iyileşme alanı içinde nötrofil polimorflarla çevrili sökestr (ok), x100



Resim 4.9: B grubunda mandibulada, çekim bölgesinde iyileşme alanı içinde nötrofil polimorflarla çevrili sökestr. Sökestr (ok) ve nötrofil polimorflar (Np), x200

Tüm gruplarda diş çekimi yapılan maksiller kemikteki histolojik bulguların dağılımı tablo 4.7'de gösterilmektedir. Grupların maksillada inflamasyon görülme düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). B grubunda tüm sıçanlarda (%100) şiddetli inflamasyon izlenirken, kontrol grubunda 3 (%42,9), A grubunda ise 4 sıçanda (%57,1) şiddetli inflamasyon izlendi ($p=0,062$).

Grupların diş çekimi yapılan maksillada yeni kemik oluşum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.01$). Kontrol ve B grubunun yeni kemik oluşum düzeyleri arasında anlamlı farklılık bir bulunmadı ($p=0.192$; $p>0.05$). A grubunun yeni kemik oluşum düzeyi, kontrol ($p=0.001$) ve B grubundan ($p=0.018$) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p<0.05$; $p<0.01$). A grubunda ileri düzeyde yeni kemik oluşumu tüm sıçanlarda (%100) izlenirken, B grubunda 3 sıçanda (%42,9) izlendi ($p=0,001$). (Şekil 4.9)



Şekil 4.9: Tüm grupların maksillada yeni kemik oluşum düzeylerinin dağılımı

Tablo 4.7: Tüm gruplarda diş çekimi yapılan maksiller kemikteki histolojik bulguların dağılımı

Maksilla	Kontrol	A Grubu	B Grubu	<i>p</i>
	n (%)	n (%)	n (%)	
İnflamasyon				
+	4 (%57,1)	3 (%42,9)	0 (%0)	0,062
++	3 (%42,9)	4 (%57,1)	7 (%100)	
Yeni kemik oluşumu				
++	7 (%100)	0 (%0)	4 (%57,1)	0,001**
+++	0 (%0)	7 (%100)	3 (%42,9)	
Sökestr				
Var	0 (%0)	1 (%14,3)	3 (%42,9)	0,115
Yok	7 (%100)	6 (%85,7)	4 (%57,1)	

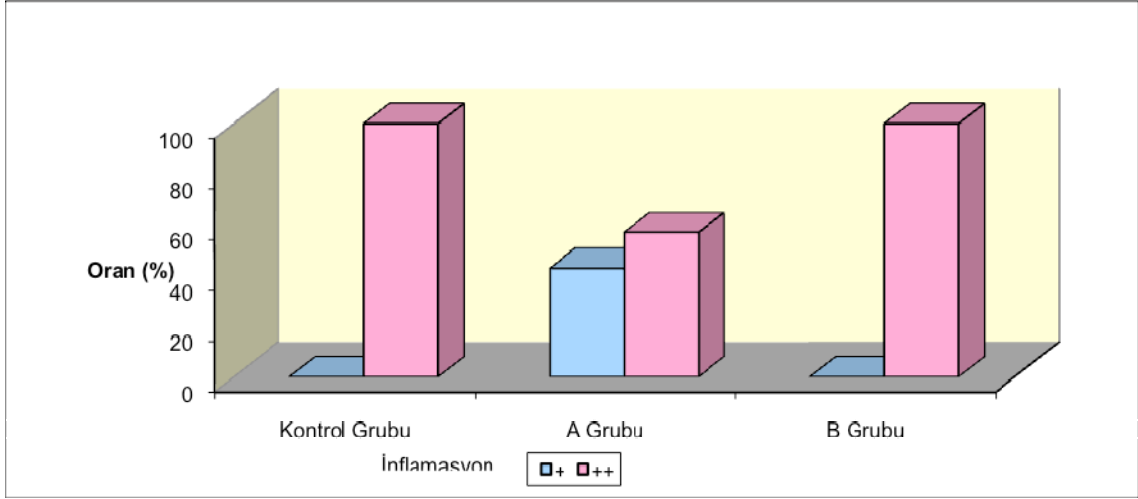
Ki-kare test ** $p < 0.01$

Tüm gruplarda diş çekimi yapılan maksillada sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). Ancak kontrol grubunda sökestr izlenmezken, A grubunda sadece 1 sıçanda (%14,3), B grubunda ise 3 sıçanda (%42,9) izlendi ($p = 0,115$).

Tüm gruplarda diş çekimi yapılan mandibular kemikteki histolojik bulguların dağılımı tablo 4.8’de gösterilmektedir. Grupların diş çekimi yapılan mandibulada inflamasyon görülme düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi ($p<0.05$). A grubunun inflamasyon şiddeti, kontrol ve B grubundan anlamlı şekilde düşük bulundu ($p=0.049$; $p<0.05$). Kontrol ve B grubundaki tüm sıçanlarda (%100) izlenen inflamasyon şiddeti, A grubunda 4 sıçanda (%57,1) izlendi ($p=0,03$). Kontrol ve B grubunun inflamasyon düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=1.000$; $p>0.05$). (Şekil 4.10)

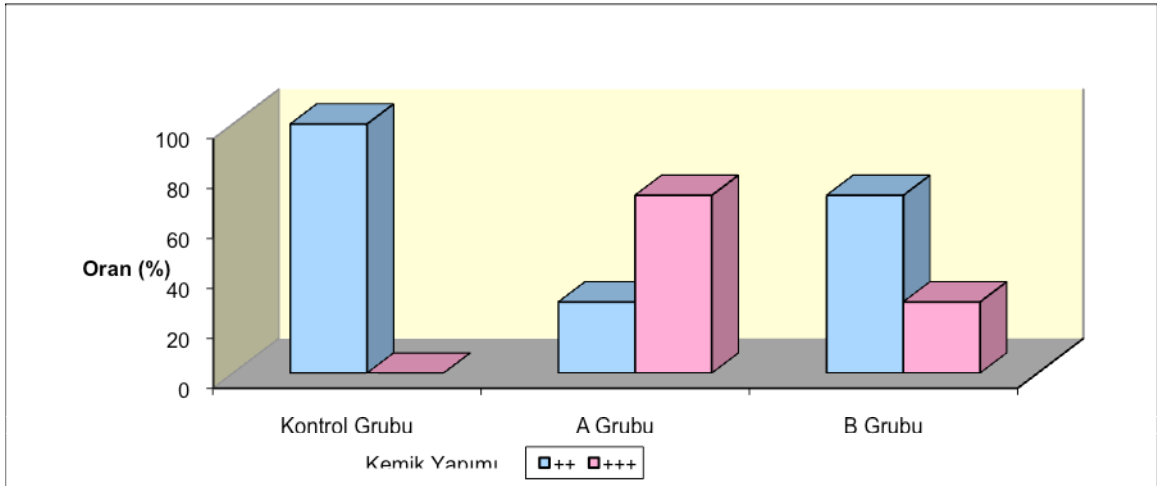
Tablo 4.8: Tüm gruplarda diş çekimi yapılan mandibular kemikteki histolojik bulguların dağılımı

Mandibula	Kontrol			A Grubu			B Grubu			<i>p</i>
	n	(%)		n	(%)		n	(%)		
İnflamasyon										
	+	0	(%0)	3	(%42,9)		0	(%0)		0,030*
	++	7	(%100)	4	(%57,1)		7	(%100)		
Yeni kemik oluşumu										
	++	7	(%100)	2	(%28,6)		5	(%71,4)		0,017*
	+++	0	(%0)	5	(%71,4)		2	(%28,6)		
Sökestr										
	Var	1	(%14,3)	1	(%14,3)		5	(%71,4)		0,032*
	Yok	6	(%85,7)	6	(%85,7)		2	(%28,6)		
<hr/>										
<i>Ki-kare test</i>			* $p<0.05$				** $p<0.01$			



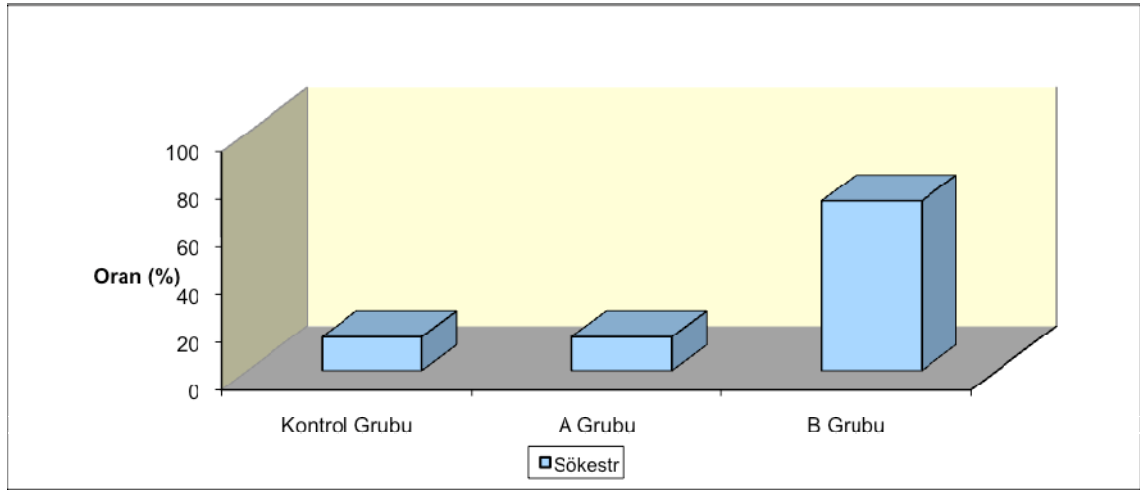
Şekil 4.10: Tüm grupların diş çekimi yapılan mandibulada inflamasyon düzeylerinin dağılımı

Grupların diş çekimi yapılan mandibulada yeni kemik oluşum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p < 0.05$). A grubunda ileri düzeyde yeni kemik oluşumu 5 sıçanda (%71,4) izlenirken, B grubunda 2 sıçanda (%28,6) izlendi ($p = 0,017$). A grubunun yeni kemik oluşum düzeyi, kontrol grubundan anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p = 0.021$; $p < 0.05$). B grubunun yeni kemik oluşumu ile kontrol ($p = 0.462$) ve A grubu ($p = 0.286$) arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). (Şekil 4.11)



Şekil 4.11: Tüm grupların diş çekimi yapılan mandibulada yeni kemik yapım düzeylerinin dağılımı

Grupların diş çekimi yapılan mandibulada sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.05$). Sökestr, kontrol grubunda 1 sıçanda (%14,3) izlenirken, A grubunda 1 sıçanda (%14,3) ve B grubunda 5 sıçanda (%71,4) izlendi ($p=0,032$). B grubunda sökestr varlığı, kontrol ve A grubundan anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p=0.031$; $p<0.05$). Kontrol ve A grubunda, çekim bölgesinde sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=1.000$; $p>0.05$). (Şekil 4.12)



Şekil 4.12: Tüm grupların mandibulasında sökestr varlığının dağılımı

Tüm gruplarda diş çekimi yapılan maksiller kemikteki inflamasyona göre yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı tablo 4.9'da gösterilmektedir. Gruplarda diş çekimi yapılan maksiller kemikteki inflamasyona göre yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). İnflamasyon düzeyi şiddetli olanlarda sökestr görülme oranı daha yüksek bulundu ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Maksillada inflamasyon düzeyi şiddetli olan 7 (%50,0) sıçanda yeni kemik oluşum düzeyi yüksek bulunurken ($p=1,000$), 4 (%28,6) sıçanda ise sökestr varlığı izlendi ($p=0,255$).

Tablo 4.9: Tüm gruplarda diş çekimi yapılan maksiller kemikteki inflamasyona göre yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı

Maksilla	İnflamasyon		<i>p</i>
	+	++	
	n (%)	n (%)	
Yeni kemik oluşumu			
++	4 (%57,1)	7 (%50,0)	1,000
+++	3 (%42,9)	7 (%50,0)	
Sökestr			
Var	0 (%0)	4 (%28,6)	0,255
Yok	7 (%100)	10 (%71,4)	

Fisher's Exact Ki-kare test

Tüm gruplarda diş çekimi yapılan mandibular kemikteki inflamasyona göre yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı tablo 4.10'da gösterilmektedir. Gruplarda diş çekimi yapılan mandibular kemikteki inflamasyona göre yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). İnflamasyon düzeyi şiddetli olanlarda sökestr görülme oranı daha yüksek bulundu. Ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Mandibulada inflamasyon düzeyi şiddetli olan 5 (%27,8) sıçanda yeni kemik oluşum düzeyi yüksek bulunurken ($p=0,247$), 7 (%61,1) sıçanda ise sökestr varlığı izlendi ($p=0,521$).

Tablo 4.10: Tüm gruplarda diş çekimi yapılan mandibular kemikteki inflamasyona göre yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı

Mandibula	İnflamasyon		<i>p</i>
	+	++	
	n (%)	n (%)	
Yeni kemik oluşumu			
++	1 (%33,3)	13 (%72,2)	0,247
+++	2 (%66,7)	5 (%27,8)	
Sökestr			
Var	0 (%0)	7 (%38,9)	0,521
Yok	3 (%100)	11 (%61,1)	

Fisher's Exact Ki-kare test

5. TARTIŞMA

Çenelerin bifosfonata bağlı osteonekrozunun (ÇBON) patogenezi ve risk faktörlerini inceleyen çalışmalar, insanlar üzerinde klinik deneylerin yapılamaması ve klinik öngörülebilirliğinin yokluğu nedeniyle kısıtlı olmaktadır. Bu nedenle, özellikle kemik metabolizması ve/veya kanser hastalarında görülen ÇBON'u taklit etmek amacıyla gerçekleştirilen hayvan çalışmaları önem kazanmaktadır. Sistemik hastalıklar ve/veya kanser tedavisinde potansiyel olarak onkolojik ajan olan bifosfonatlar kemik tutulumu olan metastatik kanserlerde ve kemik mineral yoğunluğu (KMY) düşük olan osteoporoz vakalarında kullanılmaktadır. Düzenli bifosfonat kullanımının kemik mineral yoğunluğunda artışa neden olduğu, günlük ya da belirli aralıklarla verilen dozların aynı derecede etkili olmasına rağmen doz verilif sürelerinden çok uygulanan toplam dozun önemli olduğu rapor edilmektedir (12). Malign hastalığın türüne göre değişmekle birlikte, multiple myeloma hastalarında %95, meme ve prostat kanserinde %75, primer akciğer, kolon ve böbrek tümörlerinde ise %15 ile %40 oranında kemik tutulumu görülmektedir. Kadınlarda 40 ile 55 yaş arasında görülen meme kanserinin sıklığı (%14,9) ve iskelet sistemine etkileri de bilinmektedir. Bununla birlikte, 50 yaş üstündeki bir kadında geriye kalan yaşam süresince meme kanseri görölme olasılığının yaklaşık %10 olduğu bildirilmektedir (136,137). Bu yaş grubundaki hastaların menapoz sonrası izlenen osteoporoz varlığı da dikkat çekicidir. Bu amaçla, klinik verilerin taklit edilmesi planlanan çalışmamızda, sıçanlarda ovariectomi sonrası nitrojen içeren bifosfonat olan zolendronik asitin (ZOL) farklı zaman aralığında çene kemiklerindeki etkinliğini, diş çekimi sonrası her iki çenedeki kemik iyileşmesi ve çekim bölgesinin tedavisinde rekombinant insan kemik morfogenetik proteini-2'nin (rhKMP-2) yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin deneysel olarak incelenmesi amaçlandı. 42 sıçan 3 gruba ayrılarak 2 farklı zamanda ZOL'ün çene kemiklerinde oluşturduğu değişimi ve rhKMP-2'nin diş çekim bölgesindeki iyileşme üzerindeki etkinliği incelendi.

Bifosfonatların kemik metabolizması üzerindeki etkilerinin, doğrudan kemik yıkımından sorumlu osteoklastik aktivitenin engellenmesi ile sağlandığı ayrıca ekstraselüler matriksteki tümör hücre tutulumunu, tümörün invazyonunu engelleme ve/veya tümör hücresinin apoptozu gibi antitümör etkileri de bulunduğu rapor edilmektedir (6,7). Bifosfonatların, fizyolojik dozlarda uygulandıklarında, kemiğe olan spesifik affinitelerinden dolayı, yeni oluşan kemikte ve osteoklastların yakınında çökeldiği bildirilmektedir. Rezorbe olan osteoklastlar, etrafında açığa çıkan kemik minerallerine hızlı bir şekilde bağlandığı ve rezorbe olan kemik boşluğunda yüksek miktarlarda görüldüğü ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, kan dolaşımındaki yarılanma ömürlerinin 30 dakika ile 2 saat arasında değiştiği (8), ancak kemikle birleşen ve metabolize olmayan bifosfonatların uzun süre yüksek konsantrasyonlarda bulunabildiği ve 10 yıla kadar vücutta rastlanabildiği de savunulmaktadır. (8,9).

Nitrojen içeren bifosfonatların ise hücre içine girerek biyosentetik mevalonat geçiş yolundaki farnesil pirofosfat sintaz (FPS) enzim aktivitesini ve bununla birlikte farnesil pirofosfat ve geranil-geranil pirofosfat gibi ara ürünlerin oluşmasını inhibe ederek etkili oldukları gösterilmektedir (11). Kemik iyileşmesine bağlı olarak, sıçanlarda bifosfonatların kemikteki kan akışını baskıladığı ve anjiyogenez sürecinde önemli olan vasküler endotelial büyüme faktörünün sirkülasyon düzeyini belirgin şekilde azalttığı da rapor edilmektedir (138).

Bifosfonatların osteoklastik aktivite üzerindeki inhibitör etkilerinin ve antianjiyogenik özelliklerinin tanımlanmasıyla, maligniteye bağlı hiperkalsemi, göğüs, prostat, akciğer kanserleri gibi solid tümörlerin kemik metastazlarında ve multiple miyeloma gibi kanser ilişkili hastalıklarda, ayrıca osteoporoz, osteopeni, Paget hastalığı, osteogenezis imperfekta gibi sistemik rahatsızlıklarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. (3,4,5).

Kanser hastalarında şiddetli kemik ağrısı, kırık riski veya hiperkalsemi nedeniyle bifosfonat tedavisi ertelenememekte ve hastalar bifosfonat

tedavisinin dental komplikasyonları hakkında her zaman bilgilendirilememektedir. Barker ve ark.'ları (2007) yaptıkları çalışmada, intravenöz (IV) bifosfonat tedavisi görecek olan multiple myeloma hastalarının tedavi için gittikleri doktorların %54'nün bifosfonat tedavisi öncesinde diş hekimlerine yönlendirilmediği rapor edilmektedir (65).

Bifosfonatların uzun dönem kullanımının getireceği yararlar karşısında, kemik dokusu üzerindeki potansiyel yan etkilerinin de dikkate alınması gerekmektedir. Oral bifosfonatların, osteoporoz tedavisinde güvenilir olduğu ancak kanser hastalarının tedavisinde intravenöz bifosfonatların ÇBON riski oluşturduğu bilinmektedir. Bifosfonatların hastaya sağladığı yararlar göz önünde bulundurulduğunda, komplikasyonlarına rağmen kullanımı devam etmektedir. Bifosfonatların çok sayıda endikasyonu olması nedeniyle kullanımı yaygındır ve giderek artmaktadır. Diş hekimliği'ni yakından ilgilendiren ve tedavisi oldukça zor olan ÇBON'un oluşmasını önlemeye yönelik olarak bifosfonatların sert dokuda oluşturduğu değişiklikleri araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (139).

2006 yılında American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons'un (AAOMS) ÇBON için düzenlediği protokolün amacı, hastaları, bifosfonat kullanımına başlamadan önce veya başladıktan sonra invaziv girişim gereksinimi elemine etmek ve kemik enfeksiyonundan korumaktır (64). Ancak günümüzde bifosfonat kullanan hasta sayısının artması ve ÇBON riskinin varlığı, dental müdahalelerde diş hekimlerini kısıtlamaktadır. Marx ve ark.'ları (2005), ÇBON gelişen 119 hasta üzerinde gerçekleştirdiği araştırmada, hastaların %25,2'sinde spontan, %37,8'sinde diş çekimi sonrası, %28,6'sında periodontal hastalığa bağlı, %11,2'sinde periodontal cerrahi işlem sonrasında, %3,4'ünde implant yerleştirdikten sonra ve %8'sinde apikal rezeksiyon sonrasında ÇBON geliştiğini bildirilmiştir (33). Badros ve ark.'ları (2006), ÇBON'un spontan olarak gelişebildiği gibi özellikle dental işlem sonrasında görülebileceğini rapor etmiştir. Bununla birlikte, bifosfonat kullanan hasta

sayısının artması ve ÇBON riskinin varlığı, dental müdahalelerde diş hekimlerini kısıtlamaktadır (54).

Günümüzde bifosfonata bağlı çenede oluşan osteonekrozu araştıran birçok çalışma bulunmasına rağmen, osteonekrozun patofizyolojisinde bifosfonatların rolünün açıklanamamasının nedeni olarak belirlenmiş bir hayvan modelinin olmaması gösterilmektedir (140). Hayvan modelinde primer hedefin çenelerin bifosfonata bağlı osteonekrozunun (ÇBON) klinik durumunun taklit etmesi olduğu bildirilmektedir (66). İdeal hayvan modelinin radyasyon verilmeden bifosfonat tedavisine bağlı olarak oral kavitede gelişen osteonekroz olduğu rapor edilmektedir (140). İnsanlarda izlenen ÇBON gelişmesinde bifosfonat tedavisinin dışında ortak ko-faktörler bulunduğu, bu faktörlerin dental travma, periodontal hastalıklar ve immün yetmezlik olduğu bununla birlikte insanlarda görülen osteonekrozu taklit etmek için bifosfonat ile beraber bu faktörlerin bir araya getirilmesi gerektiği de savunulmaktadır. Radyoterapi almayan bireylerin çenelerinde 8 haftadan uzun süre iyileşmeyen, ağız ortamıyla direk ilişkide olan kemik olarak tanımlanmakta olan ÇBON'un hayvan modelinde değişiklik gösterdiği bildirilmektedir. Bununla birlikte, amacı çene kemiklerinde bifosfonata bağlı osteonekroz oluşturmak olan hayvan çalışmalarında açığa çıkan kemik oluşturulmaması da sonucun dikkate alınması gerekmektedir. Bu çalışmalar, bifosfonatların risk faktörleri ile birlikte veya risk faktörleri olmadan çenelerin fizyolojisi üzerine etkilerini incelemeye yardımcı olmaktadır. Hayvan modelinde açığa çıkan bu kemiğin; çalışmalarda kontrol grubu olarak alınan örneklerden daha uzun süre gözlenmesi gerektiği de rapor edilmektedir (66). Hoffmann ve ark.'ları (2007), Almanya da kullanılan IV bifosfonatların yaygınlığını, süresini ve uygulama dozunu araştırdıkları çalışmada, ZOL'un en sık kullanılan IV bifosfonat olduğunu (141), ayrıca Badros ve ark.'ları (2006), ZOL kullanan hastalarda ÇBON gelişme süresinin diğer bifosfonatları kullanan hastalarla kıyaslandığında daha kısa olduğunu bildirmiştir (54). Çalışmamızda ovariectomi işleminden 4 hafta sonra oluşturulan gruplarda haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg zolendronik asit

kontrol ve A grubuna 2 hafta uygulanırken, B grubunda bu süre 3 hafta olarak uygulandı. Sabit dozun uygulanım süresi uzatılarak ZOL'ün kemikte oluşturduğu değişimlerin gözlenmesi amacıyla planlandı.

Ovarektominin, sıçanlarda osteopeniyi uyardığını ve kemiksel kütle kaybını arttırdığı rapor edilmektedir. Ovarlerin çift taraflı olarak eksize edildiği cerrahi işlem sonrasında gelişen östrojen eksikliği ile menopoz sonrası kemik metabolizması değişiklikleri arasında belirgin bir fark olmadığı da bildirilmektedir. Bununla birlikte ovarektomili sıçanların östrojen eksikliği modeli olarak kullanılan bir yöntem olduğu savunulmaktadır (73). Bu çalışmada, ÇBON'un, sıçan modeli üzerinde klinik olarak taklit edilmesi ve açığa çıkan kemik yüzeyi, mukozada ülserasyon, dişeti ve diş çekim bölgesinde inflamasyon, akut abse, osteomyelit, sökestr oluşumu, deride fistül, *aktinomiçes* enfeksiyonu, maksiler sinüzit veya oroantral fistül gibi bulguların oluşumunun gözlenmesi amaçlandı. Özellikle kemik metabolizmasını etkileyen kanser ilişkili hastalıklarda ve postmenapozal osteoporozda hastaların yaşı ve kullandıkları ilaçlar göz önünde bulundurularak, ZOL ve DX'un beraber kullanımının diş çekimi sonrası kemik iyileşmesine etkisi sıçanlar üzerinde uygulanarak histolojik olarak incelendi.

Beytur ve ark.'larının (2009), dişi sıçanlarda ovarektomi öncesi ve sonrası hormon replasman tedavisi ve vitamin E kullanımının, ağırlıklarına ve serum leptin düzeylerine etkilerini inceledikleri çalışmada, ovarektomi sonrası sıçanların ağırlıklarında 3 ayın sonunda kontrol grubuna göre anlamlı artış olmadığını rapor etmiştir (142). Gasser ve ark.'ları (2008), ZOL'ün, ovarektomili sıçanlarda kansellöz ve kortikal kemik üzerindeki uzun dönem koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmada, ovarektomi yapılan grupta ortalama ağırlık artışı %30,7 iken, ovarektomi yapılmayan kontrol grubundaki artış %14,7 olarak rapor edilmiştir (80). Tang ve ark.'ları (2008), ovarektomili sıçanlarda KMP-2'nin kemik oluşumu üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, ovarektomi öncesinde ortalama ağırlıkları $263 \pm 2,5$ gr olan sıçanların, ovarektomi sonrası 3 ay sonunda ortalama ağırlıkları $361 \pm 20,3$ gr olarak ölçülmüştür (143).

Çalışmamızda kullanılan 42 sıçanın ağırlıkları her bir işlem öncesinde kaydedildi. Literatüre uyumlu olarak tüm grupların ovarektomi işleminden 4 hafta sonra başlanan ilk ZOL enjeksiyonuna kadar geçen süredeki ortalama ağırlıklarındaki artış kontrol grubunda $63,64 \pm 28,97$ gr iken, A grubunda $59,12 \pm 19,07$ gr, B grubunda ise $39,03 \pm 14,69$ gr olarak kaydedildi ($p=0,011$). Gruplar arasında, sıçanların ovarektomi ile birinci enjeksiyon arasındaki ağırlıklarında izlenen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Çene kemiklerinin, vücudun diğer kemiklerine göre vaskülarizasyonunun ve turnoverının daha fazla olması bifosfonat konsantrasyonunun yüksek olmasına neden olduğu bildirilmektedir. Çiğneme fonksiyonu ve dişlerin etrafında bulunan periodontal ligamanların, periodonsiyum etrafında hızlı kemik yapım-yıkım oluşturması ile bifosfonatların sebep olduğu aselüler ve avasküler kemikte mikro kırıklar meydana geldiği ancak ince olan oral mukozanın travmatize olduğu veya cerrahi sırasında hasar görebildiği ve oral florada bulunan bakterilerin nekrotik kemiğe ulaşabildiği rapor edilmektedir (33). Bifosfonatların, osteoklastlar üzerindeki kısıtlayıcı etkisi ile kemik remodelinginin ve kemik turnoverının azaldığı bildirilmektedir. Teorik olarak bifosfonatların, vasküler endotelial büyüme faktörünü ve yeni kapiller oluşumunu engellemesi ile yüksek vaskülarizasyonu ve kemik turnoverı olan çene kemiklerinde bu etkilerin şiddetlenmesine neden olmakta ve avasküler nekroz ile sonuçlanmaktadır (34). İliyak krestle karşılaştırıldığında maksilla ve mandibulada bulunan orofasiyal kemik stromal hücrelerinin proliferasyon yeteneklerinin fazla olması, maksilla ve mandibulanın yüksek doz bifosfonata duyarlı hale gelmesiyle sonuçlanmaktadır (31,32).

ÇBON'un patofizyolojisini araştırmak, korunma ve tedavi yöntemlerini geliştirmek için hayvan modelinin gerekli olduğu rapor edilmektedir. Burr ve Allen (2009), ÇBON gelişimini taklit etmek için yaptıkları hayvan modelinde bir ila üç yıl boyunca oral yoldan alendronat verdikleri köpeklerde, çenelerde açığa

çıkan alveolar kemiğe rastlamamışlardır. Histolojik incelemelerde düşük doz alendronat verilen hayvanların %25'inin mandibulasında nekroz görüldüğü bu bulgunun ÇBON'un erken safhası olduğu ileri sürülmektedir. Bununla birlikte bifosfonat tedavisinin erken döneminde kemik yapım-yıkımının baskılanması iskeletsel mikrohasar ile ilişkilendirilmekte ve uzun süren tedavilerde kemikte bozulan bu dengede herhangi bir ilerlemenin olmadığını, bifosfonat uygulama süresinin tedavinin erken dönemini oluşturduğu bildirilmektedir. Köpeklerdeki iyileşme süreci ise insanlara benzemektedir. Köpeklerdeki kemik iyileşme süreci insanlarda izlenen ile benzerlik göstermesine rağmen, ilaca bağlı kemik değişimlerinin izlenebilmesi için gereken ilaç verilme dönemi uzun olmaktadır (84). Gasser ve ark.'ları (2008), postmenapozal osteopeni oluşturulan ovariectomize sıçanlarda ZOL kullanımının uzun dönem koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada, ZOL'ün tek dozunun (100µg/kg) kemik üzerindeki etkisinin 32 hafta sürdüğünü bildirmektedir (80). Yao ve ark.'ları (2007), yaşlı ovariectomize sıçanlarda kemik mineralizasyonunun derecesini inceledikleri çalışmalarında, tek doz verilen ZOL'ün trabeküler kemik kaybını 180 güne kadar engellediğini bildirmektedirler (81). Bu çalışmada ise Sprague-Dawley sıçanı kullanılarak elde edildi. Şenel ve ark.'ları (2009) çalışmasında, 8 hafta boyunca haftada 3 kez 0,1 mg/kg zolendronik asit uyguladıkları grubun %40'ında posterior mandibulada inflamasyon, inflamasyon görülen sıçanların %50'sinde ise osteonekroz görüldüğünü rapor etmektedir (144). Bu çalışmada ise, gruplarda inflamasyon görülme düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p < 0.05$). 3 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg zolendronik asit ve her gün 1mg/kg deksametazon uygulanan B grubunun inflamasyon şiddeti, 2 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg zolendronik asit ve her gün 1mg/kg deksametazon uygulanan A grubundan anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p = 0.016$; $p < 0.05$). B grubunda tüm sıçanlarda (%100) şiddetli inflamasyon izlenirken, aynı şiddetteki inflamasyon kontrol grubunda 10 sıçanda (%71,4), A grubunda ise 8 sıçanda (%57,1) izlendi ($p = 0,025$).

Dental girişim yapılmadan bifosfonatların çenelerdeki etkinliğinin incelendiği çalışmalarda, deney gruplarındaki bazı hayvanlarda enfeksiyon görülmesinin, ilaç metabolizmasındaki genetik farklılıklardan veya gelişmekte olan ÇBON'a direnç sonucunda gerçekleştiği rapor edilmektedir. Migliorati ve ark.'ları (2005), kanser tedavisi gören hastalarda gelişen oral komplikasyonların nedenlerini inceledikleri çalışmada, her bireyin genetik farklılığının bifosfonata farklı cevaplar vermesinin ve artan ÇBON riskinin sorumlusunun genetik polimorfizm nedeni olduğu rapor edilmektedir (42). Lehrer ve ark.'ları (2009), ÇBON gelişiminde serumdaki kemik markerlarında anomaliyi inceledikleri çalışmada, kemik anomalilerinde görülen matriks metaloproteinaz-2 (MMP-2) isimli genin ÇBON gelişiminde etkili olduğunu savunmaktadır (145). Bununla birlikte bifosfonat uygulanan hayvanlarda dental girişim ile enfeksiyon ve ÇBON gelişiminin etkilerinin araştırılacağı çalışmaların artması gerektiği önerilmektedir.

Kobayashi ve ark.'ları (2009), farelerde yaptıkları çalışmada ZOL'ün çekim soketindeki kan damarlarının sayısını, endotelial hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu azalttığını bununla birlikte çekim soketinin iyileşmesinde rol oynayan anjiogenezi engellediğini bildirmiştir (29). Norihiko ve ark.'ları (2001), lokal ve sistemik olarak uygulanan bifosfonatların diş çekim soketinin iyileşme sürecine etkisini histolojik olarak karşılaştırdıkları çalışmada; lokal olarak submukozal bifosfonat uygulamasının diş çekim soketinin iyileşme sürecini, sistemik bifosfonat uygulamasına göre geciktirdiğini rapor etmiştir (146). Bauss ve ark.'ları (2008), yüksek dozda lokal bifosfonat uygulanmasında bifosfonat yoğunluğunun artışıyla oral epitelde toksik etkili olduğunu ve kemikte sekonder enfeksiyon ile sonuçlandığını bildirmiştir (147). ÇBON üzerindeki histolojik çalışmalarda belirgin bir biçimde inflamasyon görüldüğü, en sık izlenen etken bakterinin *aktinomiçes* olduğu ancak yaygın ağız içi mikroorganizması olan *aktinomiçes*'in risk faktörü olabileceği gibi ÇBON sonucunda da gelişebileceği rapor edilmiştir (148). ÇBON enfeksiyona ve daha sonra kemiğin nekrozuna neden olan, açığa çıkan kemiğin geciken iyileşmesi

olarak tanımlanabilmektedir. Yara iyileşmesi üzerinde etkili olan hastanın immün sistemi, kullandığı bifosfonat ve kortikosteroid gibi risk faktörleri, ÇBON patogenezinde de etken olmaktadır (149). Posterior mandibulada, kemik yapım-yıkımı ve remodeling anterior mandibulaya göre daha fazla olması nedeniyle ÇBON gelişimi ve inflamasyon sıklıkla posterior mandibulada görülmektedir (44,54). Şenel ve ark.'larının (2009), ZOL ve pamidronat uygulanan sıçanların çene kemiklerindeki değişimi inceledikleri çalışmasında, 6 ve 8 hafta boyunca, haftada 3'er doz 0,1 mg/kg ZOL ve 3 mg/kg pamidronat uyguladıkları gruplarda, tüm hayvanlarda dişeti epitelinde ve alveolar kemikte inflamasyon izlenmiştir. ZOL'ün 8 hafta boyunca haftada 3 doz 0,1 mg/kg uygulandığı grupta, posterior mandibulaların %40'unda, pamidronatın 8 hafta boyunca haftada 3 doz 3 mg/kg uygulandığı grupta ise posterior mandibulaların %30'unda inflamasyon gözlemlenmiştir (145). Çalışmamızda, tüm grupların maksillada inflamasyon görülme düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). B grubunda tüm sıçanlarda (%100) şiddetli inflamasyon izlenirken, kontrol grubunda 3 (%42,9), A grubunda ise 4 sıçanda (%57,1) izlendi ($p=0,062$). Ancak tüm grupların mandibulada inflamasyon görülme düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.05$). A grubunun inflamasyon şiddeti, kontrol ve B grubundan anlamlı şekilde düşük bulundu ($p=0.049$; $p<0.05$). Kontrol ve B grubundaki tüm sıçanlarda (%100) izlenen inflamasyon şiddeti, A grubunda 4 sıçanda (%57,1) izlendi ($p=0,03$). Gruplarda diş çekimi yapılan maksiller ve mandibular kemikteki inflamasyona göre yeni kemik yapım düzeyleri ve sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak mandibulada şiddetli inflamasyon görülmesinin nedeni olarak mandibulanın kortikal yapısı dolayısıyla beslenmenin bozulduğunu ve iyileşmenin geciktiğini düşünmekteyiz.

Sonis ve ark.'ları (2008), sıçanlarda diş çekimi öncesi ZOL ve DX verilerek ÇBON gelişimini taklit ettikleri çalışmada, bifosfonat tedavisi gören

onkoloji hastalarının tedavi yöntemini uyguladıklarını bildirmektedir. 14'üncü günde kontrol grubunda çekim bölgesindeki mukozanın intakt olduğu, birçok sıçanda geniş veya fokal ülserasyon görüldüğü rapor edilmiştir. 28'inci günde ZOL ve DX ile tedavi edilen hayvanlardan maksiller molar dişi çekilenlerin %80'inde, mandibular molar dişi çekilenlerin ise %33,3'ünde mukozal ülserasyon izlenmiştir. Ayrıca iki kez ZOL ve DX verilen sıçanlarda %50 maksillada ve %60 mandibulada, 3 kez ZOL ve DX verilen sıçanlarda ise %80 maksillada ve %60 mandibulada ülserasyona rastlanılmıştır. Sökestr, mukozası ülserasyonlu olan tüm sıçanlarda rastlanırken intakt olan sıçanlarda ise gözlenmemiştir (37). Şenel ve ark.'ları (2009) ise, hiçbir deney grubunda sökestr veya açığa çıkan bir kemiğe rastlanmadığını bildirmiştir (144). Hansen ve ark.'ları (2005), bifosfonat tedavisi gören 8 hastada gelişen ÇBON'un histolojik bulgularını inceledikleri çalışmada, 8 hastanın, 4'ünde (%50) mandibulada, 3'ünde (%37,5) maksillada ve 1'inde (%12,5) her iki çenede de ÇBON geliştiğini bildirmiştir (151). Stumpe ve ark.'ları (2009), intravenöz bifosfonat kullanan 638 hastada ÇBON'un insidans ve risk faktörlerini inceledikleri çalışmada, 6 hastada (%0,94) ÇBON görüldüğünü ve bu hastaların 5'inde (%83,3) mandibulanın, 1'inde (%16,7) ise maksillanın etkilendiğini bildirmiştir (45). 42 sıçan üzerinde yürütülen çalışmamızda tüm sıçanların ağız içi mukozası intakttı ve gruplar arasında sökestr görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu ($p < 0.01$). 3 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg ZOL ve her gün 1mg/kg DX uygulanan B grubunun sökestr görülme oranı, 2 hafta boyunca haftada bir doz subkutan 7,5 µg/kg ZOL ve her gün 1mg/kg DX uygulanan A grubundan ($p = 0.046$) ve kontrol grubundan ($p = 0.013$) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p < 0.05$). Kontrol ve A grubunda sökestr görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p = 1.000$; $p > 0.05$). Bununla birlikte, tüm gruplarda diş çekimi yapılan mandibulada sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p < 0.05$). Sökestr, kontrol grubunda 1 sıçanda (%14,3) izlenirken, A grubunda 1 sıçanda (%14,3) ve B grubunda 5 sıçanda (%71,4)

izlendi ($p=0,032$). B grubundaki sökestr görülme oranının, diğer çalışma gruplarından yüksek olmasının nedeninin, alınan ZOL ve DX'un dozlarının diğer gruplardan fazla olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Büyüme ve farklılaşma faktörlerinin günümüzde rekombinant teknoloji kullanılarak istenilen miktarlarda üretilebildiği, ancak üretim maliyetlerinin pahalı olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle minimal dozda faktör kullanılarak optimal etki sağlanması önerilmektedir. KMP-2'nin ektopik uygulamasında optimal etkinin elde edilebilmesi için istenilen miktarda kemiğin minimal dozlar kullanılarak oluşturulmasıdır. KMP'nin solüsyon olarak da etki gösterdiği bildirilmektedir ancak taşıyıcı ile birlikte uygulandığında daha az miktarda KMP kullanılarak yeterli miktarda kemik indüksiyonu sağlanabildiği rapor edilmektedir. KMP için farklı taşıyıcı materyaller kullanılmaktadır. Ancak kollajen taşıyıcı, yapılan çalışmalarda kolay elde edilebilmesi, rezorbe olabilmesi, sitotoksik olmaması ve şekillendirilebilir olması nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır. Günümüzde bifosfonat grubu ilaçlar, osteoporoz, Paget hastalığı, multiple myeloma, metabolik kemik hastalıkları, meme, akciğer, prostat kanserleri gibi tümörlerin kemik metastazlarının bulunduğu vakalarda kullanılmaktadır (35). Bifosfonat kullanan hastalarda görülen osteonekroz tedavisinde, kemik iyileşmesini hızlandıran ve komplikasyonların gelişmesini engelleyen mekanizmaların etkinliği bilinmemektedir.

KMP'ler arasında KMP-2'nin en yüksek osteoindüktif etkiye sahip olduğu ve implante edilen bölgede oluşan kemik miktarı, uygulanan proteinin dozu ile doğru orantılı olduğu rapor edilmektedir (151). Çalışmalarda KMP-2'nin mandibular kemik iyileşmesi üzerinde etkili olduğu, yeni kemik oluşumu için ideal dozun KMP-2 için $1\mu\text{gr}$ ile $10\mu\text{gr}$ arasında olduğu bildirilmektedir (119). Özeç ve ark.'ları (2006), lokal olarak uyguladıkları rhKMP-2'nin distraksiyon osteogenezi üzerine etkisini deneysel olarak inceledikleri çalışmada, $3\mu\text{g}$ rhKMP-2'nin, kontrol grubuna göre kemik dokusu oluşturacak yeterli osteoindüktif etkinin oluşturduğunu rapor etmiştir (152). Higuchi ve ark.'ları (1999),

sıçan mandibulasında oluşturulan kemik defektine 6µg rhKMP-2 içeren polilaktik-poliglikolik asit kopolimeri/jelatin spanç (PGS) yerleştirilerek osteoindüktif potansiyelini inceledikleri çalışmada, yerleştirilen rhKMP-2/PGS'nin sıçanlarda oluşturulan mandibular defektin iyileşmesinde kemik rejenerasyonunu indüklediğini bildirmiştir (123). Brick ve ark.'ları (2008), 72 sprague-Dawley sıçanın femurunda oluşturulan defekte, 200 µg rhKMP-2 ve *streptococcus aureus* içeren rezorbe olabilen kollajen spanç yerleştirilmiş ve rhKMP-2 uygulanmayan enfekte gruba göre daha hızlı iyileşme ve kallus oluşumu gözlendiğini bildirmiştir (134). Wang ve ark.'ları (2009), farelerde osteonekrotik femur başı oluşturarak, defekte yerleştirilen rhKMP-2 içeren PGS ile oluşan kallusun nekrotik kemiği sardığı ve nekrotik kemiğin içinde neovaskülarizasyon gerçekleştiğini rapor etmiştir (135). Bu çalışmada, diş çekimi yapılan mandibulada yeni kemik oluşum düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.05$). A grubunda ileri düzeyde yeni kemik oluşumu 5 sıçanda (%71,4) izlenirken, B grubunda 2 sıçanda (%28,6) izlendi ($p=0,017$). A grubunun yeni kemik oluşum düzeyi, kontrol grubundan anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p=0.021$; $p<0.05$). Çalışmamızda, ZOL ve DX uygulaması sonrasında diş çekim bölgesinde inflamasyon izlenirken, yara iyileşmesini arttırmak için uygulanan rhKMP-2 ile yeni kemik yapımı gözlendi. Bu çalışmada verilen 2 µg rhKMP-2, A grubunda yeni kemik oluşumunu sağlaması için yeterli olurken, daha yüksek doz ZOL uygulanan B grubu için yeterli olmamıştır.

ZOL ve DX'un beraber uygulanması ile gelişen inflamasyonun yeni kemik yapımını engellediğini ve uygulanan rhKMP-2 dozunun da gelişen sökestrın iyileşmesi için yeterli olmadığını düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

- Ovaryektomi yapılan 42 adet sıçanın her bir işlem zamanlarındaki ağırlıklarının ortalaması kaydedildi. Tüm gruplardaki sıçanların ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim izlendi. Ovaryektomi sonrası ağırlıklarına göre birinci enjeksiyonda ve sakrifiye dönemindeki ağırlıklarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.001$; $p<0.01$). Sıçanların birinci enjeksiyon ile diş çekimine kadar geçen sürede B grubundaki ağırlıklarında görülen azalma, kontrol ($p=0.005$; $p<0.01$) ve A grubundan ($p=0.001$; $p<0.01$) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. Tüm sıçanların ovaryektomi işleminden sakrifiye edilmesine kadar geçen sürede ağırlıklarında görülen artışta gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.05$). Kontrol grubunda ortalama artış $63,64\pm 28,97$ gr iken, A grubunda $59,12\pm 19,07$ gr, B grubunda ise $39,03\pm 14,69$ gr olarak kaydedildi ($p=0,011$).
- Tüm sıçanların diş çekim bölgelerinden alınan doku örneklerinin histolojik değerlendirme bulguları kaydedildi. Gruplarda yeni kemik oluşum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi. A grubunda 12 sıçanda (%85,7) ileri düzeyde yeni kemik oluşumu izlenirken, aynı düzeyde yeni kemik oluşumu B grubunda 5 sıçanda (%35,7) izlendi ($p=0,001$). Gruplarda sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi. B grubunda 8 sıçanda (%57,1) sökestr izlenirken, kontrol grubunda 1 sıçanda (%7,1), A grubunda ise 2 sıçanda (%14,3) sökestr izlendi ($p=0,005$).
- Tüm gruplarda diş çekimi yapılan maksilla ve mandibulada inflamasyon, yeni kemik oluşumu ve sökestr varlığının dağılımı kaydedildi. Grupların diş çekimi yapılan maksillada yeni kemik oluşum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.01$). A grubunun yeni kemik oluşum düzeyi, kontrol ($p=0.001$) ve B grubundan ($p=0.018$) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p<0.05$; $p<0.01$). Grupların diş çekimi yapılan

mandibulada inflamasyon görülme düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi ($p<0.05$). A grubunun inflamasyon şiddeti, kontrol ve B grubundan anlamlı şekilde düşük bulundu ($p=0.049$; $p<0.05$). Grupların diş çekimi yapılan mandibulada yeni kemik oluşum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.05$). A grubunda ileri düzeyde yeni kemik oluşumu 5 sıçanda (%71,4) izlenirken, B grubunda 2 sıçanda (%28,6) izlendi ($p=0,017$). A grubunun yeni kemik oluşum düzeyi, kontrol grubundan anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p=0.021$; $p<0.05$). Grupların diş çekimi yapılan mandibulada sökestr varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ($p<0.05$). Sökestr, kontrol grubunda 1 sıçanda (%14,3) izlenirken, A grubunda 1 sıçanda (%14,3) ve B grubunda 5 sıçanda (%71,4) izlendi ($p=0,032$). B grubunda sökestr varlığı, kontrol ve A grubundan anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p=0.031$; $p<0.05$).

- Çalışmamızdan elde edilen histolojik bulgular sonucunda, bifosfonat uygulanan ovariectomili sıçanlarda gelişen inflamasyon, düşük doz bifosfonat uygulanan grupta yeni kemik yapımının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olması, yüksek doz bifosfonat verilen grupta ise sökestr varlığının istatistiksel olarak anlamlı olması sonucunda diş çekimi sonrasında çekim soketine rhKMP-2 uygulanmasının sökestr gelişimini engelleyebilmesi için rhKMP-2'nin dozunun arttırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Menschutkin N. Ueber die Einwirkung des Chlorazetyls auf phosphorige Soure. *Ann Chem Pharm*, 133:317-320, 1865.
2. Blomen LJMJ. History of the bisphosphonates: Discovery and history of the non-medical uses of bisphosphonates. In: Bijvoet OLM, Fleisch HA, Canfield RE, Russell RGG, eds. *Bisphosphonate on Bones*. Amsterdam, 111-124, 1995.
3. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons Position Paper on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws Approved by the Board of Trustees September 25, 2006.
4. Physicians' Desk Reference. 57th ed. Montvale, NJ, Medical Economics, 2003.
5. Fleisch H. Bisphosphonates: Mechanisms of action. *Endocr Rev*, 19:80-100, 1998.
6. Green JR. Bisphosphonates: preclinical review. *Oncologist*, 9:4:3-13, 2004.
7. Santini D, Vespasiani Gentilucci U, Vincenzi B, Picardi A, Vasaturo F, La Cesa A, et al. The antineoplastic role of bisphosphonates: from basic research to clinical evidence. *Ann Oncol*, 14:1468-1476, 2003.
8. Martin TJ, Grin V. Bisphosphonates - mechanisms of action. *Australian Prescriber*, 23:130-132, 2000.
9. Sparidans RW, Twiss IM, Talbot S. Bisphosphonates in bone diseases. *Pharm World Sci*, 20:206-213, 1998.
10. Fleisch H. Development of bisphosphonates. *Breast Cancer Res*, 4:30-34, 2002.

11. Luckman SP, Coxon FP, Ebetino FH et al. Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J744 macrophages. *J Bone Miner Res*, 13:1668-1678, 1998.
12. Owens G, Jackson R, Lewiecki EM. An integrated approach: Bisphosphonate Management for the Treatment of Osteoporosis. *Am J Manag Care*, 13:290-308, 2007.
13. Bilezikian JP. Osteonecrosis of the jaw- do bisphosphonates pose a risk? *N Eng J Med*, 355:2278-2281, 2006.
14. 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*, 356:1809-1822, 2007.
15. Şahin S. Onkolojide Bifosfonat Kullanımının Renal Güvenilirliği- Bifosfonatlar Gerçekten Masum Mu? *Meme Sağlığı Dergisi*, 3:120-124, 2007.
16. Diel IJ, Bergner R, Grötz KA. Adverse effects of bisphosphonates: current issues. *J Support Oncol*, 5:475-548, 2007.
17. Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H, Thompson DD, Golub E, Rodan GA. Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest*, 88:2095-2105, 1991.
18. van Beek ER, Löwik CW, Papapoulos SE. Effect of alendronate treatment on the osteoclastogenic potential of bone marrow cells in mice. *Bone*, 20:335-340, 1997.

19. Opas EE, Rutledge SJ, Golub E, Stern A, Zimolo Z, Rodan GA, Schmidt A. Alendronate inhibition of protein-tyrosine-phosphatase-meg1. *Biochem Pharmacol*, 15:721-727, 1997.
20. Roschger P, Fratzl P, Klaushofer K, Rodan G. Mineralization of cancellous bone after alendronate and sodium fluoride treatment: a quantitative backscattered electron imaging study on minipig ribs. *Bone*, 20:393-397, 1997.
21. Hernandez, C.J., Beaupré, G.S., Marcus, R. and Carter, D.R. (2001). A theoretical analysis of the contributions of remodeling space, mineralization and bone balance to changes in bone mineral density during alendronate treatment. *Bone*, 29:511-516, 1997.
22. Gonzalez-Moles MA, Bagan-Sebastian JV. Alendronate-related oral mucosa ulcerations. *J Oral Pathol Med*, 29:514-518, 2000.
23. Funayama H, Ohsako M, Monma Y, Mayanagi H, Sugawara S, Endo Y. Inhibition of inflammatory and bone-resorption inhibitory effects of alendronate by etidronate. *Calcif Tissue Int*, 76:448-457, 2005.
24. Green JR. Chemical and biological prerequisites for novel bisphosphonate molecules: Results of comparative preclinical studies. *Semin Oncol*, 28:4-10, 2001.
25. Li EC, Davis LE. Zoledronic acid: a new parenteral bisphosphonate. *Clin Ther*, 25:2669-2708, 2003.
26. Benford HL, McGowan NW, Helfrich MH, Nuttall ME, Rogers MJ. Visualization of bisphosphonate-induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone*, 28:465-473, 2001.
27. Dunford JE, Thompson K, Coxon FP, Luckman SP, Hahn FM, Poulter CD, Ebetino FH, Rogers MJ. Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in

vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. *J Pharmacol Exp Ther*, 296:235–242, 2001.

28. Walker K., Medhurst S.J., Kidd B.L., Glatt M., Bowes M., Patel S., McNair K., Kesingland A., Green J., Chan O., Fox A.J., Urban L.A. Disease modifying and anti-nociceptive effects of the bisphosphonate, zoledronic acid in a model of bone cancer pain. *Pain*, 100:219–229, 2002.

29. 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*, Oct 31, 2009.

30. 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: 369–376, 2007.

31. Akintoye SO, Lam T, Shi S, Brahim J, Collins MT, Robey PG. Skeletal site-specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals. *Bone*, 38: 758–768, 2006.

32. Stefanik D, Sarin J, Vogell A, Levin L, Leboy PS, Akintoye SO. Effects of pamidronate on oro-facial human bone marrow stromal cells. *J Dent Res*, 85:430, 2006.

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*, 63:1567–1575, 2005.

34. Ferretti G, Fabi A, Carlini P et al. Zoledronic-acid-induced circulating level modifications of angiogenic factors, metalloproteinases and proinflammatory cytokines in metastatic breast cancer patients. *Oncology*, 69:35-43, 2005.
35. Migliorati CA, Siegel MA, Elting LS. Bisphosphonate-associated osteonecrosis: a long-term complication of bisphosphonate treatment. *J Clin Oncol*, 24:508-514, 2006.
36. Odvina CV, Zerwekh JE, Rao DS, Maalouf N, Gottschalk FA, Pak CY. Severely suppressed bone turnover: a potential complication of alendronate therapy. *J Clin Endocrinol Metab*, 90:1294-1301, 2005.
37. Sonis ST, Watkins BA, Lyng GD, Lerman M, Anderson KC. Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonates-related osteonecrosis in cancer patients, *Oral Oncology*, 2:164-172, 2009.
38. Sarin J, Stefanik D, Lam T et al. Bisphosphonate- Induced Jaw Osteonecrosis: Skeletal Site-Specific Effects of Pamidronate on Osteogenic Differentiation of Human Bone Marrow Stromal Cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 102:325, 2006.
39. 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*, 62:527-534, 2004.
40. Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y et al. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J Oral Pathol Med*, 34:120-123, 2005.
41. Migliorati CA. Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. *J Clin Oncol*, 21:4253-4254, 2003.

42. Migliorati CA, Schubert MM, Peterson DE, Seneda LM. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bone. *Cancer*. [Epub ahead of print] May 31, 2005.
43. Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med*, 144: 753–761, 2006.
44. Boonyapakorn T, Schirmer I, Reichart PA, Sturm I, Massenkeil G. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: prospective study of 80 patients with multiple myeloma and other malignancies. *Oral Oncol*, 44:857-869, 2008.
45. Stumpe MR, Chandra RK, Yunus F, Samant S. Incidence and risk factors of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Head Neck*, 31:202-206, 2009.
46. Mogher Khamaisi, Eran Regev, Noam Yarom, Batia Avni, Eran Leitersdorf, Itamar Raz, and Sharon Elad. Possible Association between Diabetes and Bisphosphonate-Related Jaw Osteonecrosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 92:1172–1175, 2007.
47. Michael C. Adornato, Iyad Morcos, James Rozanski The treatment of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws with bone resection and autologous platelet-derived growth factors. *JADA*, 138:971-977, 2007.
48. Bagan JV, Jimenez Y, Gomez D, Sirera R, Poveda R, Scully C. Collagen telopeptide (serum CTX) and its relationship with the size and number of lesions in osteonecrosis of the jaws in cancer patients on intravenous bisphosphonates. *Oral Oncol*, 44:1088–1089, 2008.
49. Van den Wyngaert T, Huizing MT, Vermorcken JB. Osteonecrosis of the jaw related to the use of bisphosphonates. *Curr Opin Oncol*, 19:315–322, 2007.

50. Campisi G, Di Fede O, Musciotto A et al. Bisphosphonate- related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): run dental management designs and issues in diagnosis. *Ann Oncol*, 18:168–172, 2007.

51. Ficarra G, Beninati F, Rubino I et al. Osteonecrosis of the jaws in periodontal patients with a history of bisphosphonates treatment. *J Clin Periodontol*, 32:1123–1128, 2005.

52. Katz H. Endodontic implications of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a report of three cases. *J Endod*, 31:831–834, 2005;.

53. Jung TI, von der Gablentz J, Hoffmeister B, et al. Osteonecrosis of jaw under bisphosphonate therapy: patient profile and risk assessment. *J Bone Miner Res*, 22:113, 2007.

54. Badros A, Weikel D, Salama A, et al. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. *J Clin Oncol*, 24:945–952, 2006.

55. Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Moulopoulos LA, Melakopoulos I, Bozas G, Koutsoukou V, Gika D, Anagnostopoulos A, Papadimitriou C, Terpos E, Dimopoulos MA. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *J Clin Oncol*, 23:8580-8587, 2005.

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

57. Eckert AW, Maurer P, Meyer L, Kriwalsky MS, Rohrberg R, Schneider D, Bilkenroth U, Schubert J. Bisphosphonate-related jaw necrosis-severe complication in maxillofacial surgery. *Cancer Treat Rev*, 33:58-63, 2007.

58. Lipton A, Milton S. The safety of zoledronic acid. *Expert Opin Drug Saf*, 6:305-313, 2007.
59. Durie BG, Katz M, Crowley J. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates. *N Engl J Med*, 353:99-102, 2005.
60. McLeod NM, Davies BJ, Brennan PA. Bisphosphonate osteonecrosis of the jaws; an increasing problem for the dental practitioner. *Br Dent J*, 203: 641-644, 2007.
61. Hasmim M, Bieler G, Ruegg C. Zoledronate inhibits endothelial cell adhesion, migration and survival through the suppression of multiple, prenylation-dependent signaling pathways. *J Thromb Haemost*, 5:166-173, 2007.
62. Allegra A, Oteri G, Nastro E et al. Patients with bisphosphonates-associated osteonecrosis of the jaw have reduced circulating endothelial cells. *Hematol Oncol*, 25:164-169, 2007.
63. Marx RE, Cillo JE Jr, Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*, 65:2397-2410, 2007.
64. 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*, 136:1658-1668, 2005.
65. Barker K, Lowe D, Olujohungbe A, Low E, Rogers SN. Survey of members of myeloma UK on bisphosphonates-associated jaw osteonecrosis. *Br J Haematol*, 139:626-628, 2007.
66. Allen M.R., Animal models of osteonecrosis of the jaw. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 7:358-360, 2007.

67. Atkinson PJ, Woodhead J. Changes in human mandibular structure with age. *Arch Oral Biol*, 13:1453-1463, 1968.
68. Manson JD, Lucas RB. A microradiographic study of age changes in the human mandible. *Arch Oral Biol*, 7:761-769, 1962.
69. Goaz PM, White SC. Osteoporosis, Oral radiology principles and interpretation 3.ed Mosby-Year Book 1994.
70. Taguchi A, Tanimoto K, Sueti Y, Wada T. Tooth loss and mandibular osteopenia. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod*, 79:127-132, 1995.
71. Egermann M, Goldhahn J, Schneider E. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int*, 16:129-138, 2005.
72. Fini M, Giavaresi G, Torricelli P, Corsari V, Giardino R, Nicolini A, Carpi A. Osteoporosis and biomaterial osteointegration. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 58:487-493, 2004.
73. Wronski TJ, Yen CF, Qi H, Dann LM. Parathyroid hormone is more effective than estrogen or bisphosphonates for restoration of lost bone mass in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 132:823-831, 1993.
74. Jee WSS, Yao W. Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis. *J Musculoskel Neuron Interact*, 1:193-220, 2001.
75. Kimmel DB. Animal models osteoporosis research. In: Bilezikian JP, Risz LG, Rodan GA. *Principles of bone biology*. 2th ed. Academic Press. San Diego, 1635-1655, 2002.
76. Li, X. and Nishimura I.: Altered Bone Remodeling Pattern of the Residual Ridge in Ovariectomized Rats. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 72:324-330, 1994.

77. Tanaka S, Shimizu M, Debari K, Furuya R, Kawawa T, Sasaki T. Acute Effects of ovariectomy on wound healing of alveolar bone after maxillary molar extraction in aged rats *The Anatomical Record*, 262:203-212, 2001.

78. Søggaard C.H., Wronski T.J., McOsker J.E., Mosekilde L. The positive effect of parathyroid hormone on femoral neck bone strength in ovariectomized rats is more pronounced than that of estrogen or bisphosphonates. *Endocrinology*, 134:650-657, 1994.

79. Arisawa EA, Brandão AA, Almeida JD, da Rocha RF. Calcitonin in bone-guided regeneration of mandibles in ovariectomized rats: densitometric, histologic and histomorphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 37:47-53, 2008.

80. Gasser J.A., Ingold P., Venturiere A., Shen V., Green J.R. Long-Term Protective Effects of Zoledronic Acid on Cancellous and Cortical Bone in the Ovariectomized Rat. *J Bone Miner Res*, 23:544-551, 2008.

81. Yao W., Cheng Z, Koester K.J., Ager J.W., Balooch M., Pham A., Chefo S., Busse C., Ritchie R.O., Lane N.E. The degree of bone mineralization is maintained with single intravenous bisphosphonates in aged estrogen-deficient rats and is a strong predictor of bone strength. *Bone*, 41:804-812, 2007.

82. Brouwers J.E.M., Lambers F.M., Gasser J.A., van Rietbergen B., Huijskes R. Bone Degeneration and Recovery after Early and Late Bisphosphonate Treatment of Ovariectomized Wistar Rats Assessed by In Vivo Micro-Computed Tomography. *Calcif Tissue Int*, 82:202-211, 2008.

83. Perilli E, Le V, Ma B, Salmon P, Reynolds K, Fazzalari NL. Detecting early bone changes using in vivo micro-CT in ovariectomized, zoledronic acid-treated, and sham-operated rats. *Osteoporos Int*, Oct 7, 2009.

84. Burr DB, Allen MR., Mandibular necrosis in beagle dogs treated with bisphosphonates. *Orthod Craniofac Res*, 12:221-228, 2009.

85. 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.
86. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*, 12;150:893-899, 1965.
87. Sampath T.K., Reddi AH. Homology of bone-inductive proteins from human, monkey, bovine, and rat extracellular matrix. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 80;6591–6595, 1983.
88. Wang EA, Rosen V, Cordes P, Hewick RM, Kriz MJ, Luxenberg DP, Sibley BS & Wozney JM. Purification and characterization of other distinct bone-inducing factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 85:9484–9488, 1988.
89. Reddi AH, Wientroub S., Muthukumaran N. Biologic principles of bone induction. *Orthopedic Clinics of North America*, 18;207–212, 1987.
90. Reddi AH., Huggins C. Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 69;1601–1605, 1972.
91. Urist M.R., Mikulski A., Lietze A. Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 76;1828-1832, 1979.
92. Groeneveld EH, Burger EH. Bone morphogenetic proteins in human bone regeneration. *Eur J Endocrinol*, 142:9-21, 2000.
93. Reddi AH. Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. *Nature Biotechnology*, 16;247–252, 1998.
94. Massague J. The transforming growth factor-beta family. *Annual Review of Cell Biology*, 6:597–641, 1990.

95. Cunningham NS, Jenkins NA, Gilbert DJ, Copeland NG, Reddi AH & Lee SJ. Growth/differentiation factor-10: a new member of the transforming growth factor-beta superfamily related to bone morphogenetic protein-3. *Growth Factors*, 12:99-109, 1995.
96. Kusumoto K, Bessho K, Fujimura K, Akioka J, Ogawa Y, Iizuka T. Comparison of ectopic osteoinduction in vivo by recombinant human BMP-2 and recombinant *Xenopus* BMP-4/7 heterodimer. *Biochem Biophys Res Commun*, 239:575-579, 1997.
97. Luo G, Hofmann C, Bronckers AL, et al. KMP7 is an inducer of nephrogenesis, and is also required for eye development and skeletal patterning. *Genes Dev*, 9:280-282, 1995.
98. Zhang H, Bradley A, et al. Mice deficient for BMP2 are nonviable and have defects in amnion/chorion and cardiac development. *Development*, 122:2977-2986, 1996.
99. Cuevas P, et al. Osteopromotion for cranioplasty: an experimental study in rats using acidic fibroblast growth factor *Surg Neurol*, 47:24-26, 1997.
100. McCracken M, Lemons JE, Zinn K. Analysis of Ti6Al4V implants placed with fibroblast growth factor 1 in rat tibiae. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 16:495-502, 2001.
101. Nakamura T, et al. Stimulation of endosteal bone formation by systemic injections of recombinant basic fibroblast growth factor in rats. *Endocrinology*, 136:1276-1284, 1995.
102. Boyan BD, Schwartz Z, Swain LD, Khare AG, Heckman JD, Ramirez V, Peters P & Carnes DL Jr. Initial effects of partially purified bone morphogenetic protein on the expression of glycosaminoglycan, collagen, and alkaline phosphatase in nonunion cell cultures. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 278:286-304, 1992.

103. Kinoshita A, Oda S, Takahashi K, Yokota S, Ishikawa I, Periodontal regeneration by application of recombinant human bone morphogenetic protein 2 to horizontal circumferential defects created by experimental periodontitis in beagle dogs. *J periodontology*, 68:103-109, 1997.
104. Ono I, Inoue M, Kuboki Y, Promotion of the osteogenic activity of recombinant human bone morphogenetic protein by prostoglandin E1. *Bone*, 19:581-588, 1996.
105. Yudell RM, Block DC, Brekke J, Wozney JM, Hollinger JO, Bone formation with use of rhBMP-2 (recombinant human bone morphogenetic protein-2) *J Bone Joint Surg*, 79:1778-1790, 1997.
106. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM & Wang EA. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*, 242:1528-1534, 1988.
107. Bessho K, Kusumoto K, Fujimura K, Konishi Y, Ogawa Y, Tani Y, Iizuka T. Comparison of recombinant and purified human bone morphogenetic protein. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 37:2-5, 1999.
108. Fleet JC, Cashman K, Cox K, Rosen V. The effects of aging on the bone inductive activity of recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Endocrinology*, 37:4605-4610, 1996.
109. Li R.H., Wozney J.M. Delivering on the promise of bone morphogenetic proteins. *Trends Biotechnol*, 19:255-265, 2001.
110. Asahina I, Sampath TK, Nishimura I & Hauschka PV. Human osteogenic protein-1 induces both chondroblastic and osteoblastic differentiation of osteoprogenitor cells derived from newborn rat calvaria. *Journal of Cellular Biology*, 123:921-933, 1993.

111. Maliakal JC, Asahina I, Hauschka PV & Sampath TK. Osteogenic protein-1 (BMP-7) inhibits cell proliferation and stimulates the expression of markers characteristic of osteoblast phenotype in rat osteosarcoma (17/2.8) cells. *Growth Factors*, 11:227-234, 1994.
112. Katagiri T, Yamaguchi A, Ikeda T, Yoshiki S, Wozney JM, Rosen V, Wang EA, Tanaka H, Omura S & Suda T. The non-osteogenic mouse pluripotent cell line, C3H10T1/2, is induced to differentiate into osteoblastic cells by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 172:295-299, 1990.
113. Yamaguchi A, Katagiri T, Ikeda T, Wozney JM, Rosen V, Wang EA, Kahn AJ, Suda T & Yoshiki S. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulates osteoblastic maturation and inhibits myogenic differentiation in vitro. *Journal of Cellular Biology*, 113:681-687, 1991.
114. Rickard DJ, Sullivan TA, Shenker BJ, Leboy PS & Kazhdan I. Induction of rapid osteoblast differentiation in rat bone marrow stromal cell cultures by dexamethasone and BMP-2. *Developmental Biology*, 161:218-228, 1994.
115. Thies RS, Bauduy M, Ashton BA, Kurtzberg L, Wozney JM & Rosen V. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 induces osteoblastic differentiation in W-20-17 stromal cells. *Endocrinology*, 130:1318-1324, 1992.
116. Kim KJ, Itoh T & Kotake S. Effects of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on human bone marrow cells cultured with various biomaterials. *Journal of Biomedical Materials Research*, 35:279-285, 1997.
117. Hollinger JO, Seyfer AE. Bioactive factors and biosynthetic materials in bone grafting. *Clin Plast Surg* 1994;21:415-8., Sweeney TM, Opperman LA, Persing JA, et al. Repair of critical size rat calvarial defects using extracellular matrix protein gels. *J Neurosurg*, 83:710-715, 1995.

118. Kuboki Y, Saito T, Murata M, et al. Two distinctive BMP carriers induce zonal chondrogenesis and membranous ossification, respectively; geometrical factors of matrices for cell-differentiation. *Connect Tissue Res*, 32:219-226, 1995.
119. Arosarena O.A., Collins W.L. Bone regeneration in the rat mandible with bone morphogenetic protein-2: A comparison of two carriers. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 132:592-597, 2005.
120. Cornell CN, Lane JM. Current understanding of osteoconduction in bone regeneration. *Clin Orthop*, 355:267-273, 1998.
121. Barboza EP, Duarte MEL, Geolas L, et al. Ridge augmentation following implantation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in the dog. *J Periodontol*, 71:488-489, 2000.
122. Hunt DR, Jovanovic SA, Wikesjo UME, et al. Hyaluronan supports recombinant human bone morphogenetic protein-2 induced bone reconstruction of advanced alveolar ridge defects in dogs: a pilot study. *J Periodontol*, 72:651-658, 2001.
123. Higuchi T., Kinoshita A., Takahashi K., ODA S., Ishikawa I. Bone Regeneration by Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 in Rat Mandibular Defects. *An Experimental Model of Defect Filling*, 70:1026-1031, 1999.
124. Schliephake H., Weich H.A., Christian Dullin C., Gruber R., Frahse S. Mandibular bone repair by implantation of rhBMP-2 in a slow release carrier of polylactic acid—An experimental study in rats. *Biomaterials*, 29:103-110, 2008.
125. Geiger M, Li R.H., Friess W. Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2 *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55:1613- 1629, 2003.

126. Friess W. Collagen-biomaterial for drug delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 45:113–136, 1998.
127. Geiger M, Friess W., Collagen sponge implants: applications, characteristics and evaluation: Part I, *Pharm. Tech. Europe*, 14;48–56, 2002.
128. Geiger M, Friess W, Collagen sponge implants: applications, characteristics and evaluation: Part II, *Pharm. Tech. Europe*, 14;58–66, 2002.
129. Tewes-Schwarzer P. Manufacturing principles of freeze dried collagen sponges: characteristics and applications, in: L. Rey, J.C. May (Eds.), *Freeze Drying/Lyophilization Pharmaceutical and Biological Products, Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, vol. 96, Marcel Dekker, New York, 1999.
130. Boyne P., Animal studies of application of rhBMP-2 in maxillofacial reconstruction. *Bone*, 19:83–92, 2003.
131. Howell T H; Fiorellini J; Jones A; Alder M; Nummikoski P; Lazaro M; Lilly L; Cochran D. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Int J. Perio & Resto Dent*, 17:124-139, 1997.
132. Cochran D.L., Jones A.A, Lilly L.C, Fiorellini J.P., Howell H., Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in oral applications including the use of endosseous implants: 3-year results of a pilot study in humans. *J. Periodontol*, 71:1241–1257, 2000.
133. Matin K, Nakamura H, Irie K, Ozawa H, Ejiri S. Impact of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on residual ridge resorption after tooth extraction: an experimental study in the rat. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 16:400-411, 2001.

134. Brick KE, Chen X, Lohr J, Schmidt AH, Kidder LS, Lew WD. rhBMP-2 modulation of gene expression in infected segmental bone defects. *Clin Orthop Relat Res*, 467:3096-3103, 2009.
135. Wang CK, Ho ML, Wang GJ, Chang JK, Chen CH, Fu YC, Fu HH. Controlled-release of rhBMP-2 carriers in the regeneration of osteonecrotic bone. *Biomaterials*, 30:4178-4186, 2009.
136. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2007; *CA Cancer J Clin*, 57:43, 2007.
137. Seidman H, Mushinski M, Gelb S, et al: Probabilities of eventually developing or dying of cancer-United States. *CA Cancer J Clin*, 35-37, 1985.
138. Kapitola J, Zak J. Effect of Pamidronate on bone blood flow in oophorectomized rats. *Physiol Res*, 47:237-240, 1998.
139. Soydan S.S., Şenel F., Araz K. Bifosfonata bağlı olarak çene kemiklerinde gelişen osteonekrozun patogenezi ve tedavisi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 33:61-68, 2009.
140. Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D, Gagel RF, Gilsanz V, Guise T, Koka S, McCauley LK, McGowan J, McKee MD, Mohla S, Pendrys DG, Raisz LG, Ruggiero SL, Shafer DM, Shum L, Silverman SL, Van Poznak CH, Watts N, Woo SB, Shane E. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res*, 22:1479-1491, 2007.
141. Hoffmann F., Jung T., Felsenberg D., Glaeske G. Pattern of intravenous bisphosphonate use in outpatient care in Germany. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, 17:896-903, 2007.

142. Beytur L., Şimşek M., Sapmaz E., Yaşar A., Baydaş G. The Effects of Vitamin E and Hormone Replacement Therapy on Serum Leptin Levels of Female Rats After Ovariectomy, 23:145-149, 2009.
143. Tang Y, Tang W, Lin Y, Long J, Wang H, Liu L, Tian W. Combination of bone tissue engineering and BMP-2 gene transfection promotes bone healing in osteoporotic rats. *Cell Biol Int*, 32:1150-1157, 2008.
144. Şenel F.Ç, Duman M.K., Muci E., Çankaya M, Pampu A.A., Ersoz Ş., Günhan Ö. Jaw bone changes in rats after treatment with zoledronate and pamidronate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 109:385-391, 2010.
145. Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg*, 67:159-166, 2009.
146. Norihiko A., Tdashi I., Hideki A., Takao K., Noboru O. Effect of Bisphosphonates on the Healing Process of Tooth Extraction Wounds. *Hokkaido Journal of Dental Science*, 185-201, 2001.
147. Bauss F. Pfister T. Pappapoulos S. Ibandronate uptake in the jaw is similar to long bones and vertebrae in the rat. *J Bone Miner Metab*, 26:406-408, 2008.
148. Chiandussi S, Biasotto M, Dore F, Cavalli F, Cova MA, Di Lenarda R. Clinical and diagnostic imaging of bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaws. *Dentomaxillofac Radiol*, 35:236-243, 2006.
149. Rizzoli R, Burlet N, Cahall D, Delmas PD, Eriksen EF, Felsenberg D, Grbic J, Jontell M, Landesberg R, Laslop A, Wollenhaupt M, Pappapoulos S, Sezer O, Sprafka M, Reginster JY. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonate treatment for osteoporosis. *Bone*, 42:841-847, 2008.

150. Hansen T., Kunkel M., Weber A., Kirkpatrick J. Osteonecrosis of the jaws in patients treated with bisphosphonates – histomorphologic analysis in comparison with infected osteoradionecrosis. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 35:155-160, 2006.

151. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauday M, Cordes P, Harada T, Israel DI, Hewick RM, Kerns KM, LalPan P. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87:2220-2224, 1990.


152. Özeç Y, Öztürk M, Kılıç E, Yeler H, Göze F, Gümüş C. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on mandibular distraction osteogenesis. *J Craniofac Surg*, 17:80-83, 2006.

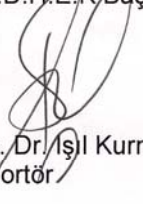
T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU


Doç. Dr. Nurhan Güler, Y. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi

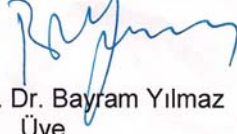
İlgi: 19. 01. 2009 tarihli yazınız.

Sorumluluğunu üstlendiğiniz "Ovarektomi sonrası Zolendronik asit ve Deksametazon uygulanan sıçanlarda BMP-2'nin yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin deneysel incelenmesi" isimli projenin Etik Kurul İlkelerine uygun olduğu, kurulun 20 Ocak 2009 tarihli toplantısında onaylanmıştır.

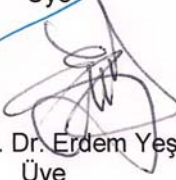

Prof. Dr. Ece Genç
Y.Ü.D.H.E.K. Başkanı


Doç. Dr. İşıl Kurnaz
Raportör


Prof. Dr. Kemal Şencift
Başkan Yardımcısı


Prof. Dr. Bayram Yılmaz
Üye


Sn. Yakup Yılmaz
Üye


Prof. Dr. Erdem Yeşilada
Üye


Sn Arif Sarıkaya
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Berkem Atalay, 30.09.1979 yılında İstanbul'da doğmuştur. İlköğrenimini F.M.V. Ayazağa Işık İlkokulu'nda, ortaokul ve lise öğrenimini F.M.V. Nişantaşı Işık Lisesi'nde tamamlamıştır. 1998 yılında girmiş olduğu Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden 2004 yılında mezun olmuştur. 2005 yılında Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'nda master eğitimine başlamış ve 2007 yılında mezun olmuştur. 2007 yılında başladığı doktora eğitimine devam etmektedir.