



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ZOLEDRONİK ASİT (ZOMETA) VERİLEN RATLARDA VİTAMİN D3'ÜN  
(1,25(OH)2D3) (CALCİTRİOL) DIŞ ÇEKİMİ SONRASI OSTEONEKROZ  
OLUŞMUŞ KEMİK ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Saim YANIK

DOKTORA TEZİ

AĞIZ, DIŞ VE ÇENE HASTALIKLARI CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DANIŞMANLAR

Doç. Dr. Mutan Hamdi ARAS

Prof.Dr. Sedat ÇETİNER

GAZİANTEP

2014

## **BEYAN**

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

28.04.2014

SAİM YANIK

T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
AĞIZ, DIŞ VE ÇENE HASTALIKLARI CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

ZOLEDRONİK ASİT (ZOMETA) VERİLEN RATLARDA VİTAMİN D3'ÜN  
(1,25(OH)2D3) (CALCİTRİOL) DIŞ ÇEKİMİ SONRASI OSTEONEKROZ  
OLUŞMUŞ KEMİK ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

SAİM YANIK

Tez Savunma Tarihi:28.04.014

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof.Dr. Mehmet Tarakçıoğlu

Bu tez çalışmasının bir “Doktora” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum. **Prof.Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ**

**Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı**

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Doktora” tezi olarak kabul edilmiştir.

**Doç.Dr. Mutan Hamdi ARAS**  
Tez Danışmanı

**Prof.Dr. Sedat ÇETİNER**  
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Doktora” tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi İmzası**

**Prof.Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ**

**Prof.Dr. Ahmet KESKİN**

**Prof.Dr. Sedat ÇETİNER**

**Doç.Dr. Mutan Hamdi ARAS**

**Doç.Dr. Kemal ÜSTÜN**

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince ve tezimin gerçekleşmesinde sonsuz desteğini ve engin hoş görüşünü esirgemeyen tez danışmanlarım Sayın Doç. Dr. Mutan Hamdi ARAS'a ve Prof.Dr. Sedat ÇETİNER'e

Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ'e,

Cerrahi eğitimim boyunca üzerimde çok emeği bulunan değerli hocam Prof. Dr. Sinan AY'a ve Doç. Dr. M. İsa KARA'ya,

Anabilim dalımızdaki diğer öğretim üyelerine,

Patoloji çalışmaları esnasında yardımlarını esirgemeyen Yrd.Doç.Dr.Zehra BOZDAĞ'a

Ayrıca laboratuvar çalışmaları süresince mesai saatlerinden dahi ödün vererek büyük bir özveriyle çalışmama yardımcı olan Veteriner Teknikeri arkadaşım Onur ÖZKAYA'ya

Ve maddi manevi desteğiylebu süreçte iyi ve kötü her anımda yanımda olan değerli eşim Dr. Selma YANIK'a

***SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM...***

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xv
RESİMLER LİSTESİ.....	xvii
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	3
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	9
2.1. Kemik Dokusu.....	9
2.2. Kemiğin Yapısı.....	9
2.3. Kemik Dokusunun Anatomisi.....	10
2.3.1. Kompakt Kemik.....	11
2.3.2. Spongiyoz Kemik.....	12
2.4. Kemik dokusunun mikroyapısal bileşenleri .....	13
2.4.1. Osteoprogenitör hücreler .....	14
2.4.2. Osteoblastlar .....	14
2.4.3. Osteositler .....	16
2.4.4. Osteoklastlar .....	16
2.5. Kemik İyileşmesi.....	17
2.5.1. Enflamasyon Safhası.....	17

2.5.2. Tamir Safhası.....	18
2.5.3. Remodeling Safhası.....	18
2.6. Biyokimyasal Tanı Yöntemleri.....	19
2.6.1. Kemik yapımıyla ilişkili biyokimyasal belirteçler.....	20
2.6.1.1 Alkalen fosfataz.....	20
2.6.1.2. Serum PINP ve serum PICP.....	21
2.6.1.3. Osteokalsin.....	21
2.6.2. Kemik yıkımı belirteçleri.....	22
2.6.2.1. Serum kalsiyumu.....	22
2.6.2.2. Tip-1 kollajen amino terminal çapraz bağlı telopeptit (NTX).....	22
2.6.2.3. Tip-1 kollajen karboksil terminal çapraz bağlı telopeptit (CTX).....	23
2.6.2.4. Pyd ve DPyd çapraz bağları.....	23
2.6.2.5. Tartara dirençli asit fosfataz (TRAP).....	23
2.6.2.6. Hidroksiprolin.....	24
3.1. Bifosfonatlar.....	24
3.2. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı.....	26
3.3. Etki Mekanizması.....	27
3.4. Bifosfonatların İskeletsel Etkisi.....	30
3.5. Antitümör Etki Mekanizması.....	31
3.5.1. Apoptosis.....	31
3.5.2. Tümör hücrelerinin ekstrasellüler kemik matriksine adhezyonunun ve invazyonunun engellenmesi.....	31
3.5.3. Antiangiogenik etkiler.....	33

3.6. Klinik Uygulamadaki Rolü.....	33
3.6.1. Osteoporos.....	34
3.6.2. Paget hastalığı.....	36
3.6.3. Malignitelerde bisfosfonatlar.....	36
3.6.3.1. Meme kanseri.....	36
3.6.3.2. Prostat kanseri.....	37
3.6.3.3. Multiple myeloma.....	38
3.6.3.4. Diğer maligniteler.....	38
3.7. Çocuklar için Bifosfonat Terapisi.....	38
3.8. Bifosfonat Tedavisi ile İlgili Klinik Kaygılar.....	40
3.8.1. Çenelerde görülen osteonekroz.....	40
3.8.2. Kemik turnoverının aşırı baskılanması.....	41
3.8.3. Hipokalsemi.....	41
3.8.4. Akut enflamatuar cevap.....	41
4.1. Vitamin D.....	42
4.2. Vitamin D Kaynakları.....	43
4.3. Vitamin D'nin Biyokimyası ve Fizyolojisi.....	44
4.4. Vitamin D'nin Metabolizması.....	44
4.5. Vitamin D Eksikliği ve Fazlalığı.....	46
4.6. Serum 25(OH) Seviyesi ve İlaç Etkileşimleri.....	47
4.7. Vitamin D Reseptörleri.....	47
4.8. Vitamin D Fonksiyonu.....	47
4.9. Kas ve İskelet Sistemi Dışındaki Etkileri.....	49

4.9.1.Kardiyovasküler hastalıklar.....	50
4.9.2. Diyabet.....	51
4.9.3.Kanser.....	51
4.9.4.Enfeksiyöz hastalıklar.....	52
4.9.5. Multiple skleroz ve parkinson hastalığı.....	53
4.9.6.Depresyon ve Kognitif Durum.....	54
4.9.7. Vitamin D ve obezite.....	54
4.9.8.Beyin gelişimi.....	55
4.9.9.Kronik böbrek hastalığı.....	55
4.9.10. Psöriazis.....	55
4.9.11. Vitamin D ve otoimmün hastalıklar.....	56
4.9.12.Pulmoner sistem.....	57
4.10.Vitamin D ve Bifosfonatlara Bağlı Çenelerde Görülen Osteonekroz.....	57
4.11.Vitamin D ve Diş Hekimliği ile İlişkisi.....	58
5. GEREÇ VE YÖNTEM	
5.1. Gereçler.....	60
5.1.1. Deney hayvanları.....	60
5.1.2. Grupların oluşturulması.....	60
5.2. Kullanılan Materyaller.....	62
5.2.1. Zoledronik asit.....	62
5.2.2. 1,25(OH) <sub>2</sub> vitamin D.....	62
5.3. Çenelerde Osteonekroz Oluşturma Protokolü.....	62
5.4. Cerrahi Yöntem.....	64



5.5. Post-Operatif Dönem.....	65
5.6. Osteonekroz Alanlarının Değerlendirilmesi.....	65
5.7. Biyokimyasal İnceleme.....	65
5.8. Histopatolojik ve Histomorfometrik İnceleme.....	66
5.9. İstatistiksel Analiz Yöntemi.....	68
6.BULGULAR.....	70
6.1.Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	70
6.2.Biyokimyasal Parametrelerin İstatistiksel Analizleri (10. Hafta).....	70
6.2.1. Osteokalsin.....	72
6.2.2. NTX.....	73
6.2.3. CTX.....	74
6.2.4. Vitamin D.....	75
6.2.5. ALP.....	76
6.2.6. Kalsiyum.....	77
6.2.7. Fosfor.....	78
6.2.8. FT3.....	79
6.2.9. FT4.....	80
6.3. Biyokimyasal Parametrelerin İstatistiksel Analizleri(15. Hafta).....	81
6.3.1. Osteokalsin.....	83
6.3.2. NTX.....	84
6.3.3. CTX.....	85
6.3.4. Vitamin D.....	86
6.3.5. ALP.....	87

6.3.6. Kalsiyum.....	88
6.3.7. Fosfor.....	89
6.3.8. FT3.....	90
6.3.9. FT4.....	91
6.4. Biyokimyasal Parametrelerin İstatiksel Analizi (17. Hafta).....	92
6.4.1. Osteokalsin.....	94
6.4.2. NTX.....	95
6.4.3. CTX.....	96
6.4.4. Vitamin D.....	97
6.4.5. ALP.....	98
6.4.6. Kalsiyum.....	99
6.4.7. Fosfor.....	100
6.4.8. FT3.....	101
6.4.9. FT4.....	102
6.5. Histopatolojik Analiz Sonuçları.....	103
6.5.1. Kontrol 10 Grubunun Histopatolojik Bulguları.....	103
6.5.2. Preoperatif 10 Grubunun Histopatolojik Bulguları.....	104
6.5.3. Postoperatif 10 Grubunun Histopatolojik Bulguları.....	105
6.5.4. Kontrol 15 Grubunun Histopatolojik Bulguları.....	106
6.5.5. Preoperatif 15 Grubunun Histopatolojik Bulguları.....	107
6.5.6. Postoperatif 15 Grubunun Histopatolojik Bulguları.....	108
6.5.7. Kontrol 17 Grubunun Histopatolojik Bulguları.....	109
6.5.8. Osteonekroz 17 Grubunun Histopatolojik Bulguları.....	110

6.6. Histopatolojik Parametrelerin İstatiksel Analizleri (10. Hafta).....	112
6.6.1. Osteoblast.....	112
6.6.2. Osteoklast.....	113
6.6.3. Enflamasyon.....	114
6.6.4. Histolojik Osteonekroz.....	115
6.6.5. Makroskopik Osteonekroz.....	116
6.7. Histopatolojik Parametrelerin İstatiksel Analizleri (15. Hafta).....	117
6.7.1. Osteoblast.....	119
6.7.2. Osteoklast.....	120
6.7.3. Enflamasyon.....	121
6.7.4. Histolojik Osteonekroz.....	122
6.7.5. Makroskopik Osteonekroz.....	123
6.8. Histopatolojik Parametrelerin İstatiksel Analizleri (17. Hafta).....	124
6.8.1. Osteoblast.....	126
6.8.2. Osteoklast.....	126
6.8.3. Enflamasyon.....	127
6.8.4. Histolojik Osteonekroz.....	128
6.8.5. Makroskopik Osteonekroz.....	129
7.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	131
8. KAYNAKLAR.....	156
ÖZGEÇMİŞ.....	196

## KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

Apppi	Trifosforikasit-adenozin-5-il ester3-[3-metilbut-3-enil]ester
BALP	Total ve Kemik Alkalen Fosfatazı
bFGF	Fibroblast büyüme faktörü
BMD	Bone Mineral Density
BP	Bifosfonat
BPs	Bisfosfonatlar
BRONJ	Bifosfonat Kullanımına Bağlı Çenelerde Görülen Osteonekroz
CFA	Complete Freund's adjuvant"
CTx	Karboksi Terminal Telopektid
DPyr	Deoksipiridinolin
ECM	Ekstraselüler Matris
FDA	Food and Drug Administration
FPP	Farnezil DifosfonatSentazı
HUVEC	Umbilikal damar endotelial hücreleri
Hyp	Hidroksipirolin
MMP	Matris Metaloproteinaz
MS	Multiple Skleroz
NTx	Amino Terminal Telopektid
N-BPs	Azot İçerikli Bisfosfonatlar
Non-N-BPs	Azot İçerikli Olmayan Bisfosfonatlar
OC	Osteokalsin

OI	Osteogenezis İmperfekta
PTH	Paratiroid Hormon
P1CP	Prokollajen Karboksi Terminal Peptid
P1NP	Prokollajen Amino Terminal Peptid
P1P	Prokollajen 1 Ekstansiyon Peptidleri
PPi	Pirofosfat
Pyr	Piridinolin
SAD	Mevsimsel Duygulanım Bozukluğu
TRAP	Tartarat-dirençli Asit Fosfataz
TGF- $\beta$ 1	Growth Faktörün
VDR	Vitamin D Reseptörü
WHI	Women's Health Initiative
1,25(OH) $_2$ D $_3$	1,25-dihidroksivitamin D $_3$
25(OH)D	25-hidroksivitamin D
24,25(OH) $_2$ D $_3$	24,25-dihidroksivitamin D $_3$
7DHC	7-dehidrokolesterol'e

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Kompakt Kemiğin Enine Kesiti

Şekil 2: Spongiyoz Kemiğin İçyapısı

Şekil 3: Kemik Hücreleri Ve Öncü Hücreler

Şekil 4: Kemik Hücreleri

Şekil 5: Osteoklastlar Tarafından Kemiğin Eritilişi

Şekil 6: Remodeling Siklusu

Şekil 7: Bifosfonatların Yapılarına Göre Sınıflandırılması

Şekil 8: Bisfosfonatın Yapısı Ve Osteoklast İnhibisyonu İçin Yaklaşık Göreceli Güçleri.

Şekil 9: Pirofosfat Ve Bifosfonatların Kimyasal Yapısı.

Şekil 10: N-BPS tarafından FFPS'in inhibisyonu.

Şekil 11: N-BPS tarafından mevalonat yolunun engellenmesi.

Şekil 12: Kolesterol, Ergosterin, Vitamin D2 (Ergokalsiferol) Ve Vitamin D3 (Kolekalsiferol)'ün Moleküler Yapıları.

Şekil 13: Vitamin D'nin Metabolizması.

Şekil 14: Vitamin D'nin Biyolojik Etkileri.

Şekil 15: Vitamin D Eksikliği'ne Ait Risk Faktörleri Ve İlişkili Hastalıklar

Şekil 16: Osteoklasın'ın Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 17: Ntx'in Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 18: Ctx'in Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 19: Vitamin D'nin Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü

Şekil 20: Alp'nin Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 21: Kalsiyum'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü

Şekil 22: Fosfor'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü

Şekil 23: Ft3'ün Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü

Şekil 24: Ft4'ün Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 25: Ostaoklasin'in Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 26: N-Telopeptid'in Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 27: C-Telopeptid'in Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü

Şekil 28: Vitamin D'nin Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 29: Alp'nin Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 30: Kalsiyum'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 31: Fosfor'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 32: Ft3'ün Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 33: Ft4'ün Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.  
Kalsiyum'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 34: Osteokalsin'in Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 35: Ntx'in Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 36: Ctx'in Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 37: Vitamin D'nin Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 38: Alp'nin Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 39: Kalsiyum'un Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü

Şekil 40: Fosfor'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü

Şekil 41: Ft3'ün Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 42: Ft4'ün Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü

Şekil 43: Osteoblast'ın Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 44: Osteoklast'ın Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 45: Enflamasyon'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 46: Histolojik Osteonekroz'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 47: Makroskopik Osteonekroz'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Ekil 48: Osteoblast'ın Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünü

Şekil 49: Osteoklast'ın Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 50: Enflamasyon'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 51: Histolojik Osteonekroz'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 52: Makroskopik Osteonekroz'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü



Şekil 53: Osteoblast'ın Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü

Şekil 54: Osteoklast'ın Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 55: Enflamasyon'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 56: Histolojik Osteonekroz'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

Şekil 57: Makroskopik Osteonekroz'un Gruplardaki Ortalama Değerlerinin Grafik Üzerindeki Görünümü.

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Deneklerin Gruplara Göre Dağılımı

Tablo 2: Osteonekroz Sahalarının Görsel Olarak Değerlendirilmesinde Kullanılan Skorlama

Tablo 3: Normalite Testi/ Shapiro-Wilk (10. Hafta)

Tablo 4: Vitamin D, Alp, Fosfor Ve Ft3 Değerleri

Tablo 5: Kruskal Wallis Testi

Tablo 6: Osteoklasın'ın Ortalama Değerleri

Tablo 7: Ntx'in Ortalama Değerleri

Tablo 8: CTX'in Ortalama Değerleri

Tablo 9: Vitamin D'nin Ortalama Değerleri

Tablo 10: ALP'nin Ortalama Değerleri

Tablo 11: Kalsiyum'un Ortalama Değerleri

Tablo 12: Fosfor'un Ortalama Değerleri

Tablo 13: FT3'ün Ortalama Değerleri

Tablo 14: FT4'ün Ortalama Değerleri

Tablo 15: Shapiro-Wilk Testi/Normalite Testi

Tablo 16: Vitamin D, ALP, Fosfor ve Osteokalsin Değerleri

Tablo 17: Kruskal Wallis Testi

Tablo 18: Osteoklasın'ın Ortalama Değerleri

Tablo 19: N-Telopeptid'in Ortalama Değerleri

Tablo 20: C-Telopeptid'in Ortalama Değerleri

Tablo 21: Vitamin D'nin Ortalama Değerleri

Tablo 22: ALP'nin Ortalama Değerleri

Tablo 23: Kalsiyum'un Ortalama Değerleri

Tablo 24: Fosfor'un Ortalama Değerleri

Tablo 25: FT3'ün Ortalama Değerleri

Tablo 26: FT4'ün Ortalama Değerleri

Tablo 27: Shapiro-Wilk Testi

Tablo 28: Vitamin D, Kalsiyum, Fosfor ve FT3 Değerleri

Tablo 29: Kruskal Wallis Testi

Tablo 30: Osteokalsin'in Ortalama Değerleri

Tablo 31: N-Telopeptid'in Ortalama Değerleri

Tablo 32: C-Telopeptid'in Ortalama Değerleri

Tablo 33: Vitamin D'nin Ortalama Değerleri

Tablo 34: ALP'nin Ortalama Değerleri

Tablo 35: Kalsiyum'un Ortalama Değerleri

Tablo 36: Fosfor'un Ortalama Değerleri

Tablo 37: FT3'ün Ortalama Değerleri

Tablo 38: FT4'ün Ortalama Değerleri

Tablo 39: Histolojik Olarak Osteonekroz Alanının, Enflamasyon Fazının, Osteoblast ve Osteoklast Sayılarının Ortalamalarının Gruplara Göre Değerlendirilmesi

Tablo 40: Shapiro-Wilk Testi/Normalite Testi

Tablo 41: Kruskal Wallis Testi

Tablo 42: Osteoblast'ın Ortalama Değerleri

Tablo 43: Osteoklast'ın Ortalama Değerleri

Tablo 44: Enflamasyon'un Ortalama Değerleri

Tablo 45: Histolojik Osteonekroz'un Ortalama Değerleri

Tablo 46: Makroskopik Osteonekroz'un Ortalama Değerleri

Tablo 47: Shapiro-Wilk Testi/Normalite Testi

Tablo 48: Osteoblast Ve Osteoklast Değerleri

Tablo49: Kruskal Wallis Testi

Tablo 50: Osteoblast'ın Ortalama Değerleri

Tablo 51: Osteoklast'ın Ortalama Değerleri

Tablo 52: Enflamasyon'un Ortalama Değerleri

Tablo 53: Histolojik Osteonekroz'un Ortalama Değerleri

Tablo 54: Makroskopik Osteonekroz'un Ortalama Değerleri

Tablo 55: Shapiro-Wilk Testi/Normalite Testi

Tablo 56: Osteoblast Değerleri

Tablo 57: Kruskal Wallis Testi

Tablo 58: Osteoblast'ın Ortalama Değerleri

Tablo 59: Osteoklast'ın Ortalama Değerleri

Tablo 60: Enflamasyon'un Ortalama Değerleri

Tablo 61: Histolojik Osteonekroz'un Ortalama Değerleri

Tablo 62: Makroskopik Osteonekroz'un Ortalama Değerleri

## RESİM LİSTESİ

Resim 1: Spongiyoz Ve Kortikal Kemik

Resim 2: Süngerimsi Ve Kortikal Kemik

Resim 3: Zoledronik Asit

Resim 4: Subkutan Vitamin D Enjeksiyonu

Resim 5: İ.p Deksametazon Enjeksiyonu

Resim 6:Ront Frezle Defkt Oluşturulması

Resim 7: Maksillada Bifosfonata Bağlı Osteonekrozun Görünümü

Resim 8: İntrakardiyak Kan Alınması

## ÖZET

### ZOLEDRONİK ASİT (ZOMETA) VERİLEN RATLARDA VİTAMİN D3'ÜN (1,25(OH)2D3) (CALCİTRİOL) DIŞ ÇEKİMİ SONRASI OSTEONEKROZ OLUŞMUŞ KEMİK ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Saim YANIK

Doktora Tezi, Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı

Tez danışmanları:

Doç. Dr. Mutan Hamdi ARAS

Prof.Dr. Sedat ÇETİNER

Nisan 2014, 217 sayfa

Bisfosfonatlar (BPs) osteoporoz, kemik metastazları ve multipl myeloma gibi çok sayıda kemiğe ait bozuklukların tedavisinde kullanılan farmasötik maddelerdir (1, 2). Bifosfonat moleküllerinden en güçlü olanı zoledronik asittir ve kemiğe ait bu tip hastalıklarda yaygın olarak kullanılmaktadır(3, 4). Bifosfonat kullanımına bağlı çenelerde görülen osteonekroz (BRONJ), çene kemiğinin nekrozu ile sonuçlanan patolojik bir komplikasyondur. Vitamin D; kalsiyum, fosfor ve kemik metabolizmasının en önemli fizyolojik düzenleyicilerinden birisidir ve bu metabolizmasını paratiroid bezler, kemik, bağırsak ve böbrek üzerine gösterdiği etkilerle düzenler(5). Bu çalışmanın amacı sistemik zoledronik asit uygulamasına bağlı meydana gelen BRONJ'un tedavisinde 1,25(OH)2D3'ün etkinliğinin araştırılmasıdır. Çalışmada 90 adet, 5 aylık, erkek, Wistar Albino rat kullanılmıştır. Ratlar; kontrol, 3 adet çalışma ve sham olmak üzere beş gruba ayrıldı. Sham grubu hariç bütün hayvanların üst çenelerinde osteonekroz (BRONJ) oluşturuldu. Çalışma gruplarına ise preoperatif, postoperatif ve osteonekroz sonrası dönemlerde vitamin D3 verildi. Tüm hayvanlar 10, 15 ve 17. haftalarda sakrifiye edildi. Bütün deneklerden biyokimyasal analizler için kan örneği ve histopatolojik çalışmalar için maksiller kemiklerinden specimen alındı. Alınan örnekler üzerinde histopatolojik ve biyokimyasal analizler yapıldı. Kontrol 15 grubunda NTX değeri, postoperatif-15 (p=0.050) ve sham (p=0.008) gruplarına göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır. NTX seviyesi 17. haftada sham grubunda, kontrol-17 (p=0.020) ve osteonekroz-17 (p=0.034) gruplarına göre daha yüksek çıkmıştır. Preoperatif-15 grubunda vitamin D seviyesi,

postoperatif-15 ( $p=0.032$ ), kontrol-15 ( $p=0.006$ ) ve sham ( $p=0.012$ ) gruplarına göre daha yüksek çıkmıştır. Postoperatif-10 grubunda kalsiyum seviyesi, preoperatif-10 ( $p=0.012$ ) ve kontrol-10 ( $p=0.019$ ) gruplarına göre daha yüksek çıkmıştır ve ayrıca kalsiyum seviyesi osteonekroz-17 grubunda kontrol-17 ( $p=0.001$ ) ve sham ( $p=0.002$ ) gruplarına göre daha yüksek çıkmıştır. CTX seviyesinde 10, 15 ve 17. haftalarda sakrifiye edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmamıştır. Benzer sonuçlar alkalen fosfataz (ALP) ve osteokalsin değerlerinde de elde edilmiştir.

Osteoblast sayısı postoperatif-15 grubunda, preoperatif-15 ( $p=0.001$ ) ve kontrol-15 ( $p=0.002$ ) gruplarına göre daha düşük çıkmıştır. Kontrol-10 grubunda istatistiksel olarak osteoklast sayısı preoperatif-10 ( $p=0.010$ ) ve postoperatif-10 ( $p=0.026$ ) gruplarına göre daha düşük çıkmıştır. Osteoklast sayısı osteonekroz-17 ( $p=0.023$ ) grubunda kontrol-17 grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek çıkmıştır. Preoperatif-10 grubunda enflamasyon istatistiksel olarak kontrol-10 ( $p=0.025$ ) grubuna göre daha yüksek çıkmıştır. Postoperatif-15 grubunda histolojik osteonekroz kontrol-15 ( $p=0.034$ ) grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük çıkmıştır. Makroskopik osteonekroz kontrol-17 grubunda osteonekroz-17 ( $p=0.011$ ) grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek çıkmıştır.

**Anahtar sözcükler:**Vitamin D3, Osteonekroz, Zoledronik Asit, Maksilla, Rat

## **ABSTRACT**

### **INVESTIGATING THE EFFECT OF VITAMIN D3 (1,25(OH)2D3) (CALCITRIOL) ON THE OSTEONECROSIS OF BONE INDUCED AFTERTOOTH EXTRACTION ON THE RATS HAVE GIVEN ZOLEDRONIC ACID (ZOMETA).**

Doctoral Thesis, Department of Oral and Maxillofacial Surgery

Supervisors:

Assist. Prof. Dr. Mutan Hamdi ARAS Prof. Dr. Sedat ÇETİNER

April 2014, 217 pages

Bisphosphonates (BPs) are pharmaceutical agents that used in the treatment of many bone disorders such as osteoporosis, bone metastases and multiple myeloma. Zoledronic acid is the most potent molecule and it is used commonly treatment of these diseases. BRONJ is a pathological complication resulting bone necrosis that associated with the use of bisphosphonates and encounter in jaws. Vitamin D is one of the most important physiological regulators of bone homeostasis via regulating calcium and phosphorous metabolism, and regulating this metabolism has an effect on the parathyroid glands, the bones, the intestines, and the kidneys. The purpose of this study, investigate the efficacy of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> on treatment of BRONJ which induce systemic administration of zoledronic acid. In the study, ninety, 5 months old, male, Wistar albino rats were used. The animals were divided into five groups; a control group, three study groups, and a sham group. All animals except the sham group, osteonecrosis (BRONJ) was created in the upper jaw. Vitamin D<sub>3</sub> was given study groups preoperatively, postoperatively, and after the osteonecrosis. All the animals were sacrificed as follows at the 10th, 15th, and 17th weeks. Blood samples were taken from all the subjects for biochemical analysis and specimen was taken from maxillary bone for histopathological studies. histopathological and biochemical analyzes were performed. The control-15 group had a lower N-telopeptide (NTX) level, which was statistically significant compared to the postoperative-15 (p=0.050) and the sham (p=0.008) groups. The NTX levels were



significantly higher in the sham group in comparison to the control-17 ( $p=0.020$ ) group and the osteonecrosis-17 ( $p=0.034$ ) group. The preoperative-15 group showed significantly higher vitamin D levels compared with the postoperative-15 ( $p=0.032$ ) group, the control-15 ( $p=0.006$ ) group, and the sham ( $p=0.012$ ) group. The postoperative-10 group showed significantly higher calcium levels in comparison to the preoperative-10 ( $p=0.012$ ) group and the control-10 ( $p=0.019$ ) group; moreover, the calcium levels were significantly higher in the osteonecrosis-17 group in comparison to the control-17 ( $p=0.001$ ) group and the sham ( $p=0.002$ ) group. The CTX levels were not statistically significant in all the groups that were sacrificed at the 10th, 15th, and 17th weeks. This same tendency was observed for the alkaline phosphatase (ALP) and osteocalcin parameters.

The postoperative-15 group had a lower osteoblast number, which was statistically significant as compared to the preoperative-15 ( $p=0.001$ ) and control-15 ( $p=0.002$ ) group. The control-10 group showed significantly lower osteoclast number in comparison to the preoperative-10 ( $p=0.010$ ) and postoperative-10 ( $p=0.026$ ) group. The osteoclast number was significantly higher in the osteonecrosis-17 ( $p=0.023$ ) group as compared to the control-17. The preoperative-10 group showed significantly higher inflammation in comparison to the control-10 group ( $p=0.025$ ). The postoperative-15 group had a lower histologic osteonecrosis, which was statistically significant as compared to the control-15 ( $p=0.034$ ) group. The macroscopic osteonecrosis was significantly higher in the control-17 group in comparison to the osteonecrosis-17 ( $p=0.011$ ) group.

**Key words:** Vitamin D3, Osteonecrosis, Zoledronic Acid, Maxilla, Rat

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Dünyada ve Türkiye’de kanser, en önemli ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Gelişmiş ülkelerde güçlenen sağlıklı yaşam bilincinin ve erken tanının yanısıra, geliştirilen etkili ve yenilikçi ilaç ve tedavilerinin son zamanlarda kanserin ölüm nedenleri arasındaki oranını azalttığı bildirilmektedir (6). Kanser hastalarının tedavisini cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi tedavi alternatiflerini oluşturmaktadır. Bu tedavi alternatifleri zaman zaman tek başlarına uygulanabildiği gibi kombine bir şekilde de kullanılabilir. Özellikle multiple myeloma, osteoporoz, meme kanseri ve prostat kanserinin tedavisinde bifosfonat (BP) kullanımı yaygındır (7). Kanser tedavisi veya osteoporozisin tedavisinde kullanılan BPs pyrofosfatların stabil analogu olup 30 yılı aşkın bir süredir anti-resorptif ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçların FDA tarafından ilk onayından bu yana osteoporozisin tedavisinde önemli bir ilaç olduğu kanıtlanmıştır. İkiz fosfonatlar olarak bilinen son nesil en güçlü bileşiklerdir ve zoledronik asit içlerinde en güçlü etkiye sahip olanıdır. Bifosfonatlar osteoklastik kemik rezorpsiyonunun en güçlü inhibitörleridir ve geniş oranda osteoporozisin, malign hiperkalseminin, multiple myelomunun, kemik metastazı yapan göğüs, prostat, akciğer ve diğer yumuşak doku tümörlerinin tedavisinde kullanılır(6,7).Bifosfonatların etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu ilaçlar kemik yüzeyine yapışır, buradan osteoklastlar tarafından emilir ve osteoklastlar ve diğer kemik hücrelerini etkileyerek bunların rezorpsiyon özelliklerini ve yaşam süresini değiştirirerek(8). Kemik rezorpsiyonunu inhibe ederler. Bifosfonatlar aktif kemik formasyonunun olduğu bölgede birikir ve bu bölgenin osteoklastlar tarafından bozulmasına daha dirençli hale getirir. Bu ilaçlar osteoklastlar tarafından spesifik hücre yolunda özümser, osteoblastlardan gelen iletiyi osteoklastlara iletir ve osteoklastların inaktivasyonunu ve apoptozisini sağlar(8,9). Yapılan başka çalışmalarda ise BPs’in endotelial hücre proliferasyonunu ve kapiller neoangiogenezi etkileyerek antiangiyojenik özelliklerini göstermişlerdir. Bifosfonatların uniform şekilde kalması, antiosteoklast ve antiangiyojenik etkileri osteonekrozis için potansiyel risk oluşturur. Vasküleritenin azalması ve bu etkilerin uzun süre devam etmesi kemik turnoverını ve remodeligini etkiler. Bifosfonatların önemli yan etkileri 2003 yılına kadar oral alıma bağlı olarak gastrointestinal intoleransın sınırlanması ve iv alıma bağlı olarakta influenzaya benzer sendromların olmasıdır(10).

Bifosfonatların BRONJ ile olan ilişkisi ilk defa 2003 yılında Marx tarafından rapor edilmiştir(11) ve bundan sonra birçok vaka bildirilmiştir. Ciddi komplikasyonlar sıklıkla iv zoledronate (zometa) veya pamidronate (aredia) kullanımına bağlı olarak meydana gelir(1, 11). Ancak osteonekroz vakaları uzun süreli oral alendronate kullananlarda olduğu rapor edilmiştir(11, 12).

Çeşitli profesyonel dernekler tarafından yapılan tanıma göre BRONJ; daha önceden BP'a maruz kalmış veya halen alınıyor olan, kraniofasiyal bölgeden radyasyon terapisi almamış, maksillofasiyal bölgede fark edildikten sonra 8 hafta içinde iyileşmeyen açığa çıkmış kemik alanıdır(13).

BRONJ insidansı en fazla kemiği ilgilendiren dental girişimler özellikle diş çekiminden sonra görülür. Dental girişimlerden sonra periodontitisli hastalar ve kortikosteroid tedavisi alanlarda sıklıkla görülür(1,10,11). Diğer predispozan faktörler ise oral torus ve exostoslar, oral dokulara gelen travma ve lingual sekestrasyondur. Anatomik ve fizyolojik özelliklerinden dolayı BRONJ mandibulada maxillaya oranla 2 kat daha fazla görülür(10, 14) ve i.v yüksek doz nitrojen içerikli BP kullanan hastalarda ise görülme sıklığı % 6-10 oranındadır(10, 11).

BRONJ nin gelişiminin patofizyolojisi ve doğal hikâyesi tam olarak bilinmemektedir. BRONJ çoğu vakada, immünoşüpresif kemoteröpatik ajanlarla birlikte yüksek dozda bifosfonat kullanan hastalarda görülmektedir. Bifosfonatın çenelerde aşırı tutulumuna bağlı olarak kemik turnoverının oversupresyonu ve kan akımında buna uyum göstermesi lezyonun gelişimindeki ilk olaydır(15). Buna ek olarak yara iyileşmesinin inhibisyonu, cerrahi travma, oral kavitenin spesifik anatomisi, mikrobiyal floranın değişmesi ve devam eden enflamatuvar process potansiyel katkıda bulunan diğer faktörlerdir(1, 16).

BRONJ nin gelişiminde farklı bölgelerdeki kemiklerin fizyolojisinde etkili olmaktadır. Kraniofasiyal kemikler uzun kemiklerden gelişimsel olarak farklılık gösterirler; nöral krestten köken alırlar ve formasyon mekanizmaları intramembranözdür. Matrix kompozisyonundaki, kemik morfojenetik protein ekspresyonundaki, osteoklastik kemik yıkımındaki ve kemik iliği hücresel kompartmanındaki farklılıklar rapor edilmiştir ve farklı anatomik bölgelerde kemik turnoverı ve mekanik özelliklerinde fonksiyonel farklılıklar olduğu savunulmaktadır(17).

Kanser nedeni ile veya osteoporos tedavisi amacıyla bifosfonat tedavisi görmüş hastalarda meydana gelen BRONJ son zamanlarda karşılaşılan sıklığı artan ve yaşam kalitesini ciddi bir şekilde etkileyen bir durumdur. Çenelerde oluşan osteonekroz, hastanın günlük fonksiyonlarını, beslenmesini ve yaşam kalitesini etkiler. Ayrıca hastanın planlanan tedaviyi tolere etme yeteneğini riske sokabilir, dozların atlanmasına ya da dozun azaltılmasına neden olabilir. Bunlara ek olarak yaygın nekrotik bölgelerin görülmesini, fırsatçı enfeksiyon gelişme riskini ve sepsis nedeniyle mortaliteyi artırır. Ayrıca hastanede yatma süresinin uzamasına ve tedavinin maliyetinin artmasına yol açar. Bifosfonat tedavisi sırasında veya sonrasında diş çekimine bağlı olarak çenelerde nekrotik alanlar görülmeye başlayabilir. Ağrı, koku ve fonksiyonda yetersizlik görülür. Fonksiyon yetersizliği sonucunda da kötü beslenme ve kilo kaybı görülür. Osteonekrozlar gibi yaşam kalitesini olumsuz olarak etkileyen komplikasyonlar ayrıca hastanın psikolojine de olumsuz etki etmekte ve ciddi bir moral bozukluğuna ve depresyona da yol açmaktadır. Bu şekilde kanser tedavisinin sürecine de olumsuz etki etmektedir.

BRONJ nin tedavisi hem zorlu hemde tartışmalıdır. Şuanki fikir birliği primer olarak antibiyotik, analjezik, klorheksidinli ağız gargarası, iyi oral hijyen ve yüzeysel debritlemdir(1, 18). Ancak tedaviye rağmen varlığını sürdürebilmekte hatta ilerleyerek ciddi kemik nekrozlarına sebep olabilmektedir. Bazı yazarlara hiperbarik oksijen tedavisi başarılı olmakta (19, 20), fakat bir kısım araştırmacı bu tedavinin az başarı oranına sahip olduğunu söylemektedir(21, 22). İlerlemiş ve semptomatik mandibular osteonekroz vakalarında kemik rezeksiyonunu takiben immediate rijit plakla rekonstrüksiyon ve yumuşak doku grefti gerekmektedir(23, 24).

Vitamin D, hormon benzeri fonksiyonları olan bir grup steroldür. Yağda eriyen vitaminler arasında bulunmaktadır(25). Vitamin D kemik gelişimi ve kalsiyum homeostazı için vazgeçilmezdir. Vitamin D'nin en önemli etkisi kalsiyum, fosfor ve kemik metabolizması üzerinedir ve serum kalsiyum seviyesinin düzenlenmesinde paratiroid hormon (PTH) ile sinerjik etki gösterir(26).

Ayrıca vitamin D hormon gibi fonksiyon görerek kolon kanseri, prostat kanseri, akciğer kanseri gibi kanserleri, Multipl Skleroz, Tip 1 Diyabet, Crohn Hastalığı, Metabolik Sendrom gibi otoimmün hastalıkları ve tüberküloz gibi enfeksiyon hastalıklarını önlemede anahtar rol oynamaktadır(27-29).

Bunun yanında vitamin D'nin apoptozisi düzenlediği, malignant hücre büyümesi ve çoğalmasını kontrol ettiği ve anjiogenezisi inhibe ettiği öne sürölmektedir(30). Vitamin D'nin 37 metaboliti mevcut olup bunlardan en iyi bilinen iki formu Vitamin D3 (kolekalsiferol-C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O) ve Vitamin D2 (ergokalsiferol-C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O) dir(31). Vitamin D yan zincirindeki farklılık nedeniyle değişik formlara sahiptir ve biyolojik olarak inaktiftir. Vitamin D'nin 25 hidroksi (25(OH)D) ve 1,25 dihidroksi (1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D) metabolitleri mevcut olup bunlardan 1 $\alpha$ ,25 dihidroksikolekalsiferol (1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) aktif formdur. Yapılan araştırmalar insan vücudunda vitamin D<sub>3</sub>'ün vitamin D<sub>2</sub>'ye göre çok daha etkili olduğunu göstermiştir(32).

Bu bilgiler ışığında zoledronik asit ve deksametazon verilerek osteonekroz oluşturulması planlanan bu çalışmamızda, ratlara diş çekimi öncesi, çekim sonrası ve osteonekroz oluştuktan sonra 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> verilerek, bu ilacın çenelerde meydana gelen osteonekroza ve kan parametreleri üzerine olan etkinliği histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırılmıştır.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1.Kemik Dokusu**

Kemik dokusu, vücudun iskeletini oluşturan, yapısında bulundurduğu farklı hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik tuzların çökeldiği, ekstraselüler matris, lif ile birlikte hücrelerden oluşan, sağlamlık ve esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış özelleşmiş bir bağ dokusu türüdür (33, 34). Kemigin iki ana görevi vardır. Birincisi destek dokusu olarak stabiliteyi sağlamak, ikincisi ise kalsiyum ve fosfat gibi minerallerin de deposu olduğundan, metabolik olarak vücut sıvılarındaki kalsiyum dengesini sağlamada kaynak görevini görmektedir(35). Kendisini çevreleyen kas dokularının yapışmasını sağlayarak, kaslara ve organlara destek görevi yapar ve organı dış etkenlere karşı korur. Yetişkin iskeletinin ana yapısını oluşturan kemik dokusu, hareket fonksiyonunda çok önemli bir yere sahiptir. Vücudun desteklenmesine yardım eder, kafatası ve göğüs kafesi gibi boşluklarında bulunan vital organları korur. Bunun yanında destek ve dayanıklılığa yardım etmesine karşın hafiftir ve vücut ağırlığının yaklaşık onda birini oluşturur. Kemik son derece dayanıklı ve kırılmaya karşı dirençli olmasına karşın esnek ve elastik bir yapıya sahiptir. Kemik yapısal olarak kayba uğradığında kendi kendini yenileyebilen bir organdır (36, 37).

### **2.2. Kemiğin Yapısı**

Kemiğin yaklaşık %8'i su ve %92'si katı materyaldir. Bu katı materyalin %21'i organik matriks ve %71'i inorganik matriksten (kalsiyum, potasyum, sodyum, magnezyum, karbonat ve fosfat) oluşur (38).

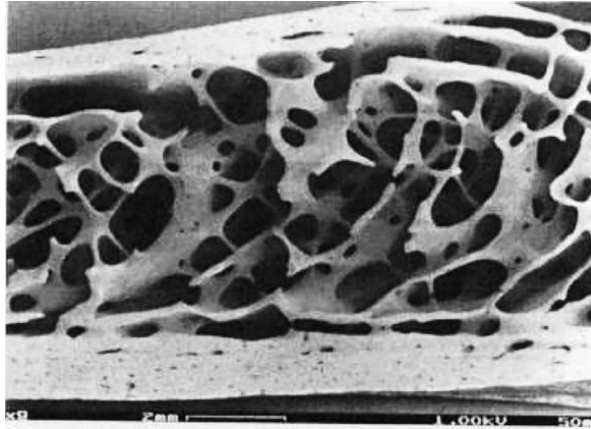
Kemik ekstraselüler matriks ve lif ile birlikte hücrelerden oluşan bir yapıdır. Bu ekstraselüler matriks iki fazdan oluşmaktadır(33); a) Kollajen lifler (Tip I), protein ve glikosaminoglikanlardan oluşan osteoidler yani organik faz, b) Kalsiyum fosfattan oluşan mineral yani inorganik faz. Lif yapı ise kollajenden (çoğunluğu tip I, az miktarda tip III ve Tip VI) oluşmaktadır ve kemiğin ana bileşenini oluşturur(39). Lifler gelişmiş bir kemik dokuda hidroksiapatit kristalleri aralarında yerleşmiş olup, paralel ve belirli aralıklarla porlar bırakacak şekilde yerleşiktir. Kemiğin temel cismi hücresel ve fibröz

elemanlar arasında destek ve yapışkanlık sağlar. Ayrıca büyüme, tamir ve remodeling için gerekli hücre metabolik işlevlerde aktif rol oynar. Organik matriksin temel elemanları dayanıklılığı sağlamakla birlikte, kemiğe belirli düzeyde esneme özelliği de verirler (37, 40).

Kemik dokunun inorganik bileşenlerinin başında kalsiyum ve fosfat gibi maddeler gelir ve bu maddelere ilave olarak sitrat, magnezyum, sodyum, sülfat ve flor gibi mineral bileşenler de inorganik matriks içerisinde bulunmaktadır. Bu ana bileşenler hidroksiapatit kristalleri şeklinde olup, kemik kollajenlerinin yanında amorf madde ile birlikte iç içe organize olmuşlardır. Hidroksiapatit kristallerinin önemi, kollajenlerle birlikte kemiğin sertliğini ve dayanıklılığını sağlamasıdır(37, 40, 41).

### 2.3. Kemik Dokusunun Anatomisi

Kemik makroskobik olarak incelendiğinde substansiya kompakta (kompakt kemik) ve substansiya spongiyosa (spongiyöz kemik) olmak üzere iki farklı kısım olarak ayırt edilir (Resim 1)(42). Kemiklerin çoğunda her iki kemik yapıda bulunur ve miktar ve dağılımının oranı yaşa ve görülen işleve bağlı olarak değişir (43).



**Resim 1:**Spongiyöz ve kortikal kemik (44)



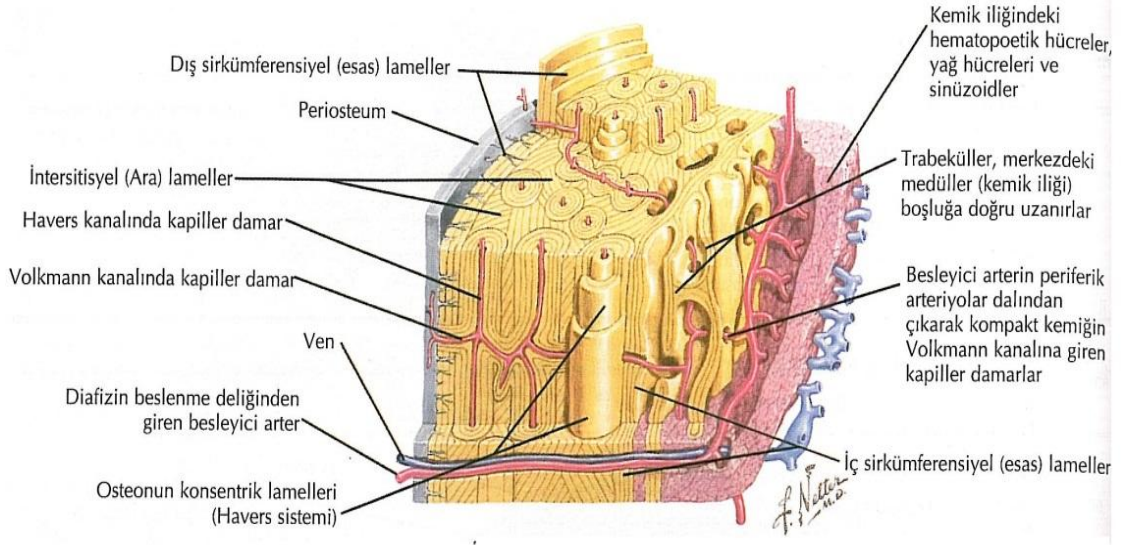
**Resim 2:** Süngerimsi ve kortikal kemik

(<http://depts.washington.edu/bonebio/ASBMRed/cells.html>).

### **2.3.1. Kompakt kemik**

Kompakt kemik, esas olarak uzun kemiklerin şaftlarında (diyafizlerinde)ve ayrıca yassı kemiklerin ise iç ve dış tabakalarında bulunur. Kompakt kemik, küçük boşlukların yoğun olduğu, birbirine komşu, enine kesitte oval ya da yuvarlak görünen, kemiğin uzun eksenine paralel olan ve osteon veya harvers sistemi olarak adlandırılan yapısal birimlerden oluşmaktadır. Osteon, kollajen liflerden oluşan lamel olarak adlandırılan konsantrik matriks halkalar içerir. Havers kanalının içerisinde küçük kan damarları ve sinir fibrilleri bulunur. Volkmann kanalları harvers kanallarına dik bir şekilde açılarak girerler ve havers kanallarını birbirine bağlarlar. Ayrıca volkmann kanalları osteondaki kan damarları ve sinir lifleri arasında bağlantıyı da kurarlar. Olgun kemik hücreleri veya osteositler her lamel halkasının bir sonraki ile birleştiği yerde bulunan lacunea adı verilen boşluklarda bulunurlar (Resim 2)(Şekil 1)(36, 43).

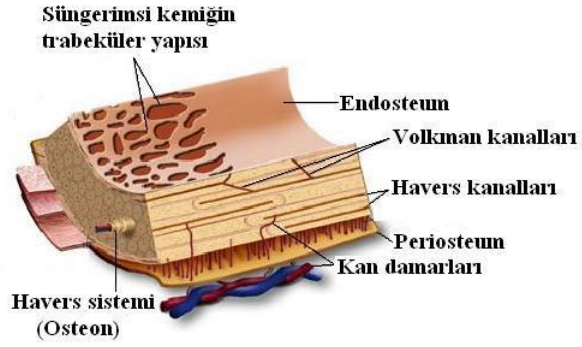




**Şekil 1.** Kompakt kemiğin enine kesiti

### 2.3.2. Spongiyoz kemik

Spongiyoz kemik esas olarak uzun kemiklerin uçlarında, ayrıca vertebraların gövdeleri ve düz kemiklerde de bulunur. Spongiyoz kemik, düzensiz ince kemik plakalardan oluşan trabeküllerin anastomozlaşarak oluşturduğu süngerimsi bir yapıdır. Spongiyoz kemik, Havers sistemlerinden yoksundur ve yapısında çok sayıda boşluk bulundurmaz. Kemik trabeküllerinin araları endosteumla örtülmüştür ve arasındaki boşluklarda kemik iliği bulunur. Trabeküller birbirine canalucili aracılığı ile bağlanan lameller içermektedir (Şekil 2) (36, 43, 45).



**Şekil 2:**Spongiyoz kemiğin içyapısı

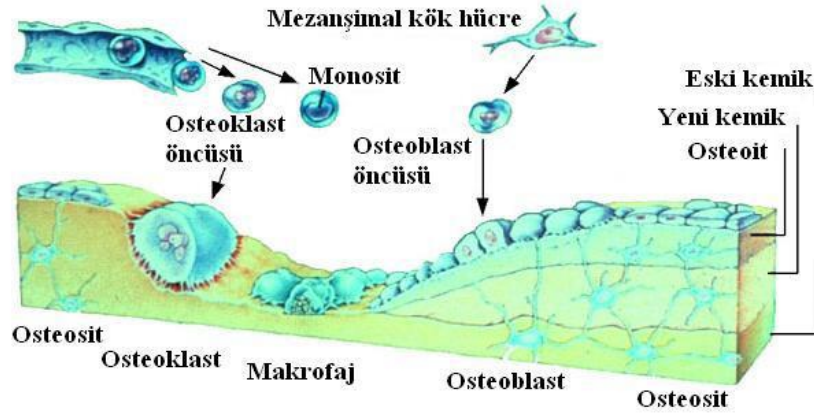
(<http://ocw.mit.edu/OcwWeb/Health-Sciences-and-Technology/HST-523JSpring-2004/CourseHome/index.htm>)

#### **2.4.Kemik dokusunun mikroyapısal bileşenleri**

Kemiğin mimarı yapısının oluşmasında, rezorpsiyonunda ve bu yapının devamlılığının korunmasında farklı hücreler görev alır. Kemikte herbiri ayrı fonksiyona sahip iki farklı soyda hücre vardır(46).

- Osteojenik hücreler
- Osteoklastlar

Osteojenik hücreler, kemiğin oluşmasından ve devamlılığının korunmasından sorumlu olan osteoprogenitörler, preosteoblastlar, osteoblastlar, osteositler ve kemik yüzeyini döşeyen hücrelerden oluşur (Şekil 3) (47).



**Şekil 3:**Kemik hücreleri ve öncü hücreler

(<http://www.roche.com/pages/facets/11/ostedefe.htm>)

#### 2.4.1. Osteoprogenitör hücreler

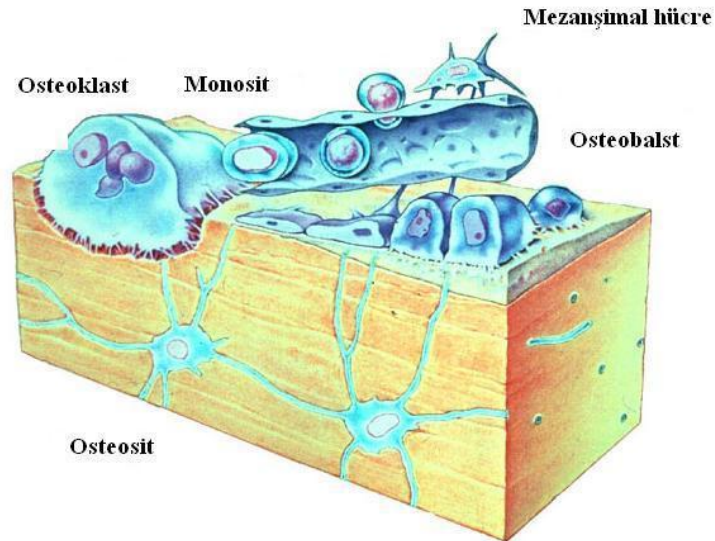
Osteoprogenitör hücreler kemiğin ana hücrelerinden olup mezenşim kaynaklıdır. Mitoz bölünme yeteneğine sahip olan bu hücreler endosteumda, periostun iç yüzeyinde ve havers kanallarında bulunurlar. Bu hücreler kemiklerin normal büyümesi sırasında aktiftirler ve olgun kemik hücrelerine farklılaşma kapasitesine sahiptirler(47). İki tip osteoprogenitör hücre bulunmaktadır ve bunlardan birincisi (preosteoblastlar) osteoblastlara, ikincisi ise osteoklastlara dönüşürler (48). Bu hücreler tekrar oluştukları osteoprogenitör hücrelere dönüşebilmektedirler.

#### 2.4.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar, kemik iliğinde, mezenkimal progenitör hücrelerinden gelişirler. Kemik matriksinin organik kısmının (Tip I kolajen, preteoglikanlar ve glikoproteinler) yapımından ve inorganik maddelerin kemiğe çökmesinden sorumlu hücrelerdir. Histolojik olarak, aktif osteoblastlar kemik yüzeyinde tıbbul, kübik ve iyi gelişmiş belirgin endoplazmik retikulumlu (protein sentezleyen hücrelerin karakteristik özelliği) hücreler şeklinde görünürler(34, 49). Preteoglikan ve prokollajen sunduğuna inanılan, multiple golgi yığını, vezikül ve vakuollardan oluşan büyük golgi kompleksine sahiptir ve mitokondrileri çok sayıdadır. Geniş ovoid çekirdek dış merkezli olarak yerleşmiştir. Hücre yüzeyinde az miktarda kısa, mikrovilluslar vardır(50). Yeni oluşan kemik matriks hemen kalsifiye olmaz. Bu nedenle, osteoid olarak bilinen kalsifiye olmamış matris, aktif kemik oluşturan osteoblastların regülasyonu altında

bulunmaktadır.Osteoid miktarı osteoblastlar kemik oluşturma aktivitesi ile yakından ilişkilidir.Osteoblastlar plazma zarı üzerinden yoğun bir alkalın fosfataz aktivitesi gösterir.Bu özellik, histokimyasal olarak osteoblast-kök hücreleri için bir marker olarak kullanılmaktadır.Pasif kemik yüzeyleri genellikle 'bone lining hücreleri' olarak adlandırılan düzleşmiş, inaktif osteoblast tabakası ile kaplıdır.Osteoblastlar ya da bunların pregenitörlerinde, paratiroid hormonu, 1,25-dihidroksivitamin D, cinsiyet steroidleri ve kortikosteroidler de dahil olmak üzere çok sayıda hormon için reseptör bulunmaktadır(51).Osteoblastlar metabolik olarak aktif salgılayıcı hücrelerdir. Osteoblastlar % 90 oranında Tip I ve az miktarda Tip V kollajen salgılamasının yanı sıra geniş oranda büyüme faktörleri ve sitokinlerinde salgılanmasında görev alırlar.Bunlar; çözünebilen sinyal faktörleri (kemik morfojenetik proteini (BMP), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF), insülin benzeri büyüme faktörleri (ILGF), interlökin (IL), trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (PDGF) )'dir ve bu faktörler hücre metabolizmasını düzenler (46).

Kemik oluşumu sırasında bazı osteoblastlar çevrelerindeki biriken matris tarafından yutulur ve osteositlere farklılaşırlar.Osteositlerin kemik yüzeyindeki hücreler arasında iletişimi sağlayarak, kemikte olağanüstü mekanik yanıt oluşturduğu düşünülmektedir (Şekil 3,4) (51).



**Şekil 4:**Kemik hücreleri

(<http://www.roche.com/pages/facets/11/ostedefe.htm>).

### 2.4.3. Osteositler

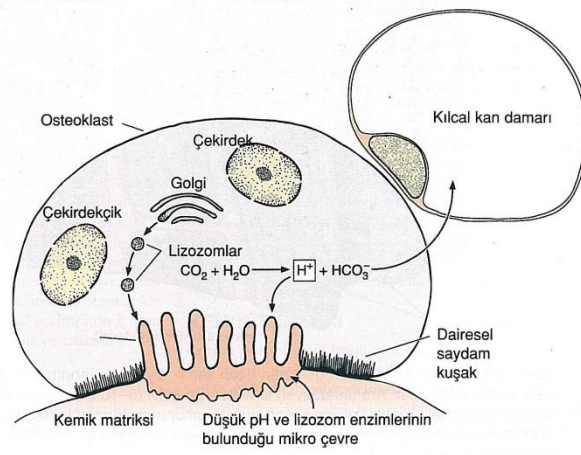
Osteositler, kemiğin esas hücresi olup, osteoid kalsifikasyonu esnasında bazı kemik içerisinde kalan osteoblastlardan gelişirler (52). Osteositler matriksin kanalcıkları arasındaki lakünelarda bulunurlar. Her laküne içinde 1 osteosit bulunur. Osteositlerin, kemiğin diğer hücre tiplerine dönüşebilme özelliği vardır. Osteositlerin kalsiyumun kemiklerden kana verilmesinde ve hameostatik mekanizmayı düzenleme gibi önemli metabolik rolleri de vardır(40). Ayrıca bu hücrelerin, gelişmiş kanaliküler sistemleri sayesinde oksijen ve metabolitlerin (kalsiyum) geçişini sağlayarak kemiğin beslenmesinde önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir (37, 41).

Gelişimlerini tamamlamış olduklarından sentez yapamazlar ve bu nedenle, epeyce azalmış granüllü küçük endoplazmik retikulum ve golgi kompleksleri vardır. Osteoblastlar ile karşılaştırıldıklarında yassı elips şeklindeki osteositlerin çekirdekleri daha küçüktür ve daha koyulaşmış çekirdek kromatini sergilerler. Bu hücreler aktif olarak kemik matriksinin devamlılığında sorumludurlar ve ölümlerini takiben matriks erimesi görülür(36, 43). Osteositlerin yaşam ömrü birkaç yıldır ve son ürün oldukları için yenilenemezler (Şekil 3,4) (50).

### 2.4.4. Osteoklastlar

Osteoklastlar, hareket edebilen, çok çekirdekli (5 ila 50 ) dev hücrelerdir. Kemiğin minerallerini ve hücreler arası maddesinin rezorbsiyonundan sorumludurlar ve kalsiyumun kemik dokusundan kana salınmasında aktif rol oynarlar (39). Osteoklastlar rezorbsiyonu, kemik yüzeyine sıkıca yapışıp, mineral fazı eritmek için protonlarını ve kollejen matriksi çözmek için ise preolitik enzimlerini (başlıca katepsin K) salgılayarak yaparlar. Osteoklastlar kemik iliği ve dolaşımında bulunan mononükleer promonositik prekürsörlerin kaynaşması sonucu oluşur. Osteoklastlar Howship laküna denilen çukurlarda yerleşik olarak bulunurlar. Osteoklastlar kıvrık membranöz organları (pürüzlü kenarında) vasıtasıyla kemik ile etkileşimde olan büyük bir yüzey alanı elde ederler ve bu bitişik rezorpsiyon alanı özelleşmiş ekstraselüler lizozome olarak kabul edilebilir. Osteoklastlar yüksek seviyede tartarata dirençli asit fosfataz üretirler (50).Osteoklast sitoplazması bol mitokondri, pek çok lizozom ve nispeten daha az pürüzlü bir endoplazmik retikulum içerir. Osteoklastlar asit fosfataz yanında diğer lizozomal enzimler ve hidrojen iyon sekresyonuna yardımcı olan karbonik anhidrazdan da zengindir (Şekil 3,4,5)(37, 53).

1,25-dehidroksivitamin D3 osteoblastlara bağlanarak progenitör hücrelerine etkili osteoklast diferansiyasyon faktör salınımına neden olur. Bu sebeple osteoblastik hücreler osteoklast formasyonu ve oluşumu için kofaktör yaratan bir kaynak olarak düşünülür (54). Osteoklastların troitten salgılanan kalsitonin için reseptörleri vardır. Ancak paratroid hormonu reseptörlerine sahip değildirler. Bununla birlikte, osteoblastlarda paratroid hormon reseptörü vardır ve uyarıldıklarında osteoklast uyarıcı faktör denenen stokini üretirler(36, 43).



**Şekil 5.** Osteoklastlar tarafından kemiğin eritilişi

## 2.5. Kemik iyileşmesi:

Dıştan veya içten gelen zorlamalarla kemik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Bozulan kemik bütünlüğünün tekrar sağlanmasına yönelik olarak bir takım fizyolojik süreçler gerçekleşir. Kemik iyileşmesi remodeling olarak adlandırılan kemiğin rejenerasyonu ile iyileşir. Bu süreç kırık olduğu andan itibaren başlar ve düzenli kemik doku ile kırık uçları tamamen bir araya gelinceye kadar devam eder.

Kemik iyileşmesi birbirini tamamlayan üç ayrı safhada gerçekleşir: 1) erken enflamasyon safhası 2) tamir safhası 3) geç remodeling safhası (55, 56).

### 2.5.1. Enflamasyon safhası

Kırık meydana geldikten sonra damarlar zarar görür ve buna bağlı olarak ilk birkaç saat ve gün boyunca kırık bölgede hematoma gelişir. Vazodilatasyon ve plazma eksudasyonuna bağlı olarak, kırık bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem oluşur. İnflamatuar hücreler (makrofajlar, monositler, lenfositler ve polimorfonükleer

hücreleri) ve fibroblastlar prostaglandin aracılığıyla kemiğe göç ederler. Bu, granülasyon dokusunun oluşması, vasküler dokunun büyümesi ve mezenkimal hücrelerin göçü ile sonuçlanır. Bu erken sürecinin başlıca besin ve oksijen kaynağı, ekspose süngerimsi kemik ve kas tarafından sağlanmaktadır.

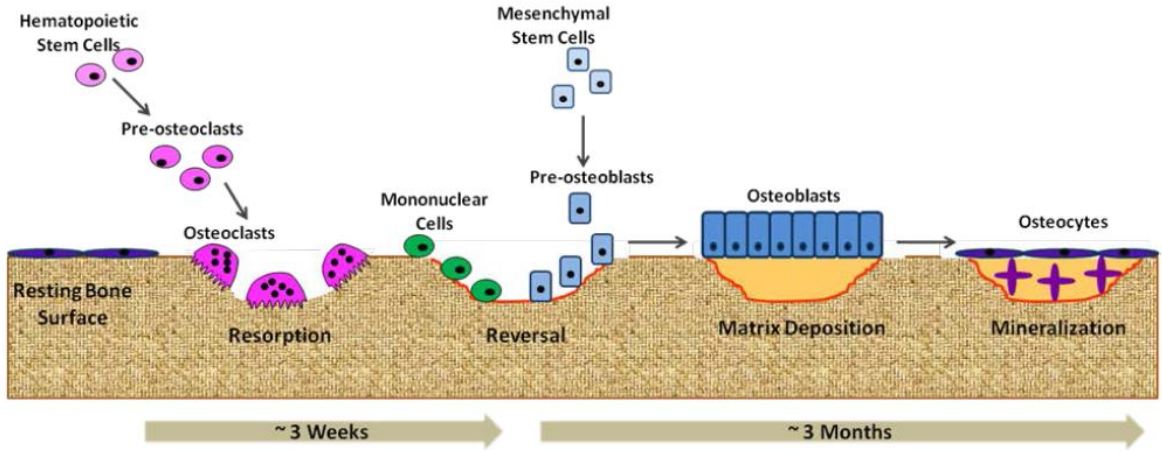
### **2.5.2. Tamir safhası**

Bu safha kırık iyileşmesinin en önemli basamağıdır. Fibroblastlar damar büyümesini destek olmak için stromadan serbest bırakılırlar. Vasküler büyüme devam ederken bir yandan osteoblastlar, osteoid salgılayıp kollajen matriksi yaparken (sert kallus), diğer yandan fibroblastlar ve kondroblastlar yumuşak kallusu şekillendirir. Hareketine direnç açısından, bu yara dokusu iyileşme sürecinin ilk 4-6 haftasında çok zayıftır. Sonuç olarak, kallus kemikleşir ve kırık parçaları arasında kemikten (woven bone) bir köprü oluşmaya başlar. Bu dönemde kemik kallusu normal kemiğe göre daha zayıftır ve tam olgunluğu remodeling safhasında kazanır. Ayrıca, uygun immobilizasyon sağlanmazsa, kallusun kemikleşmesi oluşmayabilir ve unstable bir fibröz kaynaşma gelişebilir.

### **2.5.3. Remodeling safhası**

Kemiğin şekillenmesi en uzun evre olup, iyileşen kemiğin orijinal şeklinin, yapısının ve mekanik kuvvetlerinin oluşturulması remodeling safhasında tamamlanır. Kemiğin remodeling süreci aylar ve yıllar boyunca yavaş yavaş gerçekleşir ve kemikte meydana gelen mekanik stres bu süreci kolaylaştırır.

Yeniden şekillenme evresinde, kalsifiye kırık doku osteoid doku ile değişerek birincil kemik dokusunu oluşturur. İlerleyen zamanlarda ise bu dokunun yerini ikincil kemik dokusu alır. Kortikal kemik bölgesinde oluşan kırık kallusu, ikincil osteonlara değişir ve havers sistemi oluşur. Kemik iliği kanalı da yeniden şekillenir. Kanal içindeki kallus osteoklastlar tarafından yıkılarak boşluklar yeniden düzenlenir.



**Şekil 6:** Remodeling siklusu(57).

## 2.6. Biyokimyasal Tanı Yöntemleri

Kemik, çok sayıda madde ve faktörün katıldığı yapım ve yıkım işlemlerinin birbirini takip ettiği dinamik ve karmaşık bir dokudur. Kemikğin bu aktif siklusunu yakından izleyebilmek için, yapım ve yıkım sırasında ortaya çıkan birtakım protein ürünleri ve enzim ölçümlerinden faydalanılır ve bunların tümüne kemikğin biyokimyasal markırları denir. Biyokimyasal markırların her birinin farklı bir biyokimyasal ve fizyolojik döngüsü olduğu ve bu nedenle kemikle ilgili olaylarda her zaman aynı değişiklikleri göstermeyecekleri de akıldan çıkarılmamalıdır. Kemik döngüsünün aşamaları göre, kemik metabolizması belirteçleri, kemik oluşumu ve kemik yıkımının göstergeleri olarak sınıflandırılabilir.

Bir dokuya ait özelliklerin tanımlanmasında kullanılacak markırların kabul edilebilir olması için ilk olarak o dokuya spesifik olmalıdır. Markırların metabolizması diğer organlardan minimum düzeyde etkilenmelidir. Markırın yapım ve yıkımına ait tüm detaylar ayrıntıları ile birlikte bilinmeli, markır dokuya ait değişikliklere duyarlı, ölçümü kolay ve maliyeti düşük olmalıdır.

Kemik yapım ve yıkımına ilişkin kullanılan başlıca belirteçler şunlardır.

### A) Kemik Yapımıyla İlişkili Biyokimyasal Belirteçler

1) Total ve Kemik Alkalen Fosfatazı (BALP)

2) Osteokalsin (OC)



3) Prokollajen 1 ekstansiyon peptidleri (P1P)

a. Prokollajen Karboksi Terminal Peptid (P1CP)

b. Prokollajen Amino Terminal Peptid (P1NP)

B) Kemik Yıkımıyla İlişkili Biyokimyasal Belirteçler

1) Açlık Üriner Kalsiyum

2) Hidroksipirolin (Hyp)

3) Çapraz bağlı telopeptidler

a. Karboksi Terminal Telopeptid (CTX)

b. Amino Terminal Telopeptid (NTX)

4) Piridinyum çapraz bağları (Piridinolin(Pyr) – Deoksipiridinolin (DPyr))

5) Tartarat-dirençli Asit Fosfataz (TRAP)

### **2.6.1. Kemik Yapımıyla İlişkili Biyokimyasal Belirteçler**

Kemik yapım markırları ya aktif osteoblastların kendi gelişim sürecindeki çeşitli aşamalarındaki yan ürünleri ya da osteoblastik enzimleri ifade eder. Kemik yapımının en yaygın olarak kullanılan belirteçleri serum veya plazma içinde ölçülür ve bunlar arasında enzim olan alkalen fosfataz ve kemik matriks sentezinin yan ürünleri olan osteokalsin ve karboksi ve amino-terminal prokollajen I ekstansiyon peptidleri (P1CP, P1NP) bulunur. BALP ve P1P kemik yapımının erken belirteçleri, OC ise daha geç belirteçidir (58).

#### **2.6.1.1. Alkalen Fosfataz**

Osteoblastlar alkalen fosfataz (ALP) açısından zengindir. Bununla birlikte ALP, karaciğer, bağırsak ve plasenta bulunan hücrelerin plazma membranı ile ilişkili bir enzimdir ve hepsi de kanda bulunan ALP toplam miktarına katkıda bulunur(59). Bu yüzden total alkalen fosfataz enzimi hepatik ve gastrointestinal izoenzimlerinin varlığı nedeniyle osteoporoz teşhis ve tedavisinde duyarlı ve spesifik bir test değildir. Kemik Alkalen Fosfataz, yaşa bağlı kemik yapım-yıkım dengesinin önemli bir göstergesidir. Kemik Alkalen Fosfataz osteoblastlar tarafından sentezlenir ve postmenopozal

kadınlarda osteoblastik aktiviteyi gösteren duyarlı bir testtir (60). Bununla birlikte bifosfonat tedavisi gören hastalarda osteoklastik aşırı-baskılanmayı belirlemede en etkin kemik yapımı belirteçlerindedir (61). Serum yarı ömrü osteokalsine göre daha uzundur ve diürenal varyasyondan etkilenmez. Ayrıca GFR'nin düşüklüğünden etkilenmediği için bozulmuş renal fonksiyonu olan hastalarda kemik oluşumunu değerlendirmede daha güvenilir bir parametredir(60).

Alkelen fostazın işlevi tam olarak bilinmemekle birlikte, hücre zarı üzerinde alkalin fosfataz varlığı, kemik mineralizasyonu için gereklidir(62). Kemik izoenzimi çocukluk ve özellikle ergenlik döneminde hâkimdir, ancak yetişkinlerde kemik ve karaciğer izoenzimleri total değere eşit miktarda katkıda bulunmaktadır(63). ALP'ın izoenzimleri, elektroforez, izoelektrik fokuslama, lektin presipitasyon ve immünassay yöntemleri ile ölçülebilirse de özgünlük ve kesinlik açısından en uygun yöntem immünassaydır (64).Genel olarak,total ALP deneyleri, normal karaciğer fonksiyonu olan hastalarda uygundur ancak BALP osteoblast fonksiyonu için daha fazla spesifiktir(65).

#### **2.6.1.2. Serum PINP ve serum PICP**

Serumdaki P1P konsantrasyonu osteoblastlarca üretilen yeni kollajen miktarını gösterir. PINP ve PICP fibril oluşumundan önce tip 1 prokollajen moleküllerinin translasyon sonrası parçalanması sonucu oluşurlar. Bu parçalanma ürünlerinin bazıları dolaşıma geçer ve bu nedenle, kemik oluşumu belirteçleri olarak da kullanılabilirler (66). Öncelikle karaciğer endotel hücreleri tarafından temizlenir, PINP ve PICP öncelikle kemik kaynaklıdır, ancak deri, tendon, dentin ve kıkırdak küçük miktarda katkıda bulunur(66, 67). İskeletsel dokular, iskeletsel dokuların olmayan dokulara oranla daha yüksek oranda turn overa sahip olmasından dolayı, dolaşımdaki kollajen propeptidlere daha fazla oranda katkıda bulunurlar(67). Serumdaki PINP ve PICP varlığı ELISA veya RIA(radioimmunoassay) yöntemi ile belirlenebilmektedir. Ayrıca PINP kemik oluşumunun markırı olarak PICP tercih edilmektedir (68).

#### **2.6.1.3. Osteokalsin**

Osteokalsin olgun osteoblastlar tarafından sentezlenen kemik matrisi proteindir. Aynı zamanda kemik GLA proteini olarak da bilinen bu nonkollagenöz kemik matris proteinlerinin yaklaşık % 15'ini oluşturur (69, 70). Osteokalsinin kalsiyuma bağlanma

özellikleri, üç adet K vitaminine bağımlı  $\gamma$ -karboksiglutamik asit kalıntısı aracılığı ile olmaktadır (71). Osteokalsin mineralizasyon sürecine dâhil olmasına rağmen, kesin protein fonksiyonu çok az bilinmektedir (67). Osteoblastlar tarafından sentezlenen OC'nin çoğu kemik matrisine dâhil olsa da, küçük bir bölümü dolaşıma katılır (72). Osteokalsin ELISA veya RIA yöntemi ile belirlenebilmektedir (73). Osteokalsin kemik oluşumunun çok iyi bir belirteci olmasına rağmen, yüksek biyolojik ve sirkadiyen değişkenliğine sahiptir (67). Ek olarak serumda OC fragmanlarının mevcudiyeti, ölçümlerin tekrarlanabilirliğini negatif etkileyebilir. Osteokalsin oda sıcaklığında bir kaç saat içinde reaktivitesinin kaybedebileceğinden tahlil için kan örneğinin hızlı bir şekilde işleme sokulması tavsiye edilmektedir (67).

### **2.6.2. Kemik yıkımı belirteçleri**

Kemik erimesi belirteçleri enzim olan tartrateresistant asit fosfataz (TRAP), kemik yıkımı ürünü olan kalsiyum ve kemik matris yıkımı ürünleri olan hidroksprolin, piridinyum çapraz bağları ve telopeptidler içerir (74).

#### **2.6.2.1. Serum kalsiyumu**

Kemik yıkımını değerlendiren en ekonomik yöntem açlık üriner kalsiyum ölçümüdür. Üriner kalsiyumu, diyet ve böbrek fonksiyonlarından etkilendiğinden, kemik remodelinginin değerlendirilmesi için yeterli sensitiviteye ve spesifiteye sahip değildir (75).

#### **2.6.2.2. Tip I kollajen amino terminal çapraz bağlı telopeptid (NTX)**

Olgun kemik kollajeninin osteoklastlar tarafından yıkımı esnasında salınır ve değişime uğramadan idrarla atılır. Tip 1 kollajen yıkım ürünü olan NTX serum veya idrarda ölçülebilir. Tip 1 kollajen içeren diğer dokularda, kollajen yıkımı esnasında NTX çapraz bağları ortaya çıkmadığından NTX kemik rezorpsiyonun ölçümünde spesifik bir gösterge olarak kullanılabilir. Serum NTX değeri, antirezorptif terapilerden sonra önemli ölçüde azalır ve bu tür tedavilere bağlı değişikliklerin tespitinde idrar NTX daha az duyarlıdır (76). Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, diyetle kolajen alımının serum NTX düzeylerini etkilemesi tam olarak aydınlatılamamıştır. 24 saat içinde idrarda NTX ölçülmesi kemik döngüsündeki sirkadyen değişikliklere bağlı varyasyonların önlenmesinde önemlidir(73, 77).

### **2.6.2.3. Tip I kollajen karboksil terminal çapraz bağlı telopeptid (CTX)**

Tip 1 kollajenin CTX fragmanı, kollajenin C-terminal telopeptid bölgesindeki  $\alpha 1$  zinciri ile diğer kollajen molekülünün  $\alpha 1$  veya  $\alpha 2$  zinciri arasındadır. Kemik matriksin  $\beta$  izomerizasyonu ile C terminal telopeptidlerde bulunan  $\beta$  aspartik asit kemiğin yaşlanması ile  $\alpha$  aspartik aside dönüşür. Kemik rezorpsiyonu sırasında açığa çıkan bu fragman, diğer dokulardaki tip 1 kollajende bulunmadığı için kemik dokuya spesifiktir (78). NTX'de olduğu gibi, serum ve idrarda CTX'i tespit etmek için enzim bağlantılı immüno-sorbent deneyi (ELISA) ve radyoimmünoassay (RIA) testleri kullanılmaktadır (73).

### **2.6.2.4. Pyd ve DPYd çapraz bağları**

Piridinolin (PYD) ve deoksipiridinolin (DPD) kovalent piridinium çapraz bağlarıdır ve kemik rezorpsiyonu sırasında kollajen yıkımı sonucu oluşurlar. Bunlar dolaşıma bırakılırlar ve idrara geçerler(79). Her ikisi de RIA ve ELISA ile tespit edilebilir (73, 79). Kollajen çapraz bağları sadece kemikte değil, aynı zamanda kıkırdak, damarlar ve ligamentlerde de bulunur. Ancak, kemik diğer PYD kaynaklarına göre yüksek oranda turn overa sahip olduğundan ve dolaşımda ve idrarda bulunan PYD'nin çoğunluğu kemik kaynaklıdır(67). Öte yandan, DPD'nin neredeyse tamamı kemik ve dentin kaynaklıdır ve ligament, kıkırdak ve tendonda mevcut değildir (67). Bu yüzden, DPD ve PYD kemik rezorpsiyonunu gösteren oldukça spesifik ve güvenilir parametrelerdir.

### **2.6.2.5. Tartarat-dirençli Asit Fosfataz (TRAP)**

Asit fosfataz, kemik, prostat, trombositler, eritrositler ve dalakta gibi birçok dokuda bulunan lizozomal bir enzimdir. Asit fosfotazın beş isoenzimi bulunur ve bunlar içinde 5b izoformu (TRACP 5b), osteoklast içinde en özel olarak ifade edilen şeklidir ve kemik rezorpsiyon belirteci olarak kullanılır. Sadece osteoklast aktivitesinin markırıdır ve yaygın olarak hayvan çalışmalarında kullanılır. Aynı zamanda bu izoenzim tartarata dirençli olmasıyla da diğerlerinden ayrılır. TRACP 5b tipik olarak, Paget kemik hastalığı, kemik metastazları ve multiple miyelom gibi kemik turn overının yüksek olduğu durumlarda artar (80). Serum asit fosfataz konsantrasyonu plazmadakinden yüksektir çünkü pıhtılaşma sırasında plateletlerden bol miktarda asit fosfataz salınmasıdır(81).

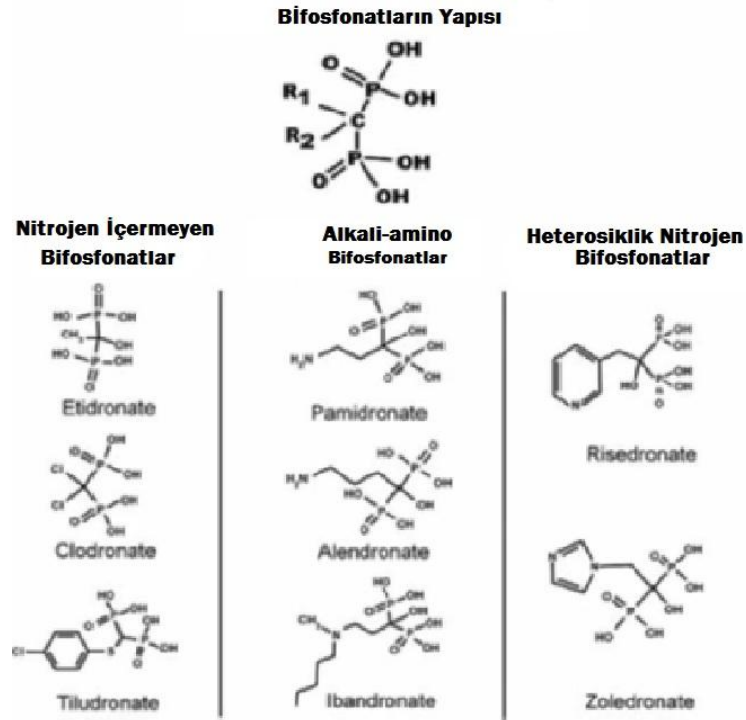
### **2.6.2.6. Hidroksiprolin**

Kemikten açığa çıkan serbest hidroksiprolinin çoğu karaciğerde katabolize edilir ve polipeptid zincirlerindeki %10'luk kısmı idrara karışmaktadır. Üriner hidroksiprolinin büyük bir kısmının esasen yeni oluşmuş olan kollajenin yıkımından, komplomentten, uzamış prokollejen peptidlerden, kemik dışı dokulardaki kollajenden ve diyetten geldiği belirlenmiştir(82). Üriner hidroksiprolinin yaklaşık olarak % 50'si kemik kollajen yıkımından kaynaklanmaktadır (83). Hidroksiprolin idrarda High Performance Liquid Chromatography (HPLC) yöntemi ile de ölçülebilir (84).

### **3.1. Bifosfonatlar**

Bifosfonatlar kemikte hidroksiapatit kristallerine bağlı doğal olarak oluşan kimyasal pirofosfatların(PPI)stabil sentetik analoglarıdır. BPs1865 yılında Almanya'da ilk kez sentezlenmesinden beri kimyacılar tarafından bilinmekte olup günümüzde tekstil, yağ ve gübre endüstrisi gibi farklı alanlarda kullanılmaktadırlar(85).Etidronat, insanlarda tedavi amacıyla kullanılan ilk bisfosfonat olup,100 yıl önce sentezlenmiş ve ilk kez Paget hastalığının tedavisinde kullanılmıştır(86).Polifosfatlara benzer bir şekilde kalsiyum karbonatın çökmesine engel olabildiklerinden antitartar diş macunlarının içinde yer alan bifosfonatlar(87), kemik taramalarında tanı amaçlı olarak teknetyum-99 gibi radyoizotoplarla beraber kullanılmaktadırlar(88). BPstip alanında çeşitli hastalıklarda kullanılmak için yaklaşık 30 yıllık bir geçmişe sahiptir.

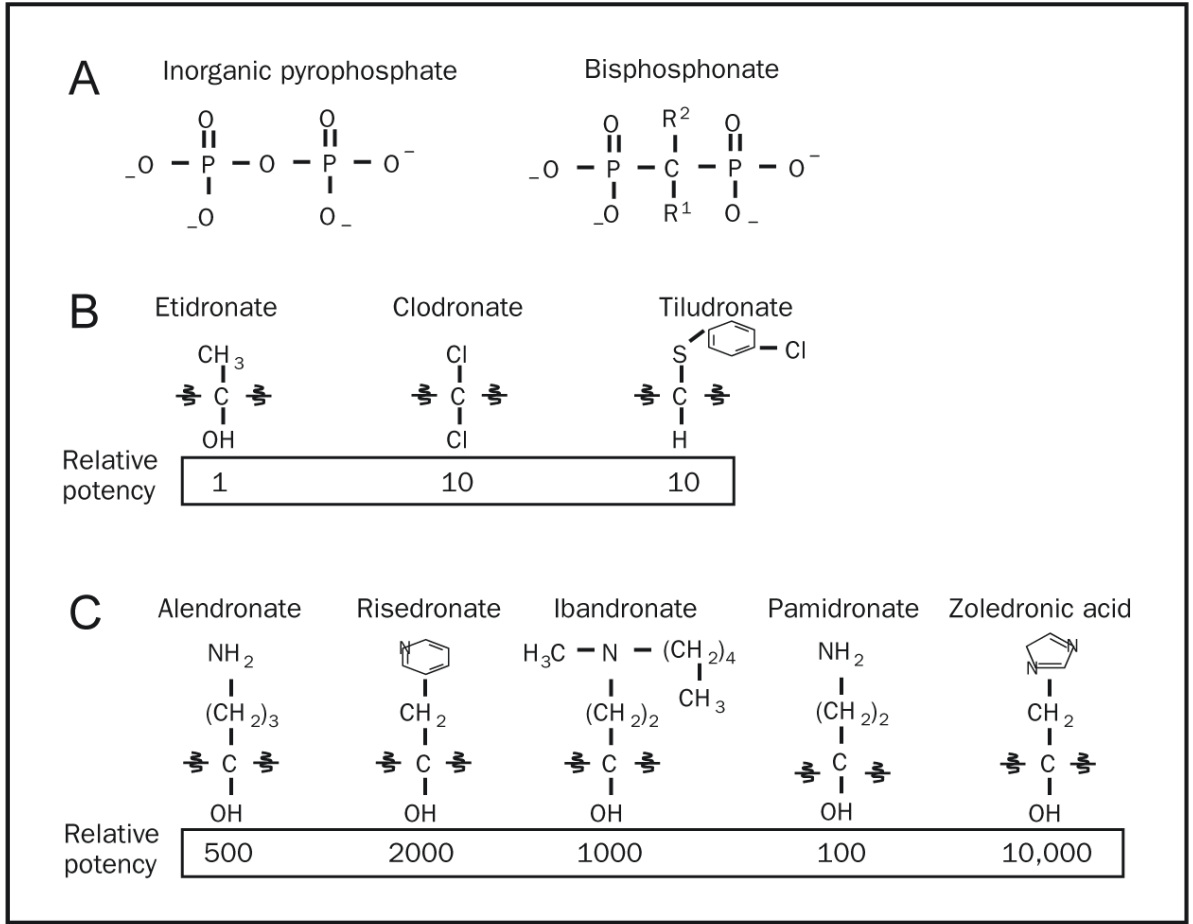
BPs'ın lipid afiniteleri düşük olduğundan gastrointestinal sistemden emilimi de düşüktür ve oral yoldan kullanıldığında total dozun sadece %1'i emilir. Dolaşıma katılabilen dozun %50'si kemikler tarafından tutulup, geri kalanı da metabolize olmadan renal yolla atılır. İlacın plazmadaki yarılanma ömrü kısa olmasına karşın (30 dk-2saat), kemiklerdeki yarılanma ömrü yaklaşık olarak 10 yıldır(89). BPs osteoklastik kemik resorpsiyonunun en güçlü inhibitörleridir ve geniş oranda osteoporozun, maling hiperkalseminin, multiple myelomanın,paget hastalığı, osteogenezis imperfekta gibi sistemik sağlık sorunlarının kemik metastazı yapan göğüs, prostat, akciğer ve diğer yumuşak doku tümörlerinin tedavisinde kullanılır(6).



**Şekil 7.** Bifosfonatların yapılarına göre sınıflandırılması

Bifosfonatlar genel olarak üç gruba ayrılmaktadır. Bunlar;

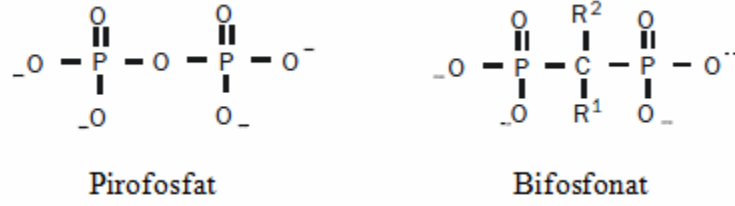
1. **Kuşak bifosfonatlar** (örneğin; etidronate, klodronate, tiludronate).
2. **Kuşak bifosfonatlar** (örneğin; alendronate, ibandronate, pamidronate).
3. **Kuşak bifosfonatlar** (örneğin; risedronate, zoledronik asit).



**Şekil 8:** Bisfosfonatın yapısı ve osteoklast inhibisyonu için yaklaşık göreceli güçleri(90).

### 3.2.Bifosfonatların Kimyasal Yapısı

Bifosfonatlar, kimyasal olarak PPI benzer bir yapı gösterirler.PPI, vücutta bir çok sentetik reaksiyonun yan ürün olarak salınır ve bu nedenle kolaylıkla kan ve idrar dahil olmak üzere birçok dokuda tespit edilebilirler(91). BPs, pirofosfat moleküldeki oksijen atomunun (P-O-P), karbon atomu (P-C-P) ile yer değiştirmesi sonucu oluşur(Şekil1) (92).Bu karbon atomu BP'ları enzimatik ya da asit hidrolizine karşı tamamen dirençli ve kimyasal olarak son derece stabil hale getirir.Her iki bileşiğin de hidroksiapatit karşı yüksek afiniteleri olduğundan kemik dokusuna kuvvetli bir şekilde bağlanırlar(93). BPs kalsifikasyonu inhibe etme kabiliyetlerin yanında, hidroksiapatit kristallerinin çözülmesini engellerler ve böylece etkili bir şekilde kemik resorpsiyonunu süprese ederler(94).



**Şekil 9:** Pirofosfat ve bifosfonatların kimyasal yapısı.

İskelette tutulmayan BPs hızla renal ekskresyon ile dolaşımdan temizlenirler. BPs karbon atomları üzerine yan zincirlerinin bağlanması veya fosfat gruplarının esterleşmesi çok sayıda farklı bifosfonat varyasyonu oluşmasını sağlar ve biyolojik aktivitesi karbon atomu üzerindeki iki yan zincirin yapısının değişimi ile değiştirilebilir. BPs hidroksiapatit kristallerine bağlanma kabiliyeti P-C-P yapısına bağlıdır ve bu etki R1 yan zinciri tarafından güçlendirilir. R2 yan zincirinin yapısı ve üç boyutlu konfigürasyonu ise bisfosfonatların hücresel etkilerini ve kemik resorpsiyonundaki inhibitör etki gücünü belirler. Her bir bisfosfonat kendine özgün yan zinciri sayesinde kendine özgü etkiye sahiptir. Etidronat ve klodronat erken klinik kullanımı gösterildikten sonra, alkil zinciri içinde primer nitrojen atomu içeren yeni bisfosfonatlar sentezlendi. Nitrojen atomu antirezorptif etkiyi yüz kat kadar artırmaktadır. Daha sonra R2 yan zincirine tersiyer azot gruplarının ilavesi ile gücü daha da artmış ibandronat ve olpadronat gibi bileşikler üretilmiştir. Heterosiklik halka içinde bir nitrojen atomu içeren risedronat ve zoledronat bisfosfonatlar içinde en güçlü olanlarıdır. Bunlar etidronata göre 10000 kat daha güçlü bileşiklerdir (Şekil 8).

### 3.3. Etki mekanizması

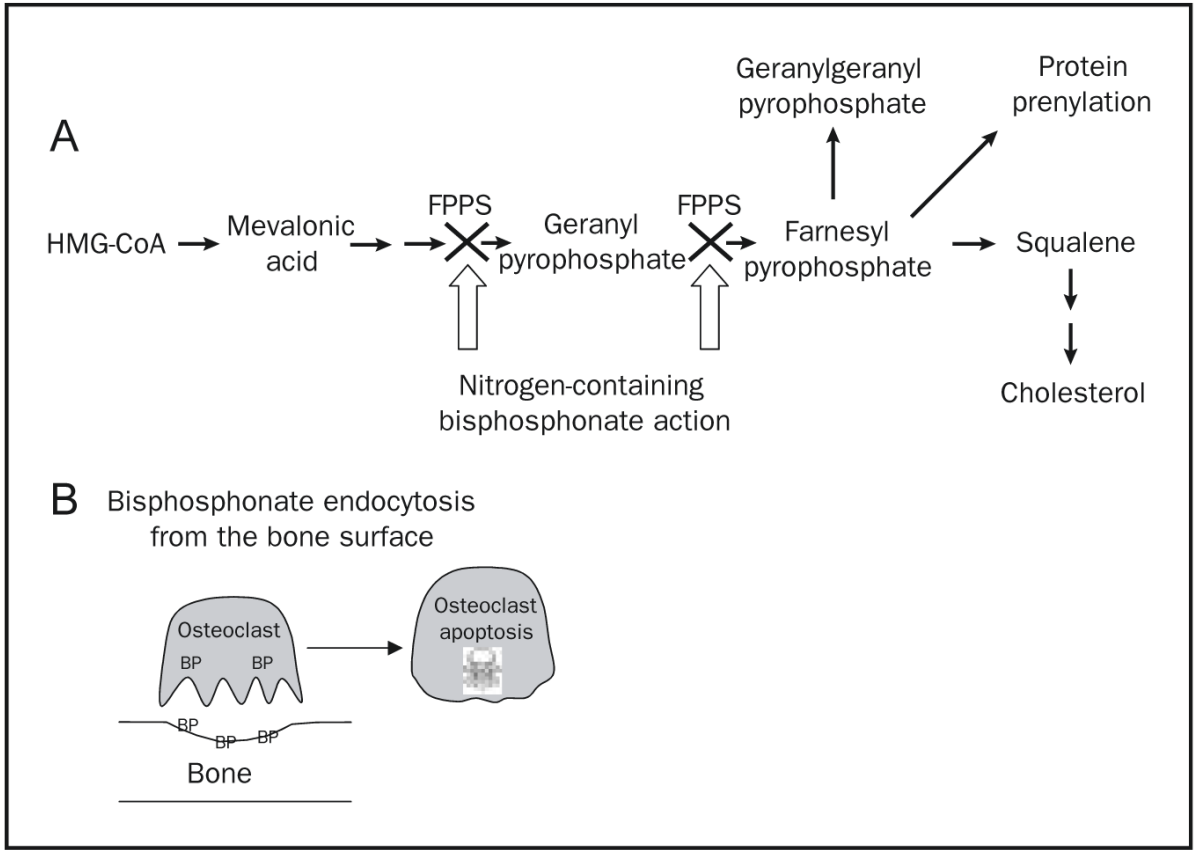
Nitrojen içerikli olmayan BPs (etidronat, klodronat ve tiludronat) birinci nesil BPs kabul edilir. BPs mineralize kemik matriksinde birikirler ve kemik rezorpsiyonu boyunca serbestleşirler. Birinci nesil nonnitrojen-bisfosfonatlar (non-N-BPs) osteoklastlar tarafından hidrolize edilemeyen, metilen içerikli sitotoksik ATP analogu olan AppCCl<sub>2</sub>p'ye metabolize edilirler (95). ATP'nin toksik analogları osteoklastların sitosolünde birikir. Bu metabolit yüksek konsantrasyonlarda ATP bağımlı adenin nükleotid translokazenzimini inhibe eder ve mitokondrial membran potansiyelinin kaybına ve apoptozisin direk indüksiyonuna sebep olur (95). BPs'ın kemik mineraline olan yüksek afinitesi ve kemik rezorpsiyonu esnasında aktif osteoklastlar tarafından



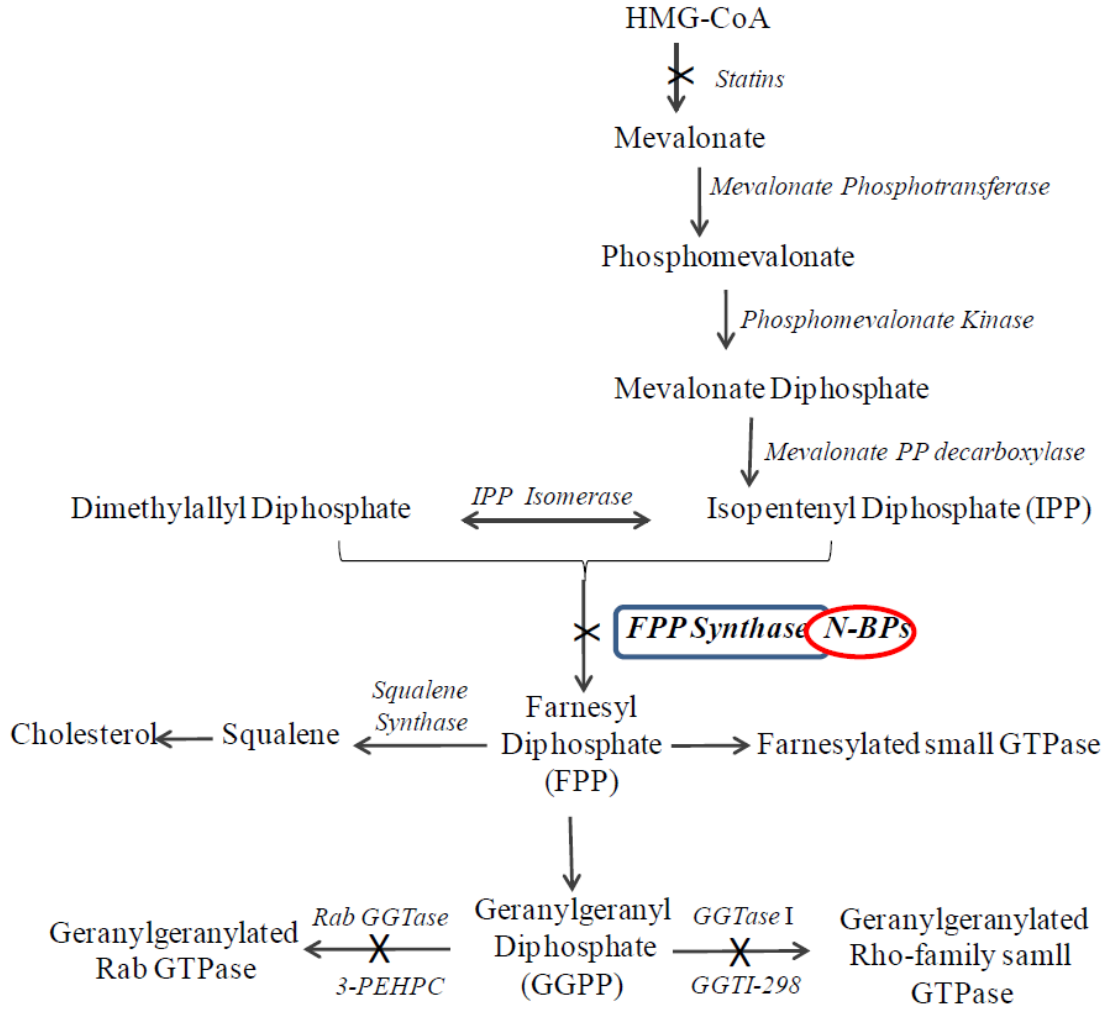
tutulumu bu metabolitlerin sitotoksik konsantrasyonlarında sadece osteoklastlar içinde birikimini sağlar.Bu metabolitler tümör hücreleri içinde de birikebilir çünkü tümör hücreleri de osteolizisi sitümüle eder.

Bunun aksine, azot içerikli bisfosfonatlar (N-BPs) (pamidronat, alendronat, ibandronat, risedronat ve zoledronik asit) farklı bir mekanizma üzerinden osteoklast aktivitesi ve canlılığı etkiler. Hücre içine alındıktan sonra bu bileşikler, bir anahtar enzim olan farnezil difosfat sentazı (FPPS) biyosentetik mevalonat yolunda inhibe ederler(Şekil 10,11)(95).Sonuç olarak, N-BPs osteoklastların kemik rezorpsiyon aktivitesini ve hayatta kalması için gerekli hücresel fonksiyonları bozarlar(96).Mevalonat yolundaki Farnesil pirofosfat ve geranilgeranil pirofosfat gibi bazı ara maddeler, Ras, Rho, Rac gibi guanozin trifosfat bağlayıcı proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonu (prenilasyon) için gereklidir(97).Bu sinyal molekülleri hücre çoğalması, hücrenin hayatta kalması ve sitoskeletal organizasyonun düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar (98).Özellikle, osteoklastlar içinde protein prenilasyonu ve Ras sinyalizasyonunun engellenmesi hücre içi transport defektlerine yol açar (99).Sonuç olarak, kemik rezorpsiyonu için gerekli olan sıkı ve sızdırmaz bir bölge yada kıvrımlı sınırların formu osteoklastlar tarafından oluşturulamaz.Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, N-BPs bir başka etki mekanizmasına sahip olabileceğini göstermiştir(100, 101). N-BPs da Apppi(trifosforik asit 1-adenozin-5'-il ester 3-[3-metilbut-3-enil]ester) olarak bilinen,AppCC1<sub>2p</sub> benzer bir şekilde direkt olarak apoptoza neden olan, hücre içi ATP analogu üretimini indükler(101). FPPS inhibisyonu,Apppi'ye metabolize edilebilen izopentenil difosfonat birikimi ile sonuçlanır. Çeşitli bisfosfonatların, rekombinant insan FPPS aktivitesini(0.1-uM konsantrasyonlarda) inhibe edebilmesinden dolayı (102),J774 hücrelerinde Apppi üretimini indükleyebilecekleri ilişkisi kurulabilir.

Çeşitli N-BPs'ların FPPS aktivitesini inhibisyon gücü, aynı zamanda in vitro olarak kemik erimesini inhibe etmegücü ile iyi birkorelasyona sahip olduğu gösterilmiştir(102, 103). Yapılan bu teste göre, N-BPs arasında zoledronik asit FPPS aktivitesinin en güçlü inhibitörü olduğu belirtilmiş olup bunu sırasıyla risedronat ve ibandronat takip etmiştir.Bu üç N-BPs'nin FPPS deneyinde nispi kuvvetleri ile fare kalvaryal kültürlerden vitamin D3 ile uyarılan kalsiyum salınımının inhibisyonu yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (103).



**Şekil 10:** N-BPS tarafından FPPS'ın inhibisyonu.A) Azot içeren bisfosfonatlar selektif olarak farnesil pirofosfat sentazı (FPPS) inhibe eder. B) Kemik yüzeyinden bisfosfonatın osteoklastlar tarafından hücre içine alınması (endositoz) FPP inhibisyonuna ve osteoklast apopitozuna yol açar.(90)



Şekil 11:N-BPS tarafından mevalonat yolunun engellenmesi.(57)

### 3.4. Bifosfonatların İskeletsel Etkisi

Oral olarak tedavide kullanılanBPskemik resorpsiyonunun biyokimyasal endekslerini bir ayda % 50 üç ayda ise % 50-70 seviyesinde bastırır (104, 105).Tedavi 6 ila 12 ay sonra bir sabit duruma ulaşıldıktan, kemik oluşumu daha yavaş düşer.Genel olarak, kemik turn over'ısağlıklı genç erişkinlerde görülen seviyelere indirgenir.

Osteoporoz hastalarında, BP tedavisinden sonra vertebral(kalça kırıklarında dâhil) ve non-vertebral kırıkların insidansında klinik olarak anlamlı bir azalma olur(106, 107). Kırılmaya karşı koruma başlangıç tedavisinden bir kaç ay sonra ortaya çıkar(106)(107) ve en azından birkaç yıl boyunca sürer (108).Önemlisi, multiple vertebra kırıkları 77-96% oranında azalır (106). BPs'in kırığı engellemek için hangi özel mekanizmaları kullandığı tam olarak bilinmemektedir. Bu konudaki en iyi tahmin BPs'in BMD(Bone

Mineral Density)'de değişikliklere sebep olması ve bununda kırık oranlarındaki değişikliklere yol açmasıdır (109).Vertebra kırığı azalmasına BMD değişimin katkısı tahminen 17-28% arasında değişmektedir (110) ve kırık riskinin azalması açısından bisfosfonatların farklı dozlarında hiçbir fark gözlenmemiştir (107).Kırılmalarda ki azalma süreci BMD'den ziyade kemik turnover indekslerininin tedavisinin etkisidir ayrıca tedavi, kırığın korunması ile bu markerlar arasında anlamlı bir korelasyon vardır (111).BPs muhtemelenkemik remodelling sayısını azaltarak kırık riskini azaltır.

### **3.5. Antitümör Etki Mekanizması**

Bisfosfonatların antitümör etkilerinden sorumlu kesin mekanizmalar aydınlatılmaya başlamıştır.BPs osteoklast aracılığı ile oluşan kemik rezorpsiyonu ve osteoklastogenez inhibisyonu ile kemiği tümör hücrenin büyümesi için daha az ilgi duyulur hale getirir ve böylece kemikte tümörün büyümesini sitümüle eden büyüme faktörlerinin salınımını azaltır. Buna ek olarak, BPs doğrudan tümör hücrelerinin büyümesini, hayatta kalmasını ve tümör hücrelerinin kemiğe kolonize olmasını inhibe eder. Bu mekanizmalardan herhangi biri veya her ikisinde etki edebilir (112).

#### **3.5.1. Apoptosis**

Bisfosfonatların doğrudan antitümör aktivitesinde rol alan mekanizmalardan biri, tümör hücresi apoptozu indüksiyonudur.HemN-BPs hem de non-N-BPs kaspaz aktivasyonu ile osteoklastlar ve tümör hücrelerinin apoptosisi indükler(113, 114).BPs apoptozisi indükleme mekanizmalardan birisi; mitokondrial ATP/ADP translokazını bozan ATP analoglarının üretimidir.Zoledronik asiti insan meme kanseri hücre kültüründe (MDA-MB-231 ve MCF-7) apoptoza neden olan mekanizmasını araştıran bir çalışmada, bu yanıtın mitokondriden sitokrom c serbest bırakılması ve daha sonra kaspaz-3 aktivasyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir(115). N-BPs'ların sitokrom c'yi serbetleştirici etkisi, önemli antiapoptotik düzenleyici protein olan Bcl-2 ekspresyonunu değiştirmesiyle ortaya çıkmaktadır(115).Bu olaylar, protein prenilasyonunu gerektiren Ras aktivasyonunun inhibisyonu ile hızlandırılabilir (115).

#### **3.5.2. Tümör hücrelerinin ekstrasellüler kemik matriksine adhezyonunun ve invazyonunun engellenmesi**

Bisfosfonatların aynı zamanda ekstrasellüler matris (ECM) proteinlerine tümör hücrelerinin adhezyonunu ve hücrelerin invazyon ve metastaz sürecini inhibe ettiği

gösterilmiştir(116).Boissier ve ark.(117) Matrigel™ kullanarak yaptıkları invitro invazyon deneylerinde, BPs insan göğüs ve prostat kanser hücrelerinin ECM'ye olan invazyon yeteneğini inhibe ettiğini göstermişlerdir.Bu deneyde, zoledronik asit ve ibandronat hücre invazyonunu doza bağımlı inhibe etmiş ve son derece düşük konsantrasyonlarda ( $\leq 10^{-10}$  M) tümör hücre motilitesini inhibe etmemiş ve apoptosisi anlamlı bir şekilde uyarmamıştır.Klodronat aynı deneyde yaklaşık altı kat daha az etkili olmuştur.Ayrıca, taksan ile ibandronat kombinasyonu, MDA-MB-231 hücre invazyonunu üzerine olan inhibitör etkiyi geliştirmiştir(116).Katkıda bulunan diğer bir mekanizma ise tümör hücresinin ECM'ye invazyonu için gerekli olan matris metaloproteinaz (MMP) aktivitesinin inhibisyonu olabilir(117). Bisfosfonatların tümör hücre kültürü tarafından üretilen MMP'lerin aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (118).Örneğin, zoledronik asitin PC-3 hücreleri tarafından MMP-2 ve MMP-9 üretimini engellediği gösterilmiştir(119). Bu veriler, kemiğin tümör hücreleri tarafından istilasınının, N-BPs'ler tarafından hangi mekanizma inhibe edildiğini hakkında fikir verebilir fakatbu etkinin protein prenilasyonu ile ilişkisini tam olarak açıklayamamıştır.

Son çalışmalar, tümör hücrelerinin ECM proteinlerine adhezyonunun ve invazyonunun engellenmesinin, protein prenilasyonu inhibisyonu bağımlı olduğunu göstermektedir. Pickering ve ark.(120) yaptıkları çalışmada, zoledronik asit doza bağlı olarak MCF-7, MDA-MB-231 hücrelerinin çeşitli matris proteinlerine adhezyonunu inhibe ettiği göstermişlerdir.Ayrıca bu inhibe edici etki farnesol, geranilgeriol ya da geniş spektrumlu bir kaspaz inhibitörü eklenmesi ile ortadan kalkmıştır.Benzer bulgular alendronat için de rapor edilmiştir. Alendronattümör hücrelerinin invazyonu üzerine olan inhibitör etkisi geranilgeriol ve trans-trans-farnesol ilavesi ile tersine dönmüştür(121).Bu nedenle, mevalonat yolunun inhibisyonu kaspazın aktivitesinin induksiyonu,N-BPs'lerin tümör hücrelerinin ECM'ye adhezyonu ve invazyonu üzerine olan inhibör etkisi için önemlidir. Bundan başka, Ras mutasyonunun aktivasyonu normal meme epitel hücre kültürlerinin ECM proteinlerine adhezyonunu artırmıştır. Büyüme faktörü reseptör sinyaline karşılık artan Ras aktivasyonu, meme kanseri hücrelerinin metastatik potansiyelini arttırabileceğini düşündürmüştür(120).Bu nedenle zoledronik asit, protein prenilasyonu ve Ras sinyalizasyonunu inhibe ederek, tümör hücrelerinin metastatik potansiyelini azaltabilmektedir.

### 3.5.3. Antiangiogenik etkiler

In vitro ve in vivo çalışmalar de zoledronik asit antianjiyojenik etkileri olduğunu göstermiştir. İnsan umbilikal damar endotelial hücreleri (HUVEC'ler) ile yapılan in vitro deneylerde zoledronik asit doza bağlı olarak fetal dana serumu ve temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ile indüklenen HUVEC'lerin çoğalmasını inhibe ettiğini göstermiştir ve bu bulgular in vivo çalışmalarla doğrulanmıştır(122). Farelere zoledronik asidin sistematik olarak verilmesi, anjiyojenezin güçlü bir şekilde inhibisyonu ile sonuçlanmıştır (122). Ayrıca, zoledronik asit murin 5T2 miyeloma modelinde kemik tümörüyle ilişkili anjiyogenezi azalttığını rapor edilmiştir (123). Bir başka HUVEC'ler üzerinde yapılan in vitro deneyde, zoledronik asit, ibandronat, risedronat ve klodronatın kapiller benzeri tübüllerin oluşumu inhibe ettiği gösterilmiştir (124). Testosteron ile tedavi edilen, hadım edilmiş sıçanlarda yapılan in vivo çalışmada, zoledronik asit ve ibandronatın (klodronat hariç), ventral prostat bezinin revaskülarizasyon azalmıştır (124). Zoledronik asidin endotelial hücre adhezyonu ve migrasyonu üzerine olan inhibitör etkisi kısmende olsa, anjiogenese katılan integrinlerin ( $\alpha\beta3$  ve  $\alpha\beta5$ ) modülasyonu ile ilişkili gibi görünmektedir (125). İlginç bir şekilde, integrin  $\alpha\beta3$ , aktif kemik rezorpsiyon esnasında osteoklastların kemiğe sıkıca bağlanmaları ve rezorpsiyon lakünlerini oluşturmaları için gereklidir ve  $\alpha\beta3$ ekspresyonu tümör hücrelerinin kemiğe metastazını daha da güçlendirmektedir (126). Yakın zamanda,  $\alpha\beta3$  inhibitörü olan küçük bir molekülün, etkili bir şekilde MDA-MB-435 göğüs kanseri hücrelerinin kemiğe metastazını önlediği gösterilmiştir (127). Bu nedenle,  $\alpha\beta3$ üzerine olan etkilerin, kemik rezorpsiyonu ve tümör metastazı üzerinde çok yönlü etkileri olabilir. Buna ek olarak, son zamanlarda zoledronik asitin HUVEC'lerin yaşam sürelerini azalttığı ve bunu bu hücrelerin TNF kaynaklı programlanmış hücre ölümüne karşı duyarlılığını artırarak yaptığı bildirilmiştir (125). Zoledronik asitin aynı zamanda, kanser hastalarında vasküler endotelial büyüme faktörü ve bFGF gibi proanjiyojenik büyüme faktörlerinin serum düzeylerini değiştirdiği görünür(128). Bu çalışmalar, bifosfonatların potansiyel antianjiyojenik mekanizmalarının çeşitli olduğunu gösterir.

### 3.6. Klinik Uygulamadaki Rolü

Daha önce belirtildiği gibi BPs, kemik yüzeyi üzerinde mineral yapının bozulması sağlayan osteoklast apoptozuna sebep olur. Bu duruma göre, BP birincil olarak osteoklast aracılığı ile oluşan artmış kemik rezorpsiyonu ile karakterize iskeletsel

hastalıklarının tedavisinde kullanılır hale gelmiştir. Şu anda aşırı rezorpsiyonun olduğu çeşitli patolojik durumlarda, osteoporozun multiple formları da dahil olmak üzere (juvenil, postmenopozal veya involüsyonel (senil), glukokortikoid kaynaklı, transplant kaynaklı, hareketsizliğe bağlı ve androjen yoksunluğu), paget hastalığı, osteogenezis imperfecta (OI), hiperkalsemi ve kemik metastaz yapmış malignitelerde BPs yaygın olarak kullanılmaktadır.

Azot içerikli bisfosfonatların azot içermeyenlere göre daha güçlü olmalarına rağmen her herbirinin osteoklast aktivitesini (kemik metabolizmasının biyokimyasal markerları ile ölçülen) süprese yeteneklerini değişiklik gösterir. Ancak kemik bu süperior süpresyonun kırığın önlenmesi için uygun olup olmadığını belirlenmelidir. Aslında veriler, kırık riskinin uzun süreli bifosfonat tedavisinin spesifik kullanılan BP tedavisinden, bağıklık sınırlandırılmasına yönelik tedavinin etkinliğini belirleyen en önemli faktör olduğunu düşündürmektedir (129-131). BP tedavisi uyumunu inceleyen çalışmalarda, klinisyenlerin ilaç tedavisinin güvenliği ve zamanlaması konusunda hasta endişelerini gidererek, hastanın önemli ölçüde tedaviye uyumluluğu artırabilecekleri ileri sürülmektedir (130). Haftalık veya aylık oral bifosfonat tedavisine hasta uyumu oranlarının hangisinde daha yüksek olduğu şu anda tam olarak bilinmemektedir.

### **3.6.1. Osteoporoz**

Osteoporoz BP tedavisinin en sık kullanıldığı, kırık riskinin artmasıyla karakterize bir iskelet hastalığıdır. Osteoporoz etyolojik olarak heterojen bir hastalıktır; hormon kaybı (postmenopozal ve androjen yoksunluğu), iyatrojenik (glukokortikoid kaynaklı ve transplant-ilişkili), fiziksel (hareketsizlik) ve genetik (örneğin, çocuk ve OI-ilişkili) gibi.

Postmenopozal osteoporoz, kemik rezorpsiyonunu artacak şekilde osteoklast kaynaklı kemik resorpsiyonu ve osteoblast kaynaklı kemik oluşumu arasındaki bir dengesizlikle karakterizedir. Bu göreceli dengesizlik iskelet kemik kütlelerinde azalmaya, kemiğin mikro yapısında bozulma bir yol açar ve buda kırık riski artırır. Son 30 yıl boyunca, BP tedavisi selektif olarak osteoklast aktivitesini bastırıldığından ve bu şekilde kemik rezorpsiyonunu geciktirdiğinden için BPs postmenopozal osteoporoz için önemli hale gelmiştir. Kırık oranındaki azalma ve kemik yoğunluğundaki artış genellikle BP kullanımı ile görülür ve bu etkinin eşlik eden osteoblast aktivitesi nispi koruma ile osteoklastlar tarafından oluşturulan yeni remodeling alanlarında aktivasyon sıklığında düşüş ve osteoblast aktivitesinin nispi olarak korunması (en azından başlangıçta) sonucu

olduğuna inanılmaktadır.Bu nedenle, ilk stabilizasyon ve trabeküler bağlantının retansiyonu, yapısal iskele ikincil mineral birikiminin süresi uzun süreli olmasına izin verir ve böylece kemiğin yapısal birimlerinin yüzdesini arttırarak, maksimum derecede mineralizasyona ulaşılır (132). Bifosfonat tedavisi sonrası, iskelet mineralizasyondaki artış kemik hem kırık riskinde azalmaya hem de kemik dansitesindeki artışa sebep olur.Daha da önemlisi, BPs'ın bu rolü dolaylı olarak WHI (Women's Health Initiative) ötrojen ve progesteron bölümü tarafından desteklenmektedir. Çünkükadınlar, bu hormonların salınımının erken bitmesi sonucu hormon terapisi almakta ve östrojen fraktür riskini azaltmaktadır.Buda kadınlarda koroner arter hastalıkları ve göğüs kanseri riskini arttırmaktadır (133).

Alendronat ve risedronatınoral kullanımının vertebra kırıkları(134), kalça kırıkları(134)ve vertebra deformitelerin sayısını ve ayrıca osteoporozlu postmenopozal kadınlarda yükseklik kaybını kesin olarak azalttığı gösterilmiştir(135).İbandronat, son zamanlarda geliştirilen, hem oral hem de i.v preparatları mevcuttur, sadece vertebral fraktürlerin riskini azaltmak için kullanımı ispat edilmişolmasına rağmen bu ilacın nonvertebral ve kalça kırıklarında yeterli etkiye sahip olmadığı gösterilmiştir(136). Fraktür insidansındaki düşüşten önce BMD'deki değişikliklerin ispatlanmış olması, iskeletsel mikro yapının stabilizasyonunun ve kemik turn over'ının fraktür riskinin azaltılmasında önemli olduğunu göstermiştir (137). 10 yıla kadar günlük 10 mg alendronat kullanımının iyi tolere edildiği ve iskeletsel olumsuz bir sonuç görölmediği bildirilmiştir (138). BP tedavisi görmüş postmenopozal bayanlarda yapılan osteoporoz deneylerinin neredeyse hepsinde, düşük kemik kütleli ve osteoporozlu erkelerde inceleniş ve BP tedavisine benzer cevaplar verildiği kanıtlanmıştır (139-141).

Daha yakın zamanlarda, ibandronat ve zoledronik asit menopoz sonrası osteoporoz tedavisinde i.v uygulaması için onay verilmiştir.İbandronat için üç aylık uygulama zoledronik asit için ise yıllık onay verilmiştir. Zoledronik asit üzerine yapılan 3 yıllık bir çalışmada, yıllık i.v zoledronik asit uygulamaklaanlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada vertebral kırıklarda (70%), kalça kırıklarında (41%) ve nonvertebral kırıklarda ise (25%) azalma, ayrıca lumbar spine, klaça ve femur boynunda BMD'de anlamlı artış görölümüş(142). Ek olarak 90 günlük i.v zoledronik asit uygulamasının cerrahi fraktürü tedavi ettiği, takip eden yıllarda yeni klinik fraktürlerin oluşmasını %35 azalttığı ve fraktürlere bağlı ölümleri ise %28 oranında azaldığı gösterilmiştir(143). Daha ilerisi, haftalık en az bir yıllık alendronat tedavisi verilen hastaların yıllık



zoledronik asit tedavisini tercih etmişlerdir (144).BPs'in tercih edilen i.v formulasyonlarının postmenopozal osteoporozun veya kalça kırıklarından sonra kullanılıp kullanılmayacağı tam olarak bilinmemektedir. Bununla beraber i.v bifosfonatlar özellikle oral kullanıma engel bir durum varlığında ve hastalar tarafından i.v kullanım tercih edildiği zaman çok kullanışlıdır.

Son olarak, çeşitli çalışmalar iskeletsel etkisi olan diğer farmakolojik ajanları kullanan osteoporozlu hastarda bifosfonat tedavisinin optimal zamanlaması üzerine yoğunlaşmışlardır.

### **3.6.2. Paget hastalığı**

Postmenopozal osteoporoziste osteoklast aktivitesindeki artışa bağlı genaralize kemik kaybı ile karakterize iken, Paget'te ise bir veya daha fazla remodelingin bozulduğu alanlar mevcuttur ve bu alanlarda osteoklastlara bağlı kemik yıkımını takiben osteoblastların yaptığı kötü kemik depozisyonu bulunur (145). Oluşan kemik zayıf, pamuksu ve lameller yapıdadır. Sıklıkla ağrı, fraktür, ağırlık taşıyan uzun kemiklerin eğilme, iskelette genişleme ve diğer iskeletsel deformiteler görülür. Tedavide köşe taşı olarak, hastalığın altında yatan kemik erimesini bifosfonatlar derinden engeller ve serum alkelen fosfotaz seviyesini normalleştirir. Oral alendronat(146) ve risendronat(147) ve i.v pamidronat (148)ve zoledronik asit(149) FDA'dan onay almış paget hastalığında kullanılabilen ilaçlardır.

### **3.6.3. Malignitelerde bifosfonatlar**

Çoğu kanser osteotroftiktir ve hem kemiğe metastaz yaparlar (göğüs, prostat, akciğer, böbrek) hemde primer olarak kemik iliğinden gelişirler (multiple myeloma).Bu hastalıklar sıklıkla hiperkalsemi, şiddetli kemik ağrısı, iskeletsel yıkım ve patolojik kırıklara neden olurlar.Aslında, iskelet metastatik hastalıkların en yaygın yeridir ve gelişmiş kanser hastalarının% 90 veya daha fazlası iskeletsel lezyonlarından gelişir(150)

#### **3.6.3.1. Meme kanseri**

Kemiğe metastaz yapmış meme kanseri olan hastalar, pamidronat (151), zoledronik asit (152) ve ibandronatın(153)i.v preparatları ile tedavi edilmiş ve büyük oranda iskeletsel ağrıların ve iskeletsel komplikasyonların azaldığı gösterilmiştir.Oral N-BPs arasında

sadece ibandronatın (günlük 50 mg) kemik ağrılarının azaltılmasında ve meme kanserinin kemik komplikasyonlarında sınırlayıcı etkisi olmuştur(154).

Meme kanseri olan kadınların tedavisinde BP kullanımının yardımcı rolü vardır fakat iskelet metastazlarındaki rolü henüz bilinmemektedir. Yapılan klinik bir çalışmaya göre; meme kanserli olan ve opere edilemeyen hastalarda 2 yıl boyunca klodronat tedavisi verilmiş ve kemik metastazlarında anlamlı bir düşüş görülmüştür. Bunun yanında 6 yıllık takipte bütün ölümlerde azalma kaydedilmiştir (155).Meme kanserlerindeBP tedavisi, hormonal tedavidendaha az ilgi görmüş olmasına rağmen, iskelet bütünlüğünü korumak için kemik döngüsünü sınırlayan önemli rolü son zamanlarda takdir edilmiştir(156).Premenopozal dönemde endokrin tedavisi alan meme kanserine hassas olan kadınlarda, zoledronik asitin (4 mg, i.v, 6 ayda bir verilen) kemik kaybını önlediği gösterilmiş olmakla birlikte optimal bisfosfonat tedavi stratejisinin belirlenmesi gerekmektedir (157).Benzer şekilde son zamanlarda, hormona bağlı meme kanseri olan postmenopozal kadınlarda, haftalık oral risedronat tedavisinin kemik kaybını önlediği gösterilmiştir (158).

### **3.6.3.2. Prostat kanseri**

Meme kanseri osteolitik lezyonlarla karakterize iken, prostat kanserine bağlı kemik metastazları osteoblastik karakterdedir. Metastazik prostat kanserlerinin artan kemik rezorpsiyonundaki rolü son zamanlarda kabul görmüştür (159). Plasebo karşılaştırmalı bir çalışmada, hormona dayanıklı prostat kanserli erkeklerde, BPs arasında sadece zoledronik asitin kemik ile ilişkili olaylarda %11 oranında azalma yaptığı gösterilmiştir (160). Hormona duyarlı prostat kanserlerinde androjen tedavisi gören BP kullanımı faydalıdır.İ.v pamidronat tedavisi, gonadotropin salgılatıcı hormon agonist tedavisi alan nonmetastatik prostat kanseri olan erkeklerde hem kalça kemiğinde hem de omurgada kemik kaybını engellerken, i.vyıllık tek doz zoledronik asidin omurga ve kalça kemiğindeBMD'de artışlara yol açtığı ispat edilmiştir (plasebo alan hastalarda düşüşler görülmüştür)(161).Bu sonuçlar, yıllık i.vBP tedavisinin androjen yoksunluğu olan erkeklerde, iskelet bütünlüğünü korumak için yararlı bir tedavi olabileceğini göstermiştir (162).Günlük 2.5 mg dozda oral risedronat tedavisinin, kalça kemiğinde BMD kaybını önlediği ve lumber bölge % 4.9 artış yaptığı gösterilmiştir (163).

### **3.6.3.3. Multiple myeloma**

Multipl miyeloma, kemik iliği boşluğunda malign plazma hücrelerinin klonal çoğalması sonucu osteoliz ve kemik yıkımını ile karakterize morbiditenin çok yüksek seviyede olduğu bir hastalıktır. Multiple çalışmalar, pamidronat ve zoledronik asitin hem miyelom ile ilişkili hiperkalsemi ve iskelet kemik ile ilgili olayların insidansının azaltılmasında önemli bir palyatif bir role sahip olduğunu göstermiştir (6, 164, 165). Şu anda, ne ateşli myeloma ve kemikle ilişkisi olmayan myelomalı hastalar için BP tedavisini destekleyen yeterli veri bulunmakta nede kemik ile ilişkili miyelomada oral BP tedavisi önerilmektedir.

Bifosfonat tedavisi gören multiple myelomalı hastalar, bütün onkoloji hastaları içerisinde BRONJ riski en yüksek olan gruptur ve BP seçimi, dozajı ve tedavi süresi hale çok fazla oranda tartışılmaktadır. MAYO konsensüsünün yaptığı açıklamada, ilaç 2 yıl sonra kesilecekse, hastalarda remisyon elde edilirse ve myeloma daha fazla tedavi gerektirmeyecekse, zoledronik asit alan hastalarda BRONJ riski çok yüksek olacağından, bu grup hastalarda pamidronatın aylık infüzyonun tercih edilmesi önerilmektedir (166). Ayrıca aktif tedavi hala gerekli ise, pamidronatın her 3 ayda bir azaltılmış programı ile devam edilebilir. Uluslararası Myelom Çalışma Grubu genel olarak MAYO konsensüsü ile aynı fikirde olmakla beraber; grup, hasta klinik remisyona 1 yıl sonra girince pamidronat tedavisi kesilmesini önermekte ve ayrıca belirtilen azaltılmış doz programını tavsiye etmemektedir (167). BPs, multiple myelomada önemli bir farmakolojik yaklaşımın olmakla beraber, bu ilaçların optimal kullanımına ilişkin tartışmalar halen devam etmektedir.

### **3.6.3.4. Diğer maligniteler**

Renal hücre karsinomu gibi kemik metastazı daha az olan diğer malignitelerde bifosfonat kullanımının, iskelet hastalığının başlamasını ve ilerlemesini geciktirdiği gösterilmiştir ve klinik olarak kemiği daha az etkileyen hastalıklarda bifosfonat kullanımının faydalı olabileceği ileri sürülmüştür (168). Ancak şu anda, bu maligniteler için BP tedavisinin rutin kullanımını destekleyecek veriler sınırlı ve yetersizdir.

### **3.7. Çocuklar İçin Bifosfonat Tedavisi**

Osteogenesis imperfecta (OI) genellikle tip I kollajen genlerindeki mutasyonlardan kaynaklanan, esas olarak azalmış kemik kütlesi ve artmış kırılma ile karakterize

kalıtsal iskelet bir hastalıktır. BPs geçtiğimiz on yılda, yetişkinlerde en yaygın olarak kullanılan ilaçlar olmasına rağmen, OI tedavisinden de kullanılır haline gelmiştir.

Glorieux(169) tarafından geliştirilen tedavi rejiminin (yıllık doz 9 mg / kg 'lık olacak şekilde, 3 günde verilecek ve her 2-4 ayda v pamidronat) kortikal kalınlıkta % 88 trabeküler kemik hacmi 46%(170)oranında bir artışa yol açtığı fonksiyonel olarak önemli bir iyileşme olduğu gösterilmiştir.

Daha yakın zamanlarda yapılan çeşitli çalışmalarda oral alendronat tedavisinin BMD önemli artışlara yol açabileceğini ve çocukları etkileyen OI'da kırıkları azalttığı göstermiştir (171-173).

Osteogenesis imperfecta'da BPs hangi mekanizma ile kırıkları azalttığı kesin olarak bilinmemekle birlikte,OI hastalardan alınan kemik biyopsi örneklerinin histomorfometrik analizleri sonucunda, kemik turn over'ının arttığı (göreceli olarak osteoklast ve osteoblast aktivitesi artışına bağlı) gösterilmiştir. (174). BPs,anormal kollajen matris ortamında, özellikle osteoklast kaynaklı kemik resorpsiyonunu inhibe ederek, kemik oluşturan osteoblastlara kemik oluşturabilmeleri için daha fazla zaman tanırılar.Aslında, pamidronat tedavisi yapılmış OI hastalarından alınan iliak biyopsi örneklerinin histomorfometrik analizlerinde,kortikal kalınlığın ve trabekül sayısının arttığı ancak trabeküler kalınlığında bir artış olmadığı gösterilmiştir (175).

Bifosfonat tedavisi OI'lı çocuklarda için iyice anlaşılmış olmasına rağmen,osteoporoz çocuklarda sekonder kronik hastalıklarda (kistik fibrosis, juvenile romatoid artirit, anorexia nervosa) veya bu hastalıkların ciddi alevlenmelerinde, BPs kullanımının etkinliği hakkında veriler sınırlıdır.

Bifosfonat tedavisi almış sekonder osteoporozlu çocuk ve ergenlerde yapılan sistematik bir incelemede,3 yıl ya da daha az süre için BP tedavisi iyi tolere edilmesine rağmen, standart tedavi olarak BPs'in kullanımı için çok az kanıt olduğu sonucuna varılmıştır (176). Çocuklarda görülen osteoporozun bütün formlarının teşhis ve tedavisi için iyi yapılmış çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (177).

Sonuç olarak, BPs'in iskeletsel yarı ömürlerinin çok uzun olduğu bilinmektedir, pamidronat 8 yıl sonra idrar örneklerinde görülmüştür(178), bu yüzden özellikle on yıl içinde üreme olgunluğuna ulaşacak ergen ya da genç kızlarda için bifosfonat tedavi göz önüne alındığında dikkat edilmesi gerekmektedir.Şu anda, fetal gelişim sırasında uzun

sürekli pamidronate veya diğer BP tedavisinin güvenilirliği sadece sınırlı anekdotal verilerle değerlendirilmiştir (179).

### **3.8. Bifosfonat Tedavisi ile İlgili Klinik Kaygılar**

#### **3.8.1. Çenelerde görülen osteonekroz**

Bifosfonatların kullanımı ile ilgili potansiyel klinik yan etkiler arasında, en fazla ilgi BRONJ üzerinde olmuştur. Woo ve diğerleri (180), onkolojik hastalarda hemen hemen tüm BRONJ vakalarının (% 94) yüksek doz i.vBP alan hastalarda ortaya çıktığını (esas olarak zoledronik asit ve pamidronat) göstermişlerdir. BRONJ prevalansı meme kanserli hastalarda % 4 oranında görülmekte, myeloma hastalarında ise % 7 ile % 10 arasında değişmektedir(181). Daha yakın zamanlarda yapılan çalışmada, 1 yıl boyunca aylık i.vBP verilen hastalara sonra her 3 ayda bir azaltılmış dozaj çizelgesi uygulanmış ve bu aylık BP infüzyon ile karşılaştırıldığında BRONJ'nin sıklığında azalma olduğu gözlenmiştir(182). BRONJ'nin insidansı 100 onkoloji hastasında, 1-10 arasında bir oranda olduğu tahmin edilmesine karşın, BRONJ'nin riski eksik verilere dayalı olmasına rağmen, oral bifosfonat tedavisi alan osteoporozlu hastalar arasında önemli ölçüde daha düşük olduğu görülmektedir (yaklaşık olarak tedavi edilen hastalar arasında yılda 100.000 'de 1 ila 10,000'de 1 arasında) (13). İlgili risk faktörleri arasında; kötü ağız hijyeni, dental prosedürler veya protez kullanımı öyküsü ve yüksek i.v bifosfonat dozlarına uzun süre maruz kalma sayılabilir (183). Eşzamanlı kemoterapi veya glukokortikoid kullanımı BRONJ riskine neden olup olmadığı bilinmemektedir(184). BRONJ oluştuğu zaman, bakım için antiseptik ağız gargaraları ve antibiyotikler büyük ölçüde koruyucudur. Ayrıca çoğu durumda sınırlı cerrahi debridman destekleyici tedavi olarak gerekli olabilir (185). Böyle bir durumda kanıta dayalı kılavuzlar tek bir malignite veya BP'ın için kurulmuş olmamasına rağmen, BP tedavisine başlamadan önce ve tedavi esnasında, dental hijyen için aktif veya beklenen diş sorunlarında içeren oral muayeneye büyük itina gösterilmelidir.

Bifosfonat kullanımı ve BRONJ'nin gelişimi arasında geçici olarak ilişkili olmasına rağmen, nedensel bir ilişki tespit edilmemiştir. Bifosfonat tedavisi ile BRONJ arasındaki ilişki ilk olarak 2003 (11) yılında bildirilene kadar temel sorular cevapsız kalmıştır. Bu süreçte ilk adım olarak American Society for Bone and Mineral Research tarafından yapılan tarif olmuştur. BRONJ en az 8 haftadır iyileşmemiş, maksillo fasiyal bölgeden radyoterapi almamış, bifosfonat kullanmış veya kullanmakta olan hastalarda

görülen eksoze kemik varlığı durumudur (13).BRONJ'nin önlenmesi ve tedavisindeki klinik yaklaşım, risk faktörleri ve gerçek insidansı konusunda bilgi yetersizliğinden dolayı, BRONJ'nin gelişme riski yüksek olan hastaların tespiti, bifosfonat tedavisi ve BRONJ'nin arasındaki ilişkiyi tam olarak anlamak için,klinik öncesi temel ve hayvan çalışmalarının yanı sıra, iyi tasarlanmış klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

### **3.8.2. Kemik turnover'nın aşırı baskılanması**

Bisfosfonatlar osteoklast aktivitesini inhibe ettiği için,uzun süreli bifosfonat tedavisinin kemik remodeling'inin aşırı baskılanması, iskeletsel mikro çatlakların onarılamaması ve artan iskeletsel kırılabilirlik ile karakterize “frozen bone,”a yol açtığı konusunda bazı endişeler olmuştur. Mikro kırıklardaki artış oranları yüksek dozda bisfosfonat ile tedavi edilen köpeklerde bulunmasına rağmen (186),bu bulgu oral veya i.vBP tedavisi gören postmenopozal osteoporozlu kadınlar arasında yaygın olarak görülmemiştir (187). Ancak bu hastalardaciddi bastırılmış kemik turn over'ı ve bununla ilişkili kırık vakaları bildirilmiştir (188).

### **3.8.3. Hipokalsemi**

Hipokalsemi en sık i.vBP verildikten sonra ve osteoklast kaynaklı kemik rezorpsiyonunun yüksek oranlarda olduğu hastalardapaget hastalığı (189) ve önemli iskeletsel tümörler (190), daha önce tanımlanamamış hipoparatiroidi(191), renal fonksiyon bozukluğu veya tedaviden önce D hipovitaminozu(192) olanlarda görülebilir. Tedavisi büyük ölçüde uygun şekilde kalsiyum ve vitamin D takviyesidir.

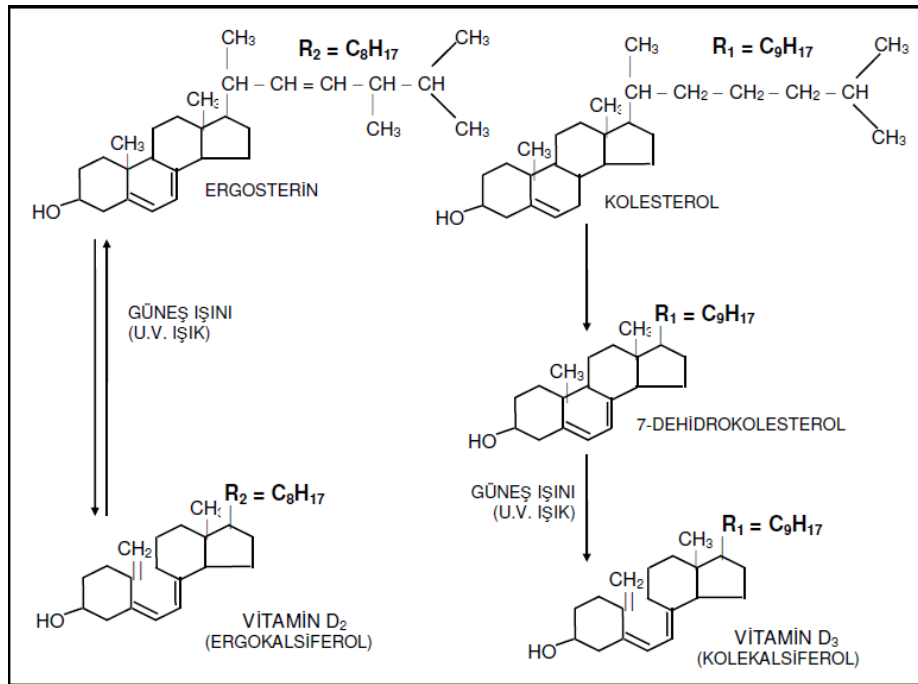
### **3.8.4. Akut enflamatuvar cevap**

İl defa N-BP infüzyonu alan hastaların yaklaşık %10 ila %30'u, geçici bir ateş ile karakterize miyalji, eklem ağrıları, baş ağrısı ve grip benzeri semptomlar ile karakterize akut faz reaksiyonu karşılaşabilmektedirler. Bu oran daha sonraki her infüzyonda yarıdan daha fazla oranda düşüş gösterir veyapılan çalışmada bu oranın üçüncü infüzyondan sonra % 2.8 oranında olduğu bulunmuştur(142). Akut faz tepkisi, periferal kan T-hücreleri tarafından  $\gamma\delta$  pro-enflamatuvar sitokin üretiminin bir sonucu olduğu düşünülmektedir (193). Tedavi öncesi histamin reseptör antagonistleri veya ateş düşürücü verilmesi duyarlı hastalarda sıklığı ve belirtilerin şiddetini azaltabilir. Bazen kortikosteroidlerdende yararlanılabilir. Doktorlar bifosfonat tedavisinin nadir yan etkisi olan göz iltihablarında (konjunktivit, üveit, episklerit ve scleritis) farkında olmalıdır.

Bu komplikasyonun, hem oral hem de i.v bisfosfonat tedavisinde olduğu bulunmuştur. Yapılan retrospektif bir çalışmada, oral risedronat ile tedavi edilen hastalarda yaklaşık %0,1 oranında tespit edilmiştir(194). Ayrıca oküler belirtiler genellikle bifosfonat kesildikten sonraki birkaç hafta içinde geçmektedir.

#### 4.1. Vitamin D

İnsan organizması için vitaminlerin önemi tartışmasızdır. Vitaminler vücut için esansiyel olup, vücutta üretilmeyen, besinlerle veya ek olarak dışarıdan alınması zorunlu olan ve enzim tepkimelerinde yardımcı gibi rol oynayan maddelere verilen ortak isimdir. En önemli vitaminlerden birisi de vitamin D'dir(195). Yağda eriyen vitaminler arasında bulunmaktadır. Vitamin D vitaminden çok steroid yapılı bir hormon olarak değerlendirilir. Çünkü vitamin D güneş ışınlarının etkisiyle ciltte üretilerek kan dolaşımına verilir, diğer dokular üzerinde etki gösterir ve bu etkisi feedback mekanizmalarla düzenlenir (25). Ayrıca aktif vitamin D'nin kimyasal yapısı steroid hormonları ile benzerdir (195). (Şekil 12).



**Şekil 12:** Kolesterol, Ergosterin, Vitamin D<sub>2</sub>(ergokalsiferol) ve Vitamin D<sub>3</sub>(kolekalsiferol)'ün moleküler yapıları(196).

Vitamin D vücutta iki temel şekilde bulunmaktadır:

1. Deride sentezlenen kolekalsiferol (vitamin D3)

2. Besinlerle alınan ergokalsiferol (vitamin D2) (Şekil 12).

Normal koşullar altında insan vücudunda bulunan vitamin D'nin %90-95'i güneş ışınlarının etkisi ile deride yapılır. Yapılan araştırmalar insan vücudunda vitamin D3'ün vitamin D2'ye göre çok daha etkili olduğunu göstermiştir (197, 198).

Vitamin D kalsiyum, fosfor ve kemik metabolizmasının en önemli fizyolojik düzenleyicilerinden birisidir ve bu metabolizmasını; paratiroid bezler, kemik, bağırsak ve böbrek üzerine gösterdiği etkilerle düzenler (195). Serum kalsiyum seviyesinin düzenlenmesinde paratiroid hormon (PTH) ile sinerjik etki gösterir(199).

Vitamin D'nin aktif formu olan 1,25-dihidroksivitamin D3 [1,25(OH)2D3] nükleer vitamin D reseptörü (VDR) aracılığı ile hücre farklılaşması, proliferasyonu ve immünmodülasyonu gibi önemli biyolojik etkilere sahiptir. Ayrıca vitamin D hücre reseptörüne bağlandıktan sonra bu etkilerini göstermesinde yardımcı olan birçok geni de regüle eder(30).

Vitamin D yetmezliği infant ve çocuklarda riketse yol açarken, erişkinlerde ise osteoporozu ağırlaştırır ve presipite eder, ayrıca ağırlı bir kemik hastalığı olan osteomalaziye sebep olur (200). Vitamin D'nin sağlıklı kemik gelişimi yanı sıra, birçok kanser tipinin, otoimmün ve allerjik, kardiyovasküler ve enfeksiyon hastalıklarının önlenmesinde gerekli olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir(201).

#### **4.2. Vitamin D Kaynakları**

Gerçekte bir prohormon olan vitamin D vücutta iki temel şekilde bulunmaktadır. 1) Vitamin D3 veya kolekalsiferol (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O), 2) Vitamin D2 veya ergokalsiferol (C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O). İnsanlar vitamin D'yi yiyeceklerden veya diyet desteklerinden alabilmekte ve deride güneş ışığına maruziyetle endojen sentezle yapabilmektedirler(31).

Hayvansal kaynaklı besinlerden; balık yağı, tereyağı, yumurta sarısı, süt ve sebzelerden; mantar brokoli, yeşil soğan ve maydanoz vitamin D yönünden zengindir (31). Endojen olarak kolesterol sentezinde ara metabolit olan 7 dehidrokolesterolden(7DHC)



sentezlenmektedir. 7DHC'den güneş ışığı maruziyeti ile dermis ve epidermiste kolekalsiferol oluşmaktadır (202).

Özellikle takviye edilmedikçe besinlerle alınan vitamin D'nin büyük bir önemi yoktur. Vücudunda bulunan vitamin D'nin büyük bir kısmı (% 90- 95) güneş ışınlarının etkisi ile deride sentezlenir. Hiçbir gıda maddesi günlük ihtiyacı karşılayacak kadar vitamin D içermediğinden dolayı güneş ışığı temel kaynaktır ve güneş ışığına maruz kalma engellenmedikçe ve güneş ışığından yeterince faydalandığı takdirde ilave vitamin D almaya gerek yoktur(203).

#### **4.3.Vitamin D'nin Biyokimyası ve Fizyolojisi**

Vitamin D, steroid yapısında 27 C'lu bir hormondur ve yağda çözünür özelliktedir.Vitamin D'nin 37 metaboliti mevcut olup kalsiyum ve fosfor metabolizmasının en önemli hormonudur.Bu metabolitler içerisinde en fazla bilinen iki formu vitamin D2 vitamin D3'tür(204).

Vitamin D3 üç adet çift bağa sahiptir ve erime noktası 84-85 oC dir. Suda çözünmez [10m-5]. UV absorpsiyonu ise 265 nm de maksimumdur. Vitamin D2 ise dört adet çift bağa sahip olup kaynama noktası 121 oC'dir. UV absorpsiyon ve çözünebilirlik özellikleri D3 ile aynıdır(205).Vitamin D ısıya, ışığa ve saklama koşullarına karşı duyarlıdır.Vitamin D yan zincirindeki farklılık nedeniyle değişik formlara sahiptir ve biyolojik olarak inaktiftir(32, 198).

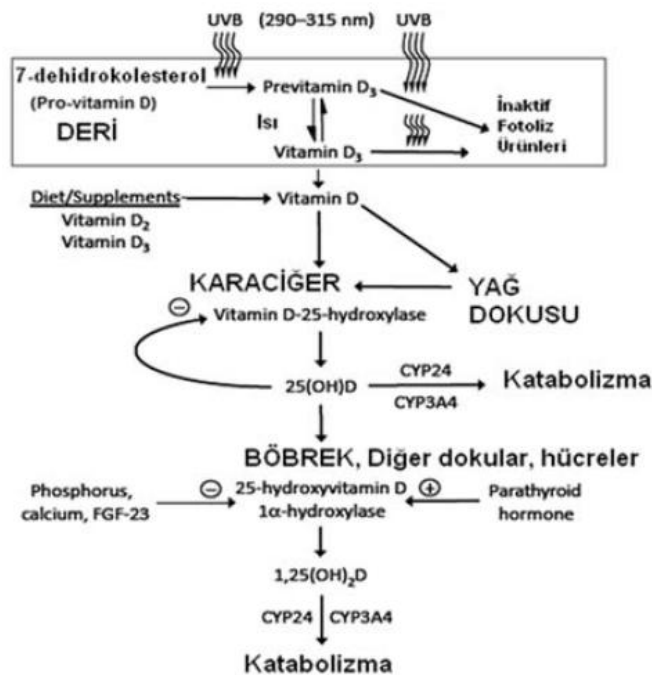
#### **4.4.Vitamin D'nin Metabolizması**

Karaciğerde sentez edilen kolesterol burada 7DHC'ye çevrildikten sonra periferik kana geçerek derinin malpighi tabakasına gelir. Vitamin D, yeterli ultraviyole ışımına (290-315 nm) maruz kalan deridesentezlenir (206).Epidermis güneş ışığına bağlı vitamin D3 sentezinde en önemli yapıdır.Epidermise penetre olan UV ışınları,deride bulunan inaktif provitamin D3 (7-dehidrokolesterol)'üfotoliz yaparak previtamin D3'e dönüştürür(207).Genç ve yaşlılarda vitamin D3 %80'in üzerinde derinin epidermis tabakasında, %20 kadarı da dermiş tabakasında sentezlenir(208).Alternatif olarak diyetteki vitamin D proksimal ince barsaktan kana geçer (204).Vitamin D, safra varlığında ince bağırsaktan absorbe olur ve lenf sistemi ile dolaşıma katılır. Bu özelliği ile vitamin A'ya benzerlik göstermektedir.

Deride sentezlen 7DHC'nin bir sonraki basamağında karaciğer rol oynamaktadır. Karaciğerde 7DHC, 25. karbon atomunun hidroksilasyonu ile 25-hidroksivitamin D'ye (25(OH)D) dönüşmektedir. 25(OH)D vitamin D'nin dolaşımdaki en önemli şekli ve vitamin D deposunun en güvenilir göstergesi olup dolaşımdaki yarı ömrü 2-3 haftadır (204). Ancak vitamin D'nin aktif formuna dönüşebilmesi için böbreklerde 1 alfa hidroksilaz ile [1,25(OH)2D] 'ye dönüştürülmesi gerekmektedir. 1 alfa hidroksilaz enzimi vitamin D sentezinde anahtar enzimdir. 25(OH)D böbreklerde vitamin D'nin en aktif şekli olan 1,25(OH)2D3'e (kalsitriol) hidroksillenmektedir. Bu metabolit 25(OH)D'den 100-500 kez daha aktiftir ve bağırsaktan kalsiyum emilimini artırır. 1,25(OH)2D3 yeterli düzeye ulaştığında 24 hidroksilaz enziminin salınımını arttırmakta, bunun üzerine eklenen kısmı böbreklerde 24,25-dihidroksivitamin D3 (24,25(OH)2D3) şekline dönüştürülmekte ve sonra katabolize edilmektedir (205).

Vitamin D ve metabolitleri, steroidler gibi karaciğerde hidroksillenmek ve konjugasyon suretiyle inaktive edilirler. Bu olayda karaciğerin mikrozomal karma fonksiyonlu oksidazları (sitokrom P450 enzim türleri) kısmen rol oynarlar.

Vitamin D, bağırsaklarda emildikten sonrakaraciğer tarafından alınır ve depolanır. Yapılan çalışmalara göre; vitamin D temelde karaciğerde olmak üzere, en çok yağ dokuda ve daha sonra kas dokuda depolandığını bildirilmiştir (Şekil 13) (209).



### Şekil 13: Vitamin D'nin metabolizması(210).

#### 4.5.Vitamin D Eksikliği ve Fazlalığı

İnsanlarda vitamin D eksikliği uygun bir diyet alımı olmadığı zaman ya da UVB ışınlarına yeterli miktarda maruz kalmadığı zaman oluşur.

Vitamin D eksikliğinin nedenleri; ciltte azalmış sentez, azalmış absorpsiyon, artmış sekestrasyon, artmış katabolizma, emzirme, 25(OH)D sentezinin azalması, 25(OH)D'nin artmış üriner kaybı, 1,25(OH)2D sentezinin azalması, genetik hastalıklar, edinilmiş hastalıklar bulunmaktadır.

Vitamin D eksikliği günümüzde çok yaygın medikal durumlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır (211). Vitamin D eksikliği sinsi seyrederek ve belirti ve bulguları spesifik olmadığından sıklıkla tanınmaz ve tedavi edilemez. Vitamin D eksikliğinin yaygın belirtileri bel, pelvis, alt ekstremitelerde ağrı veya kemik rahatsızlıkları, düşme riskinde artış, bozulmuş fiziksel fonksiyon, kas ağrıları, proksimal kas güçsüzlüğü, kadınlarda simetrik bel ağrısıdır(201). İnsanlarda vitamin D'nin her iki şeklide (D2-D3) bulunmaktadır.(1,25(OH)2D)'nin yarı ömrü 4-6 saat ve sirkulatuar düzeyleri 25(OH)D'den 1000 kat düşüktür(212)11m-2.25(OH)D ise majör sirkulatuar form olup yarı ömrü 2-3 haftadır.25(OH)D hem vitamin D alımını ve hem de endojen yapımını göstermektedir(213). Ayrıca kemik hücrelerini de içeren birçok periferik doku dolaşımdaki 25(OH)D'yi 1,25(OH)2D'ye dönüştürme kapasitesine sahip olduğundan bölgesel ihtiyaç karşılanır ve eksiklik anlaşılabilir (214). Bu yüzden eksiklik, yetersizlik ya da zehirlenme için biyolojik aktif formu uygun değildir ve serum 25OHD düzeyine bakılmalıdır.

25-hidroksivitamin D'nin optimal düzeyi hakkında görüş birliği olmamasına rağmen, pek çok uzman tarafından D vitamini eksikliği 25(OH)D düzeyinin mililitre başına 20 ng (50 nmol) altındaki durum olarak tarif edilmiştir.

D vitamini fazlalığı (intoksikasyonu) için ise 25OHD düzeyinin 150 ng/ml den yüksek olması tanı koydurucudur.21 ile 29 ng/ml arasında ise D vitamini yetersizliği, 30 ng/ml'den yüksek ise normal D vitamini düzeyini göstermektedir(215). Vitamin D intoksikasyonu çok nadir bir durumdur. Çalışmalar günlük 25-OH D'nin 50,000 IU 'den (150 ng / ml) fazla olan dozunun hiperkalsemi ve hiperfosfatemi ile ilişkili olduğunu

göstermiştir (216). Ayrıca 5 ay boyunca günlük 10,000 IU alımının toksisiteye sebep olmadığını gösterilmiştir (217).

D hipervitaminozunun belirtileri yorgunluk, bulantı, kusma ve halsizliktir ve muhtemelen hiperkalsemi sonucu oluşur. Yalnız güneşe maruz kalma vitamin D zehirlenmesine yol açmaz ve aşırı vitamin D3 güneş ışığı tarafından yok edilir.

1997 yılında, ABD Ulusal Akademi Bilimleri Tıp Enstitüsü, günlük yeterli vitamin D alımı için; çocuklar ve 50 yaşına kadar yetişkinler için 200 IU, 51-70 yaş yetişkinlerde 400 IU, 71 yaş ve üstü 600 IU alımı önermektedir(218).Ancak, yapılan önemli sayıdaki çalışmalarda yeterli güneşe maruz kalmayan çocuklar ve yetişkinler için günde yaklaşık 800-1000 IU ihtiyaç olduğunu ortaya koymuştur.

#### **4.6. Serum 25(OH) Seviyesi ve İlaç Etkileşimleri**

Vitamin D, kalsiyum kanal blokerleri, glukokortikoidler, heparin, kolestiramin gibi ilaç gruplarıyla etkileşim gösterebildiğinden bu ilaçları kullanan bireylerin dikkat etmesi gerekir.

#### **4.7.Vitamin D Reseptörleri**

Vitamin D reseptörü (VDR)intraseluler reseptördür ve steroidretinoid-tiroid hormon-vitamin D transkripsiyon düzenleyici faktörlerin nükleer reseptör süperfamilyasındandır(202).Ca ve P metabolizmasının olduğu dokularda, hedef organlar olarak bilinmeyen cilt, meme, hipofiz, paratiroidler, pankreas beta hücreleri, gonadlar, beyin, iskelet kası, prostat, akciğer ve kolonda bulunmaktadır (219).VDR'lerin dolaşımdaki monositler ile aktive T ve B lenfositleribasta olmak üzere hemen bütün immun sistem hücrelerindevitamin D immun regülasyonundaki rolüne dikkatleri çekmiştir.Ayrıca benign, hiperplastik ve malignant epitelyal ve fibroblastik dokularıda 1,25(OH)2D reseptörlerine sahiptir (209).

#### **3.8.Vitamin D Fonksiyonu**

Vitamin D kalsiyum, fosfor ve kemik metabolizmasının en önemli fizyolojik düzenleyicilerinden birisidir ve bu metabolizmasını; paratiroid bezler, kemik, barsak ve böbrek üzerine gösterdiği etkilerle düzenler(195). Vitaminin D biyolojik etkisini aktif metaboliti olan 1,25(OH)2D aracılığıyla gerçekleştirir.

Vitamin D, kalsiyumu normal değerlerde tutabilmek için böbrek, bağırsak ve kemikte üç farklı mekanizma ile etki gösterir:

1) Bağırsaklarda  $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ 'nin net etkisi; ince barsak lümeninden dolasına kalsiyum ve fosfor aktif transportunu artırmaktır ve fosfor reabsorpsiyonunu uyarır.  $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$  Duodenumdan Ca, ileumdan P absorpsiyonu arttırmaktadır (215).

2)  $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ , kemik rezorpsiyonunu arttırmaktadır.  $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$  vitamininin kemik rezorpsiyonunu arttırıcı etkisi PTH ile sinerjistikdir. Matür osteoklastlarda ne PTH ne de  $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$  vitamini reseptörü bulunur. RANKL(reseptör activator nucleus factor-Kb) preosteoklastlarda RANK ile etkileşime girerek immatür osteoklast prekürsörlerinin matur osteoklastlara dönüşmesini sağlamaktadır. Böylece kemik rezorpsiyonu artmaktadır.

3)  $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ 'nin renal epitelyumdan kalsiyum ve fosfor transportundaki rolü halen belli değildir.(195).

- $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ , paratiroid glandlardan nükleer reseptörü aracılığıyla etki göstererek, PTH sentezini ve salımını azaltmaktadır(220).

-Yaklaşık 200 den fazla genin regülasyonu direkt veya indirekt olarak (Osteokalsin, osteopontin, kalbindin, 24-hidroksilaz, karbonik anhidraz gibi)  $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$  tarafından yapılmaktadır(209). Bu genler hücre proliferasyonu, diferansiasyonu, apoptozis ve anjiogenezisi üzerinde önemli role sahiptirler. Lösemi, meme, kolon ve prostat kanser hücrelerinde büyümeyi engelleyerek bu hücrelerdeki malign transformasyonu azalttığı ileri sürülmektedir (221). Hücre siklusu, apoptoz ve farklılaşmayı içeren pek çok kompleks genlerin transkripsiyonunu düzenler.

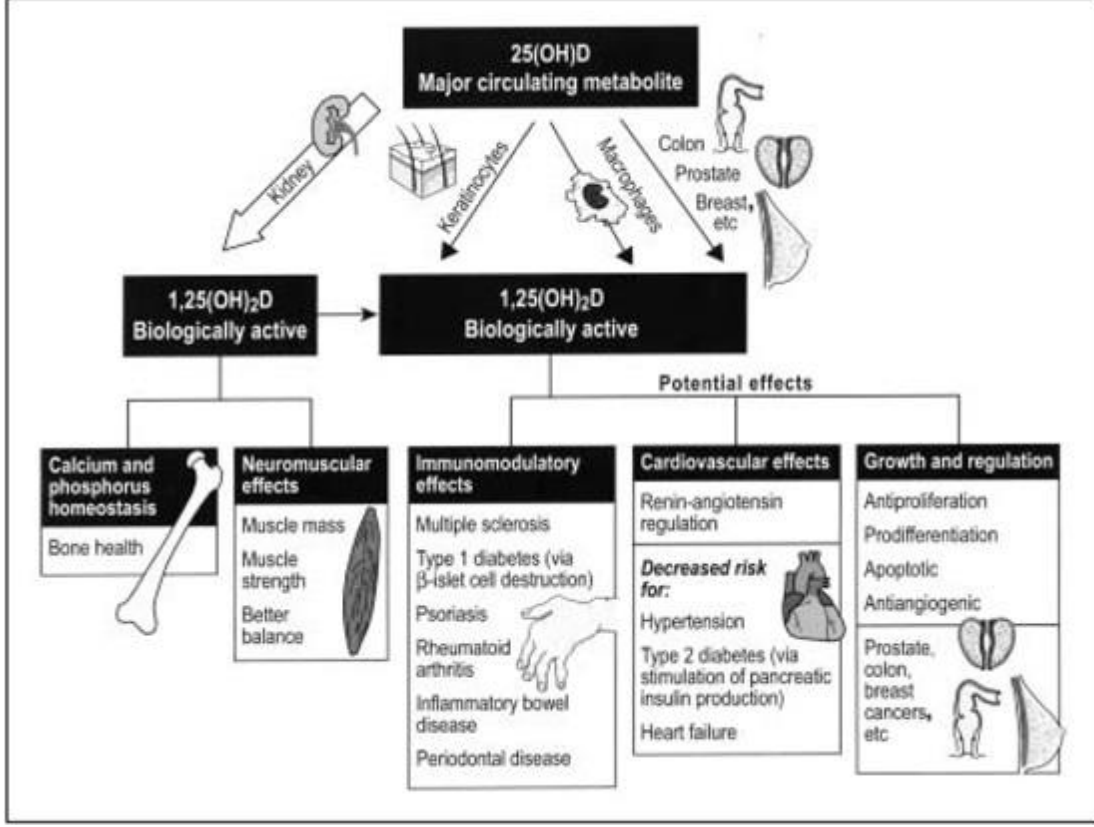
- $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ , güçlü bir immunomodülatör etki göstermektedir.

Vitamin D'nin immünmodülatör etkisi ile ilgili ilk deliller; düşük  $25\text{OHD}_3$  düzeyleri olanların M. tuberculosis infeksiyonuna daha hassas ve hastalığı daha ağır geçiriyor olmalarının fark edilmesiyle gündeme gelmiştir (222).

- $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ , insülin seviyesini düzenleyerek şeker metabolizmasına katkıda bulunur (223).

-1,25-dihidroksivitamin D3 renin üretiminin güçlü bir düzenleyicisidir ve dolayısıyla hipertansiyon ve kalp-damar kalp hastalığının önlenmesinde önemli rol oynayabilir.

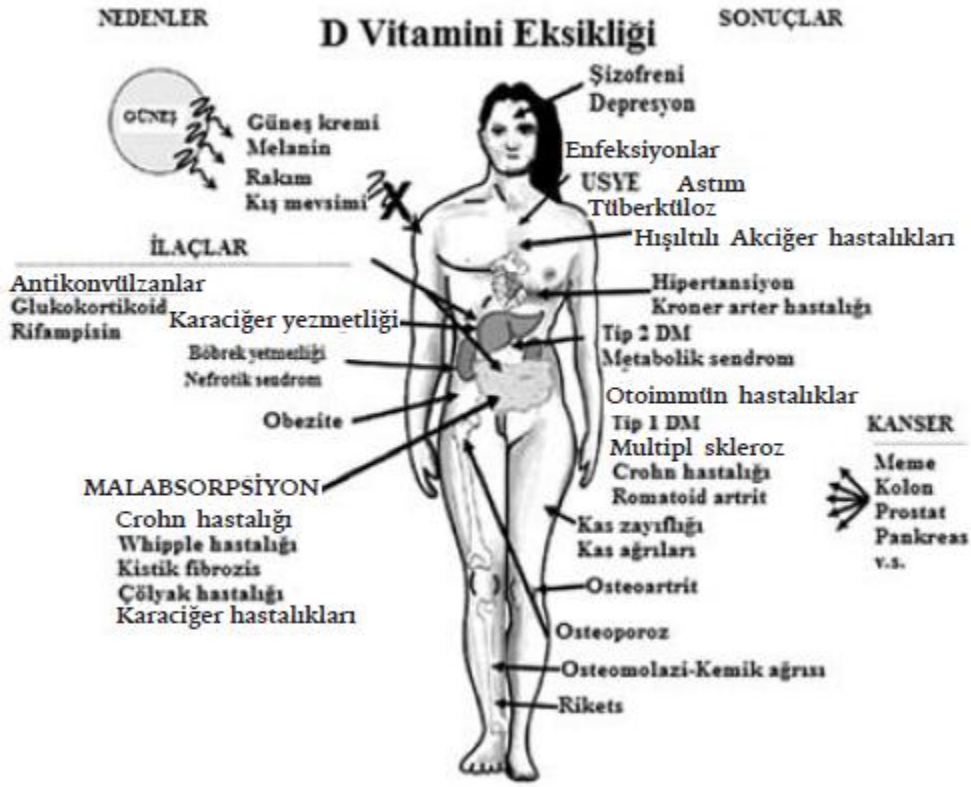
-1,25(OH)<sub>2</sub>D, myokardial kontraktileti arttırmaktadır (Şekil 14) .



Şekil 14: Vitamin D'nin biyolojik etkileri(224)

#### 4.9.Kas ve İskelet Sistemi Dışındaki Etkileri

Son epidemiyolojik çalışmalar muhtemelen vitamin D'nin antiinflamatuvar, immünmodülör özellikleri ve sitokin seviyeleri üzerine olası etkileri nedeniyle düşük vitamin D seviyelerini kanserler, otoimmün hastalıklar, hipertansiyon ve enfeksiyöz hastalıklar gibi birçok hastalığın artmış riskiyle ilişkilendirmektedir (Şekil 14)(201, 214, 225-227).



**Şekil 15:** Vitamin D eksikliği'ne ait risk faktörleri ve ilişkili hastalıklar(210).

#### 4.9.1. Kardiyovasküler hastalıklar

Kardiyovasküler sisteme ait endotelial hücreler, kardiomyositler, vasküler düz kas hücrelerinde VDR bulunur ve aktif vitamin D ile etkileşime girerler. Birçok epidemiyolojik ve klinik çalışmada vitamin D eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki güçlü bir ilişkinin olduğuna dikkat çekilmiştir (228-230).

Son zamanlarda yapılan randomize kontrollü çalışmada vitamin D'nin düşük kan basıncına yardımcı olabileceği gösterilmiştir(231). Daha çarpıcı sonuçlar ise, 6 yıldan fazla süren kalp krizi geçiren 548 hasta üzerinde yapılan çalışmada ortaya konmuştur. Bu çalışmada 548 hastanın 378 inde düşük vitamin D seviyesi görülmüş ve düşük vitamin D seviyesinin kardiyovasküler rahatsızlığı olan hastalarda ölüm riskini artırdığı bulunmuştur(232). Bu çalışma, yüksek vitamin D durumu ile kalp yetmezliği olan hastaların hayatta kalmaları arasında güçlü bir ilişki olduğunu gösterir. Yapılan daha ileri bir araştırmada arterlerde kolesterol birikmesini ile vitamin D eksikliği arasında ilişki olduğu gösterilmiştir(233). 2010 yılında İngiltere'de yapılan 28 çalışmalık bir derlemede, orta yaşlı ve yaşlı yetişkinlerin vitamin D düzeyleri yeterince yüksek olduğu

durumda % 33 oranında kalp hastalığından korunma riskine sahip olduğu bulunmuştur (234).

Kuzey ülkelerinde daha yüksek oranda kalp hastalıkları görüldüğü ve özellikle kalp krizinin kış aylarında %53 daha fazla gerçekleştirildiği bildirilmektedir. Bu bulgular güneş ışınlarının vitamin D yapımına etkisinin olduğunu düşündürmektedir(235, 236).

#### **4.9.2. Diyabet**

Vitamin D Reseptörleri aktif T ve B lenfositlerinde, aktif makrofajlar, dentritik hücreler gibi özellikle antijen sunan hücreler başta olmak üzere bütün immun sistem hücrelerinde ve yanı sıra pankreatik beta hücrelerinde de tanımlanmıştır.

Yapılan çalışmalarda vitamin D ile her iki diyabet tipi arasındaki ilişkiye bakılmış ve her iki diyabet tipinde de vitamin seviyesinin düşük olduğu gösterilmiştir. Ayrıca vitamin D tip 2 diyabette önemli olan çevre dokulardaki insülin direncini düşürmektedir. Böylece insülin direnci nedeniyle kan şekeri artışı yanıt olarak oluşan aşırı insülin salınımını azaltmaktadır(237, 238).

2-4 yıldan fazla süren 83,779 diyabet öyküsü olmayan bayanlarda yapılan bir çalışmada; günlük kombine 1200 mg dan fazla kalsiyum ve 800 IU den fazla vitamin D alan grupta, günlük 600 mg dan az kalsiyum ve 400 IU den az vitamin D alan gruba göre 33% daha az oranda tip 2 diyabet görülmüştür (239).

31 yıldan daha fazla süren 10,366 Finlandiyalı çocuk üzerinde yapılan diğer bir çalışmaya göre; hayatlarının ilk yılında günlük 2000 IU vitamin D alanlarda tip 1 diyabet riski yaklaşık olarak % 80 oranında azalmaktadır (240).

#### **4.9.3.Kanser**

Vitamin D hücre büyümesini düzenleyen en güçlü hormonlardan biridir. Vitamin D reseptörleri içeren birçok hücre tipi keşfedilmiştir. Bu reseptörler, 1,25(OH)2D ile aktive edilebilirler ve normal işleyen hücrelerin farklılaşmasını indükler, proliferasyon, invazyon, anjiyogenez ve metastatik potansiyelini inhibe ederler. Akciğer kanserleri, kolon, böbrek, göğüs ve prostat gibi tümör modellerinde, vitamin D'nin metastaz karşıtı bir rol oynadığı keşfedilmiştir(28, 241).



Vitamin D'nin kanserdeki rolü ilk melanom ve lösemi hücre kültürü kullanılarak yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu invitro çalışmalarda; 1,25-(OH)2D3'ün 1 nm konsantrasyonlarında hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını inhibe ettiği gösterilmiştir(242, 243).

Vitamin D ve çeşitli kanser türleri arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Jenap ve arkadaşlarının(244) yapmış olduğu bir çalışmada, vitamin D eksikliği olan kadınların meme kanserine yakalanma riskinin % 222 den daha fazla olduğu; bir diğer çalışmada vitamin D eksikliği olanlarda kolorektal kanser riskinin % 40 daha fazla olduğu; başka bir çalışmada ise prostat kanseri için belirgin risk artışı olduğu gösterilmiştir.

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda da vitamin D eksikliğinin, kolon(245), göğüs (246) yumurtalık (247) ve prostat (248) kanserine bağlı her yıl binlerce erken ölüme sebep olabileceğini işaret edilmektedir.

Birçok çalışmada yeterli vitamin D seviyesi ile düşük kanser riski arasında koruyucu ilişki bulunmuştur. Göğüs ve kolorektal kanserin, 25-hidroksivitamin D'nin 32 ng / mL 'den yüksek konsantrasyonunda %50 oranında azaltılabilir olduğu rapor edilmiştir (249). Benzer bir çalışmada da kolorektal kanserin, 25-hidroksi D'nin 34 ng/ml'lik konsantrasyonunda insidansının yarı seviyeye, 46 ng / ml'lik konsantrasyonunda ise üçte iki oranında azaltılabilir olduğu bulunmuştur(250).

Günlük 1100 IU vitamin D3 ve 1000 mg kalsiyum alan postmenopozal kadınlarda 4 yıllık süre için kanser gelişimi riskinin % 60 olarak azaltılabileceği bildirilmektedir(251).

Calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D3) vitamin D'nin aktif metaboliti olup göğüs kanserlerinde antitümoral etki gösterir (252).

#### **4.9.4. Enfeksiyöz hastalıklar**

Vitamin D'nin immünmodülatör etkisi ile ilgili ilk deliller; düşük 25OHD3 düzeyleri olanların M. tuberculosis enfeksiyonuna daha hassas ve hastalığı daha ağır geçiriyor olmalarının fark edilmesiyle gündeme gelmiştir(222). Yüz yıldan fazla zamandır tüberküloz tedavisinde güneşin yararlı olduğu bilinmektedir. Uzun süredir güneş ışığı vitamin D ve tüberküloz arasındaki ilişkiyi belgeleyen birden fazla çalışma yapılmıştır

(29).Yeni yapılan çalışmalarda, vitamin D'nin bu hastalıktan mustarip olan hastalara faydalı olabileceğini gösterilmektedir.Özellikle 1,25 (OH) 2D3'ün, hücresele bağışıklığı temin eden ve enfektif ajanlar için öldürücü olduğu bilinen bakteriosidal bir protein olan katherisidinin ve diğer peptitlerin sentezini uyardığını rapor edilmiştir (253).

Yapılan bir çalışmada çocukluk döneminde pnömoni tanısı olan hastalarda vitamin D eksikliğinin %80 oranında olduğu bildirilmiştir. Yine raşitik olmayan çocuklarda raşitik olanlara göre 13 kat daha az pnömoni oluşma riski olduğu da gösterilmiştir (254, 255).

25OHD3 düzeylerinin diğer enfeksiyöz hastalıklarla olan ilişkisi de araştırılmış ve yılın bütün mevsimlerde üst solunum yolu enfeksiyonlarının serum 25OHD3 düştüğünde veya 25OHD3 düzeylerinin daha fazla düştüğü kış aylarında en sık olduğu rapor edilmiştir (256).

#### **4.9.5. Multiple Skleroz ve Parkinson hastalığı**

Multipl Skleroz (MS), sinirlerde yalıtkan olarak hizmet veren ve sinir sinyallerin iletiminde önemli bir yardımcı madde olan miyeline vücudun bağışıklık sisteminin saldırdığınörodejenratif, T lenfosit aracılı, etiyolojisi belirsiz olan bir otoimmün hastalıktır.

Multipl Skleroz'in ılıman iklimlerde tropik iklimlere oranla daha yaygın olduğu kabul edilmiş ve yıllık ve kış saatleri arasındaki güneş ışığının ise MS prevalansında güçlü negatif korelasyona sahip olduğu kanıtlanmıştır(257, 258).Yapılan çalışmalarda MS'li bireylerin yetersiz vitamin D düzeylerine sahip olma eğiliminde olduğu göstermiştir c-71.MS hastalarda sitokin profili, vitamin D (1000 IU / gün) ve kalsiyum (800 mg / gün) ile yapılan 6 aylık bir çalışmada; 25-hidroksi D'nin anlamlı bir şekilde 42,5±15' den 70 ±20 nmol'e arttığı gösterilmiştir.Ayrıca MS hayvan modellerinde önemli bir anti-inflamatuar sitokin olan serum transforming growth faktörün (TGF-b1) vitamin D takviyesi ile önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir(259).Artmış TGF-b1; vitamin D takviyesinin potansiyel MS hastalarında semptomları iyileştirebileceğini düşündürmektedir.Bununla birlikte, MS'in semptomlarının hafifletilmesi ile vitamin D arasında ilişki kurabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

MS hastaların sağlık koşullarının iyileştirilmesinin yanı sıra, vitamin D'nin aynı zamanda MS'in önlenmesinde de etkilerinin olduğu gösterilmiştir.Bir çalışmada, vitamin D takviyesi (>400 IU/gün) verilen kadınlarda, vitamin D verilmeyen kadınlara

oranla MS riskinin % 40 oranda daha düşük olduğu ortaya konmuştur(260).Yapılan ayrı bir çalışmada ise vitamin D eksikliği olanlarda Parkinson hastalığının % 55 oranda daha fazla insidansa sahip olgu gösterilmiştir(261).

#### **4.9.6.Depresyon ve Kognitif Durum**

Vitamin D eksikliği depresyon ve azalmış kognitif fonksiyonla ilişkilendirilmektedir (201). Ruh hali mevsimsel değişiklik gösterir ve anksiyete ve depresyonun kış aylarındaki artışı genel bir fenomendir.Bu mevsimsellik aşırı bir durum da kış depresyonu olarak da bilinen mevsimsel duygulanım bozukluğu (SAD) olarak adlandırılan klinik bir sendromdur.Vurgu yapılan diğeri bir durum da kış aylarında vitamin D3 seviyesindeki değişikliklerdir.Kış aylarında sağlıklı 44 birey üzerinde yapılan bir çalışmada, ruh halinin iyileştirilmesi üzerine vitamin D3'ün etkinliği araştırılmış ve vitamin D'nin anlamlı bir pozitif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir(262).

Gözlemsel çalışmalarda; demans olan Alzheimer'lı insanlar ile demans olmayanlar eşleştirilmiş ve demanslı hastaların daha düşük vitamin D seviyesine sahip olduğunu gösterilmiştir(263).Bu ilişki vitamin D'nin antioksidan etkilerinin olduğunu ve hipokampüste vitamin D reseptörlerinin varlığını gösterir. Yapılan bir kesitsel çalışmada ise Alzheimer hastalığı tanısı konan 225 hastada vitamin D düzeyleri arasında bir korelasyon olduğu bulunmuştur (264). 2008 yılında 65 ve 95 yaşları arasındaki 1282 Hollandalı üzerinde yapılan çalışmada vitamin D'nin en düşük düzeyde ve kan paratiroid hormonu en yüksek seviyede olanlarda depresyonun yüksek düzeyde olduğu kaydedilmiştir (265). John McGrath ve ark.(266) Finlandiyalı erkek ve bayanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada hayatın ilk yılında vitamin D takviyesi almış kişilerle şizofreni arasındaki ilişkiye bakmışlar. Bu çalışmada bayanlarda herhangi bir korelasyon bulunmamasına rağmen erkeklerde vitamin D takviyesi alan kişilerde şizofreni riskinin azaldığını bulunmuştur. Özellikle günlük 2000 IU vitamin D alanlarda en az risk olduğu görülmüştür.

#### **4.9.7. Vitamin D ve Obezite**

Vitamin D eksikliği olan insanların obeziteye olan yatkınlık uzun zamandır bilinmektedir ve obez kişiler daha düşük 25(OH)D seviyesine sahiptir(267). Yapılan çalışmalarda yüksek vitamin D seviyeli insanlarda fazla kilo kaybı olduğu ve abdominal ve genel vücut yağ seviyelerinin düşük olduğu gençlerin daha yüksek vitamin D

düzeilerine sahip olduğu gösterilmiştir (268). Adoloseit kızlar üzerinde yapılan iki farklı çalışmada, vitamin D eksikliği olan kişilerde kas yağ seviyesinin arttığı görülmüştür(269). Erişkinlerde ve fazla tartılı çocuklarda yapılan birçok çalışmada şişmanlık, düşük serum 25OHD ve yüksek PTH düzeyleri arasında ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmalarda vitamin D eksikliğinde neden olarak; güneş ışığına az maruz kalma, hareket azlığı, kapalı giyim adetleri ve yağ dokusunun yüksek oranda vitamin D depolaması gösterilmiştir(270-272).

#### **4.9.8.Beyin gelişimi**

Vitamin D'nin beyin gelişimi ve işlevinde önemli bir rol oynadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(273).Yapılan bir çalışmada beyin boyunca vitamin D reseptörlerinin geniş dağılıma sahip olduğuna işaret edilir. Ayrıca bu çalışmada vitamin D'nin doğrudan öğrenme, hafıza, motor kontrol ve hatta annelik ve sosyal davranışlarla ilişkili olan proteinleri etkileme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir(274). İntrauterin hayatta ve hayatın ilk dönemlerinde vitamin D'nin yeterliliği sağlanırsa beyinnormal reseptör transkripsiyon aktiviteside sağlanmış olur.Buda beyin gelişimi ve ileriki yaşlarda zihinsel işlevin sağlanması açısından önemli olabilmektedir (275).

Eyles ve ark. annelerinde şiddetli vitamin D eksikliği olan yavru farelerin beyinlerinde kalıcı hasar geliştiğini saptamışlardır(276).Ayrıca temmuz-ağustos aylarında doğanlarda, öğrenme güçlüğüünün daha fazla olduğu görülmüştür(277, 278).

#### **4.9.9.Kronik böbrek hastalığı**

Vitamin D'nin, kan basıncını düşürücü ve aynı zamanda, böbrek fonksiyonunun bağımsız bir belirteci olan, albümin atılımı oranını azaltarak böbrekler üzerinde koruyucu etkileri olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(279).

Evre 3/4 kronik böbrek rahatsızlığı olan hastalarda yapılan çalışmalarda günlük 1650 IU vitamin D verilmiş ve hastaların 27 aylık takibi yapılmıştır. Vitamin D verilen grupta (21%) kardiyovasküler mortalitenin kontrol grubuna (44%) oranla daha düşük olduğu gösterilmiştir(280).

#### **4.9.10. Psöriazis**

Deri vitamin D aksiyonu için hedef organdır ve bu VDR'nin keratinositler, sebositler ve papilla hücrelerinde bulunması(281) ve 1,25-(OH)2D3 tarafından keratinosit

proliferasyonun süprese edilmesiyle(282) ile açık bir şekilde ilişkilendirilir.1,25 (OH) 2D3'ün, keratinositlerin çoğalmasını süprese etmesi ve promiyelositlerin monositlere farklılaşmasına neden olmasının keşfi, 1,25 (OH) 2D3'ün keratinositler üzerine olan etkilerine ilgiyi iyice artırmıştır(283). Vitamin D'nin bu özelliği deri hücrelerinin kontrolsüz çoğalması ile karakterize olan psöriaziste kullanım alanını doğurmuştur.Topikal 1,25(OH)2D3 uygulaması keratinosit hiperproliferasyonu ile karakterize psoriasiste bir tedavi seçeneği olarak gösterilmiştir(284).

Vitamin D analogları (calcipotriol, oxacalcitriol) bu hastalığın tedavisinde son derece etkili terapötik maddeler olup ve ileriki dönemlerde bu endikasyon için analoglarının geliştirilmesi olasıdır. Kalsitriol analogu olan “ calsipotriol ” psöriazis tedavisinde kullanılmak üzere FDA tarafından onay almıştır(195).

#### **4.9.11. Vitamin D ve Otoimmün hastalıklar**

Vitamin D'nin otoimmün hastalıklarda rolünün olabileceği düşüncesi antijen sunan hücreler, makrofajlar ve aktif T hücreleri gibi bağışıklık sistemi hücrelerinde VDR keşfine dayanmaktadır(285).Birçok invitro deneyde vitamin D bileşiklerinin TH1veTH2 hücrelerinin proliferasyonunda sitümlü veya inhibe edici etkisinin varlığı gösterilmiştir(286). Ancak bunların otoimmün hastalığı açısından yorumlanması zordur.

Bununla birlikte1993 yılında, T hücre aracılı enflamasyonun, vitamin D bileşiklerinin tarafından özellikle 1,25(OH)2D3 ile bastırılmasının keşfi, otoimmün hastalıkların tedavisinde vitamin D kullanımını konusunda ilgiye yol açmıştır (287).

Vitamin D'nin aktif metaboliti olan kalsitriol, bağışıklık sisteminin önemli bir modülatörüdür. Kalsitriol pro-enflamatuar sitokinler bastırır ve anti-inflamatuar sitokinleri geliştirir. Bozulmuş sitokin metabolizması romatoid artrit ve multiple sklerozda etiyolojisinde önemli bir rol oynar gibi görünmektedir.Romatoid artritli hastalarda, aktif vitamin D'nin tedavi etkisi doza bağlıdır.

Vitamin D yetersizliğinin multipl sklerozun gelişme riskini artırdığı yapılan hayvan ve insanlarda epidemiyolojik çalışmaları ile kanıtlanmıştır (28).

Vitamin D eksikliğinin sistemik lupus erythematosus, tip 1 diabetes mellitus, MS, iltihaplı bağırsak hastalıkları ve romatoid artrit patogeneğinde rol oynadığı vurgulanmıştır(288).

Multipl skleroz olan hastaların %77 ve romatoid artritli hastaların %60'ı 55 nmol/l'den daha düşük vitamin D düzeyine sahiptir.

Geniş bir toplum çalışması olan "Nurses Health Study I and II" de vitamin D alımı en yüksek beşlide olan kadınlarda, multipl skleroz gelişmesi %40 daha az bulunmuş(289). "Iowa Women's Health Study" de 29368 kadında romatoid artrit oluşu, vitamin D alımı ile ters orantılı bulunmuş, ayrıca romatoid artrit ağırlığı ile VD serum konsantrasyonlarının ilişkili olduğu anlaşılmıştır(290).

Finlandiya'da yapılan 30 yıllık takibi yapılan bir çalışmada; günlük 50 mg üzerinde vitamin D alan bebeklerde tip 1 diyabet gelişimi riskinin belirgin oranda düşük olduğunu gösterilmiştir (rölatif risk 0.12)(240).

#### **4.9.12.Pulmoner sistem**

Vitamin D eksikliği çocukluk çağı astımı, influenza A ve mikobakterium tüberküloz gibi enfeksiyonlar, kistik fibrozis, interstisyel akciğer hastalığı ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi akciğer hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir (291).

Vitamin D seviyesi 10 ng/ml'den az olan, akut alevlenmenin olduğu şiddetli kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalarda, vitamin D takviyesinin rolü olabileceği ileri sürülmüştür(292).ABD'de yapılan bir araştırmada; gebelik sırasında yüksek maternal vitamin D alınmasının erken bebeklik devresinde tekrarlayıcı vizingi azalttığı bulunmuştur(293).

#### **4.10.Vitamin D ve Bifosfonatlara Bağlı Çenelerde Görülen Osteonekroz**

Bifosfonatların çenelerde görülen osteonekrozu ile olan ilişkisi ilk defa 2003 yılında Marx tarafından rapor edilmiş(11) ve ciddi komplikasyonlar sıklıkla i.v bifosfonat kullanımına bağlı olarak meydana gelir(1).

Rhee ve ark. (294)osteoporotik postmenopozal Asyalı kadınlar üzerinde yaptıkları çalışmada alendronate (5mg) ve calcitriol (0.5 µg) kombine tedavisinde kemik yoğunluğunun arttığını göstermişlerdir.

Çoğu BRONJ vakasının primer diagnozunda göğös kanseri veya multiple myelom bulunmaktadır(180, 183, 295). Bu hastaların yaşam surveyleri ile vitamin D arasındaki ilişki yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(296). Her ne kadar vitamin D miktarı ile

BRONJ arasında tam bir ilişki kurulmamış olsa da, vitamin D nin yeterli olmadığı popülasyonlarda BRONJ'un oluşma riskinin daha yüksek olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(297, 298).

Vitamin D'nin BRONJ oluşumunda rolünü vurgulayan prospektif klinik bir çalışmada, bifosfonat tedavisi öncesi immunoreaktif paratroid hormon (iPTH) (vitamin D yetersizliğine benzer) seviyesinin önemli derecede yüksek olduğu hastalarda, tedavi sonrası BRONJ'un geliştiği rapor edilmiştir(297).

Yine Huguko ve ark.(299) yaptıkları hayvan çalışmasında vitamin D yetersizliği oluşturulmuş ve zoledronik asit uygulanmış olan gruptaki ratlarda (%66,7), sadece zoledronik asit uygulanmış (%14,3) ve sadece vitamin d yetersizliği oluşturulmuş (%0) olan gruptaki ratlara oranla belirgin bir şekilde BRONJ oluştuğunu rapor etmişlerdir.

#### **4.11.Vitamin D ve Diş Hekimliği ile İlişkisi**

Periodontal hastalıklar periodontal ataşman kaybıyla karakterize, yaygın kronik enflamatuvar bir hastalıktır(300).Çeşitli epidemiyolojik çalışma osteoporoz ve diş kaybı arasında ilişki olduğunu ortaya koymuş ve ayrıca osteoporozun periodontal hastalıklara katkıda bulunabileceğini göstermiştir.Alveoler kemik kaybı periodontitis için önemli bir özelliktir ve araştırmalar osteopeninin inflamasyon kaynaklı oral kemik kaybı duyarlılığını artırarak periodontal hastalık için zemin hazırlayan bir faktör olabileceğini düşündürmektedir (301).

Yapılan 3 yıllık bir çalışmada; günlük 700 IU vitamin D ve 500 mg kalsiyum takviyesi alan yaşlı insanlarda diş kaybının önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (302).

Yapılan son çalışmalar alınan kalsiyum ve vitamin D ile periodontal sağlık arasında önemli bir ilişki olduğunu ve ilave alınan vitamin D ve kalsiyumun peridontal sağlığı geliştirdiği, mandibula da kemiğin mineral yoğunluğunu artırdığını ve alveolar kemik rezorpsiyonunu azalttığını göstermiştir(303).

Garcia ve ark. (304)yaptıkları randomize klinik çalışmada ek olarak 800-100 I.U den yüksek dozda alınan kalsiyum ve vitamin D nin peridontal hastalıkların şiddetinin azalmasında faydalı bir etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca vitamin D kemik ve kalsiyum hemostazında rol oynadığı gibi immün hücre sitokin ekspresyonunu inhibe ederek güçlü antibiyotik etkiye sahip olan monosit/makrofaj sekresyonunu artırır ve

antienflamatuar bir ajan gibi etki gösterir. Bu bilgiler vitamin D'nin sadece kemik üzerine olan etkisi ile değil aynı zamanda antienflamatuar etkisiyle de peridontitis tedavisinde faydalı olabilir(305).

Ayrıca yine yapılan son çalışmalarda düşük vitamin D ile ilişkili osteoporozlu bayanlarda periodontal hastalıkların daha fazla olduğu bulunmuştur(306).

## **5. GEREÇ VE YÖNTEM**



Bu çalışma ‘‘T.C. İnönü Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurul Başkanlığı’’ nin etik kurul onayı ile yürütüldü.

## 5.1. Gereçler

### 5.1.1. Deney hayvanları

Bu çalışmada ortalama 5 aylık ve ağırlıkları 300-350 gr arasında değişen 90 adet genç erişkin erkek Wistar albino rat kullanılmıştır. Deneklerin tamamı Fırat Üniversitesi deney hayvanları üretim merkezinden temin edildiler.

Çalışma İnönü Üniversitesi Deney hayvanları Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Denekler deney öncesi laboratuvar şartlarına alışması için 1 haftalık alışma dönemine bırakıldı. Çalışma boyunca denekler, veteriner hekim kontrolünde uygun kafeslerde ve her bir kafeste beş denek olacak şekilde yerleştirildi. Deneklerin hepsi standart laboratuvar diyeti (sıçan yemi ve musluk suyu) ile beslendi. Deney süreleri boyunca 24±2 0C sıcaklıkta, ışık periyodu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda bekletildi.

### 5.1.2. Grupların oluşturulması

Denekler, bir kontrol grubu, üç çalışma grubu ve birde sham grubu olmak üzere toplam 5 gruba ayrılmıştır. İkinci (operasyon öncesi) ve üçüncü (operasyon sonrası) çalışma grupları 10. ve 15. hafta olmak üzere 2 alt gruba, kontrol grubu ise 10., 15., ve 17. hafta olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı. Dördüncü çalışma grubunda (osteonekroz sonrası) ve sham grubunda alt grup bulunmamaktadır. Her bir deney grubunda 10 adet rat bulunmaktadır.

**Kontrol Grubu (grup 1):** Bu gruptaki ratlara 7 hafta boyunca i.p (intraperitoneal) 0,4 mg/kg zoledronik asit (Zometa i.v 4 mg. Flakon, Novartis Basel, İsviçre), 5. ,6. ve 7. haftalarda ise i.p deksametazon (1mg/kg) uygulandı. Yedinci haftanın sonunda cerrahi diş çekimi yapıldı ve bu bölgede defekt alanı oluşturuldu. Ratlara daha sonra herhangi bir ilaç verilmedi ve ratla sırasıyla 10. ,15. ve 17. haftalarda sakrifiye edildiler.

**Çalışma Grubu (operasyon öncesi) (grup 2):** Bu gruptaki ratlara ilk 7 hafta boyunca haftada bir kez i.p zoledronik asit ve 5. ,6. ve 7. haftalarda haftada bir kez i.p deksametazon uygulandı. 5. ,6. ve 7. haftalarda ise haftada 2 kez s.c. vitamin D (0.25mcg/1kg ) (Calcijex, Liscate, İtalya) uygulandı. 7. haftanın sonunda cerrahi diş

çekimi yapıldı ve çenelerde defekt oluşturuldu. Denekler 10. ve 15. haftalarda sakrifiye edildiler.

**Çalışma Grubu (operasyon sonrası) (grup 3):** Bu gruptaki ratlara ilk 7 hafta boyunca haftada bir kez i.p zoledronik asit ve 5. ,6. ve 7. haftalarda haftada bir kez i.p deksametazon uygulandı. 7. haftanın sonunda cerrahi diş çekimi yapılmış ve çenelerde defekt oluşturuldu. Bu çalışma grubunda 8. ,9. ve 10. haftalarda, haftada 2 kez s.c. vitamin D uygulanmıştır. Denekler 10. ve 15. haftalarda sakrifiye edildiler.

**Çalışma Grubu (osteonekroz sonrası) (grup 4):** Bu gruptaki ratlara ilk 7 hafta boyunca haftada bir kez i.p zoledronik asit ve 5. ,6. ve 7. haftalarda haftada bir kez i.p deksametazon uygulandı. 7. haftanın sonunda cerrahi diş çekimi yapılmış ve çenelerde defekt oluşturuldu. Osteonekroz oluşturulan deneklere 15. 16. ve 17. haftalarda, haftada iki kez s.c vitamin D uygulandı. Denekler 17. haftanın sonunda sakrifiye edildiler.

**Sham Grubu (grup 5):**Bu gruptaki ratlara herhangi bir ilaç verilmedi.

**Tablo 1:** Deneklerin gruplara göre dağılımı

Çalışma grupları	Alt grup	Alt grup	Alt grup
	10. hafta	15. hafta	17. hafta

<b>Grup 1</b>		10 adet rat	10 adet rat	10 adet rat
<b>Grup 2</b>		10adet rat	10 adet rat	
<b>Grup 3</b>		10 adet rat	10 adet rat	
<b>Grup 4(alt grubu yok)</b>	10adet rat			
<b>Grup 5 (alt grubu yok)</b>	10 adet rat			

## 5.2. Kullanılan Materyaller

### 5.2.1. Zoledronik asit

Zoledronik asit (zoledronik asit mono hidrat) (Zometa i.v 4 mg. Flakon, Novartis Basel, İsviçre) azot içeren yeni kuşak bir bifosfonat molekülüdür. Kimyasal formülü  $C_5H_{10}N_2O_7P_2.H_2O$ 'dur ve molekül ağırlığı 290,1 g/mol dır. Bugüne kadar hazırlanan en güçlü bifosfonat preparatı zoledronik asittir.



**Resim 3:** Zoledronik asit

### 5.2.2. 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D

1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D (Calcijex Ampul 1 mcg/ml, Liscate-İtalya) her ml'de 1 mcg kalsitriol, 4 mg polisorbata 20, 1.5 mg sodyum klorür, 10 mg sodyum askorbat, 7.6 mg

dibazik sodyum fosfat anhidr, 1.84 mg monobazik sodyum fosfat monohidrat, 1.1 mg disodyum edetat dihidrat içerir. Yaklaşık pH 7 düzeyindedir ve koruyucu madde içermez. Calcijex (Enjeksiyonluk Kalsitriol) sentetik olarak üretilmiş kalsitrioldür ve intravenöz enjeksiyon yoluyla kullanılan steril, izotonik, berrak, sulu bir çözeltilidir.

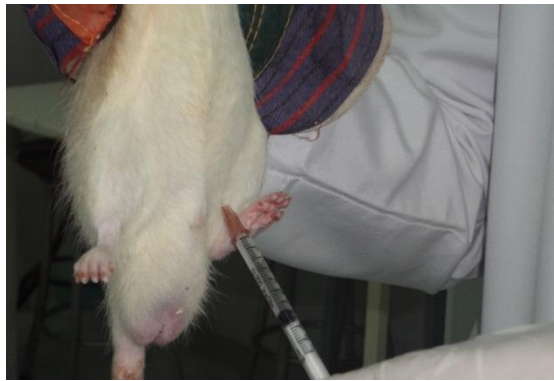
### 5.3. Çenelerde Osteonekroz Oluşturma Protokolü

Tüm deneklere osteonekroz oluşturabilmek için 7 hafta boyunca haftada 1 kez i.p (intrapertitonal) bifosfonat (zolendronik asit (Zometa 0,4 mg/kg)(Resim 4) ve 5.,6.,7.



**Resim 4:**Subkutan vitamin D enjeksiyonu.

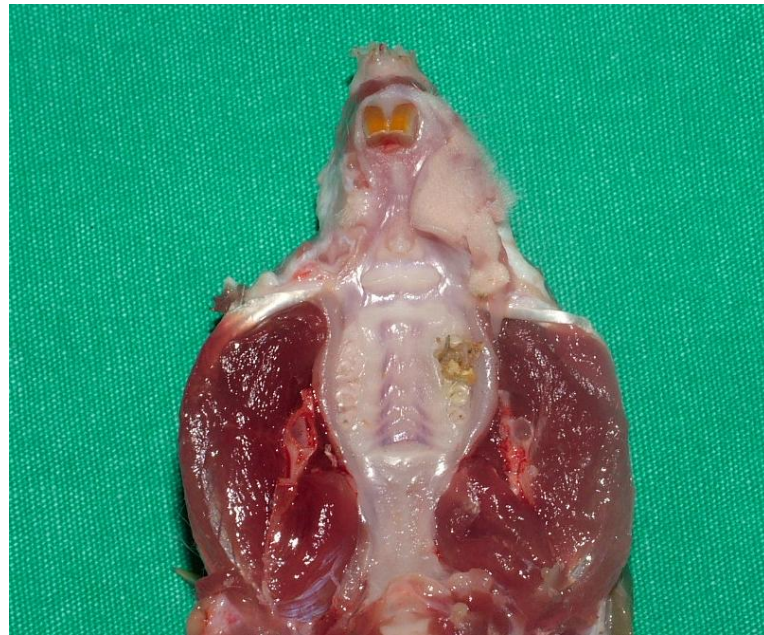
haftalarda ise, haftada bir kez i.p (intraperitoneal) deksametazon (1 mg/kg) verildi (Resim 5). 7. hafta sonunda tüm ratların üst çene birinci azı dişi bölgesinde genel anestezi altında ront frezle 0,5 mm çapında defekt oluşturuldu (resim 6). 14. haftanın sonunda tüm deneklerde osteonekroz meydana geldi (resim 7).



**Resim 5:** i.p deksametazon enjeksiyonu.



**Resim 6:**Ront frezle defekt oluşturulması.



**Resim 7:** Maksillada bifosfonata bağlı osteonekrozun görünümü.

#### **5.4. Cerrahi Yöntem**

Tüm cerrahi işlemler 30 mg/kg Ketamin-HCL (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 5 mg/kg Ksilazin HCL (Rompun, Bayer, Almanya) ile sağlanan anestezi altında, deney hayvanları ile çalışma sertifikası olan aynı cerrah tarafından ve standart cerrahi teknikler uygulanarak gerçekleştirildi.

Genel anesteziyi sağlamak için deney hayvanlarının hepsine ilk önce 5 mg/kg intramüsküler (i.m) enjeksiyonu yapılarak premedikasyon sağlandı. Daha sonra ketamin

hidroklorür 30 mg/kg dozunda IM olarak yapıldı. Anestezi tam olarak sağlandıktan sonra ratlar sırt üstü çalışma masasına yerleştirildikten sonra üzerleri steril örtü ile kapatıldı. İki adet steril spançtan biri üst kesici dişlere diğeri ise alt kesici dişlere yerleştirilip hayvanın ağzı açıldı. Fizyodispensera takılan cerrahi piyasemen kullanılarak ve 0.5 mm çapındaki steril çelik rond frez yardımıyla, 2000 rpm'de serum fizyolojik irrigasyonu altında hem diş çekimi hemde defekt alanı oluşturuldu. Operasyon sahası serum fizyolojik ile iyice irrigate edildikten sonra kanama kontrolü yapıldı. İşlemi tamamlanan hayvanlar tekrar eski metal kafeslerine kendi gruplarına uygun bir şekilde yerleştirildi ve uyanma odasına alındı.

### 5.5. Post-Operatif Dönem

Operasyondan sonra beş gün boyunca bütün deneklere Carprofen 4 mg/kg (Rimadyl, Pfizer, New York, Illinois, ABD) subkütan olarak uygulandı.

Perioperatif ve postoperatif dönemde herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmadı. Deney hayvanları kendi kafesleri içerisinde rutin beslenmelerine devam ettiler. 3. gruptaki deneklere 8.,9., ve 10. haftalarda, 4. gruptaki deneklere ise 15, 16, 17. haftalarda haftada iki kez s.c. vitamin D verilmeye devam edildi.

### 5.6. Osteonekroz Alanlarının Değerlendirilmesi

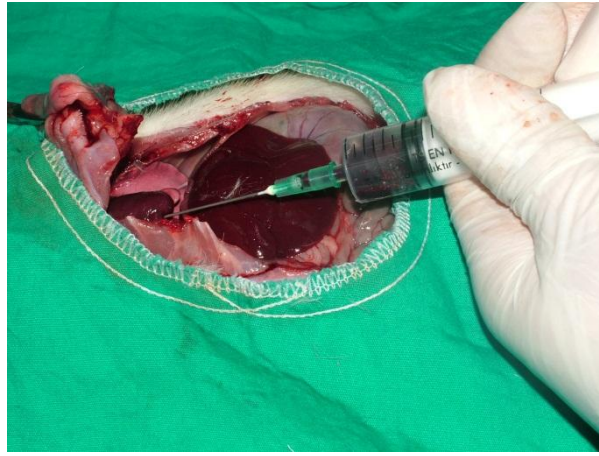
Bu değerlendirme görsel olarak osteonekroz alanının en geniş kısmı ölçülerek sınıflama yapıldı.

**Tablo 2:**Osteonekroz sahalarının görsel olarak değerlendirilmesinde kullanılan skora

Sınıf	Skor	Osteonekroz Genişliği
Sınıf 1	+	< 3mm
Sınıf 2	++	3mm < - < 5mm
Sınıf 3:	+++	5mm <

## 5.7. Biyokimyasal İnceleme

Biyokimyasal analizler içinde deneklerden enjektörlerle intrakardiyak 10 ml kan alındı (Resim 8). Alınan kanlar heparinli tüpler içerisine konup santrifüj makinasında 15 dk ve 4000 rpm devirde santrifüj edildi. Bu işlem sonrasında tüpler içerisinden serum kısmı alınıp ependorflar içerisine konuldu. Serumlar, bozulma meydana gelmemesi için biyokimyasal incelemeler yapılana kadar -80 derecede bekletildi. Biyokimyasal olarak ELISA yöntemiyle osteokalsin, N-telopeptid, C-telopeptid, vitamin D ve ALP parametrelerine bakıldı. Kalsiyum, fosfor fotometrik yöntemle ölçüldü. FT3 ve FT4 hormonları ECLIA (Elektrokemilüminesans immünolojik test) yöntemiyle ölçüldü.



**Resim 8:** İntrakardiyak kan alınması

## 5.8. Histopatolojik İnceleme

Deneklere postoperatif 10. 15. ve 17. haftalarda yüksek doz i.v ketamin enjeksiyonuyla ötenazi uygulandı. Histopatolojik değerlendirme için sol maksillar molar bölgeden, etrafında ve derinde sağlam dokuyu içeren eksizyon materyalleri spesmen olarak alındı. Spesmenler %10'luk nötral formalin içine alınarak 48 saat süreyle tespit edildi. Kemik dokunun daha sonraki histopatolojik inceme için uygun yumuşaklığa erişebilmesi için tespit olmuş dokular %10'lik formik asit solüsyonu içerisinde 48 saat boyunca dekalsifikasyon işlemi için bekletildi. İşlem sonrasında dekalsifiye olmamış dokular, asit solüsyonu değiştirilerek dekalsifiye oluncaya kadar bekletildi. Asit solüsyonundan çıkarılan dokular suda yıkanarak asitin uzaklaştırılması sağlandı. Makroskopik örnekleme için uygun hale gelen dokulardan, merkezinde nekroz alanı, her iki yanında 15 mm lik sağlam doku içeren, en az 1 cm derinlikte örnekler alınarak bloklara yerleştirildi ve doku takip işlemine alındı. Doku takibi işlemi sırasında derecesi giderek

artan alkol serileri ile dehidratasyon işlemine tabi tutulan dokulara ardından ksilen ile şeffaflaştırma işlemi uygulandı. Dokulardaki solüsyonların sıvı parafinle muamelesi sonucunda dokuların sertleştirilmesi işlemi sağlandı ve yaklaşık 13-15 saat sonunda doku takip işlemi sonlandırıldı. Takip sonrası dokular parafin bloklara gömülerek kesit alma işlemi için hazır hale getirildi. Hazırlanan parafin bloklardan 4-5µm kalınlığında 3 adet seri kesit alındı. Alınan kesitler histopatolojik inceleme için Hematoksilen Eozin (H&E) ile boyandı.

Histopatolojik değerlendirme sırasında alınan örneklerdeki nekroz alanı, inflamatuvar yanıt, nekrotik kemikteki rezorbsiyon, nekroz komşuluğundaki yeni kemik oluşumu incelendi. Bulgular aşağıdaki parametreler kullanılarak değerlendirildi.

**1-Osteoblast sayısı:** Nekroz çevresindeki (lezyon tabanı veya yanı) kemik dokudaki (10x lik alanda) osteoblastların sayımı yapıldı. Osteoblastların sayıları aşağıdaki şekilde skorlandı.

Osteoblast sayımı için kullanılan skora

0-10 →1+

10-20 → 2+

20-30 → 3+

30-40 →4+

40-50 →5+

50-60 →6+

60-70 →7+

70-80 →8+

80-90 →9+

>90 →10+

**2-Osteoklast sayısı:** Nekroz alanındaki (20x lik alanda ) osteoklastların sayımı yapıldı.



**3-Enflamasyon(iyileşme) fazı:** Nekroz alanındaki inflamatuvar yanıt 1-3 arasında skorlama yapılarak incelendi. Buna göre:

1- Proliferasyon(erken evre): Sadece inflamatuvar hücrelerin izlendiği dönem.

2- Proliferasyon ve fibrozis (orta evre): İnflamatuvar hücrelerle birlikte bağ doku oluşumunun izlendiği dönem.

3- Fibrozis (tamamlanmış evre): Bağ doku hâkimiyetinin olduğu dönem.

**4-Osteonekrozun histolojik olarak değerlendirilmesi:** Nekroz alanın varlığı ve nekroz alanının büyüklüğü esas alınarak, 0-3 arasında skorlama yapılarak incelendi. Buna göre:

0- Nekroz oluşumu görülmemesi

1- 0-1mm<sup>2</sup> arası nekrotik kemik alanı

2- 1,1-2,5mm<sup>2</sup> arası nekrotik kemik alanı

3- 2,6-4mm<sup>2</sup> arası nekrotik kemik alanı

#### **5- Osteonekrozun makroskopik olarak değerlendirilmesi**

Alınan örneklerdeki üst çenede oluşmuş olan nekrotik alanların en geniş kısımları ölçülerek 1 den 3'e kadar skorlama yapıldı (Tablo 2).

#### **5.9. İstatistiksel Analiz Yöntemi**

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 20.0 paket programı kullanıldı. Osteokalsin, N-telopeptid, C-telopeptid, Vitamin D, ALP, Kalsiyum, Fosfor, Ft3 ve Ft4 parametrelerine ait sürekli değişkenlerde grup sayısı, ortalama ve standart sapma değerleri istatistiksel olarak yapıp tablo ve grafiklerle özetlendi. Sürekli değişkenlerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Shapiro-Wilk testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren gruplar ikiden fazla bağımsız grubun sürekli ölçümlerinin genel karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) kullanıldı. One way ANOVA'da varyansın homojenitesine Levene testi yapıldı. Gruplar arası karşılaştırılmalarında (Post Hoc) LSD testi uygulandı. Normal dağılım göstermeyen değişkenleri ikiden fazla grup arasında genel karşılaştırmada Kruskal Wallis testi

kullanıldı. Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda Duncan testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi  $p<0.05$  olarak belirlendi.

## **6.BULGULAR**

### **6.1.Biyokimyasal Analiz Sonuçları**

Verilerin istatistiksel analizde kullanılan Osteokalsin, N-telopeptid, C-telopeptid, Vitamin D, ALP, Kalsiyum, Fosfor, Ft3, Ft4 ve parametrelerine ait sürekli değişkenlerde grup sayısı, ortalama ve standart sapma değerleri tablo ve grafiklerle özetlenmiştir. 10-15-17. haftalarda gruplara ait parametrelerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Shapiro-Wilk testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren parametrelerin karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi (One way ANOVA) yapıldı. One way ANOVA sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p<0,05$ ) çıkan parametrelerin homojenitesine Levene testi ile bakıldı. Ayrıca bu parametrelerde grupların çoklu karşılaştırılmasında (Post Hoc) LSD testi uygulandı.

Shapiro-Wilk testine göre normal dağılım göstermeyen parametrelerine Kruskal Wallis Testi yapıldı. Bu teste göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p<0,05$ ) çıkan parametrelerde, grupların çoklu karşılaştırılmasında Duncan testi uygulandı.

### **6.2. Biyokimyasal Parametrelerin İstatiksel Analizleri (10. Hafta)**

10. haftaya ait gruptaki parametrelere (osteokalsin, N-telopeptid, C-telopeptid, vitamin D, ALP, Kalsiyum, fosfor, FT3 ve FT4) Shapiro-Wilk ile normalite testi uygulandı.

**Tablo 3:**Normalite testi/ Shapiro-Wilk(10. hafta)

Parametreler	p
osteokalsin	.010
Ntelopeptid	.000
Ctelopeptid	.001
VitD	.796*
ALP	.847*
Ca	.020
Phos	.060*
Ft3	.229*
Ft4	.047

\* normal dağılım gösteren parametreler

Shapiro-Wilk testine göre normal dağılım gösteren vitamin D, ALP, fosfor ve FT3 parametrelerine One way – ANOVA testi uygulandı.

**Tablo 4:** Vitamin D, ALP, Fosfor ve FT3 değerleri

.822	.815	.212	.000*
One way - ANOVA			

\*İstatistiksel olarak anlamlı fark (p<0.05)

One way ANOVA testine göre sadece FT3 değerinde anlamlı fark çıkmıştır. Bu yüzden bu parametrenin homojenitesine bakmak için Levene testi uygulandı.Grupların çoklu karşılaştırılmasında (Post Hoc) LSD testi uygulandı.

Shapiro-Wilk testine göre normal dağılım göstermeyen osteokalsin, NTX, CTX, kalsiyum ve FT4 değerlerine Kruskal Wallis testi uygulandı.

**Tablo 5:** Kruskal Wallis Testi

	osteokalsin	Ntelopeptid	Ctelopeptid	Ca	Ft4
p	.894	.100	.611	.040*	.003*

\* istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0,05$ )

Kruskal Wallis Testi'nde istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0,05$ ) çıkan FT4 ve kalsiyum parameterelerinde grupların çok karşılaştırılmasında Duncan testi uygulandı.

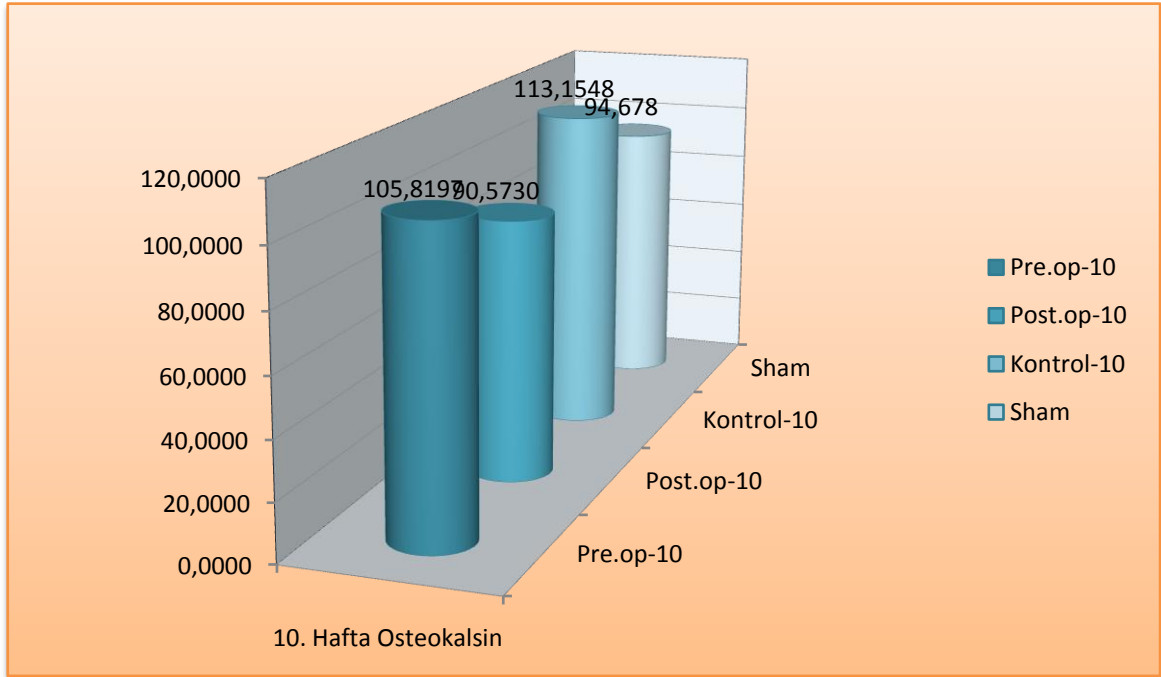
### 6.2.1. Osteokalsin

10. haftada sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre osteokalsin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 6:** Osteokalsin'in Ortalama Değerleri

Gruplar	N	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	105.8197±32.23663
Postoperatif-10	9	90.5730±24.87967
Kontrol-10	7	113.1548±30.81652
Sham	5	94.6780±30.83814
<b>Toplam</b>	<b>29</b>	<b>100.5572±13.72084</b>

**Şekil 16:** Osteokalsin'in gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



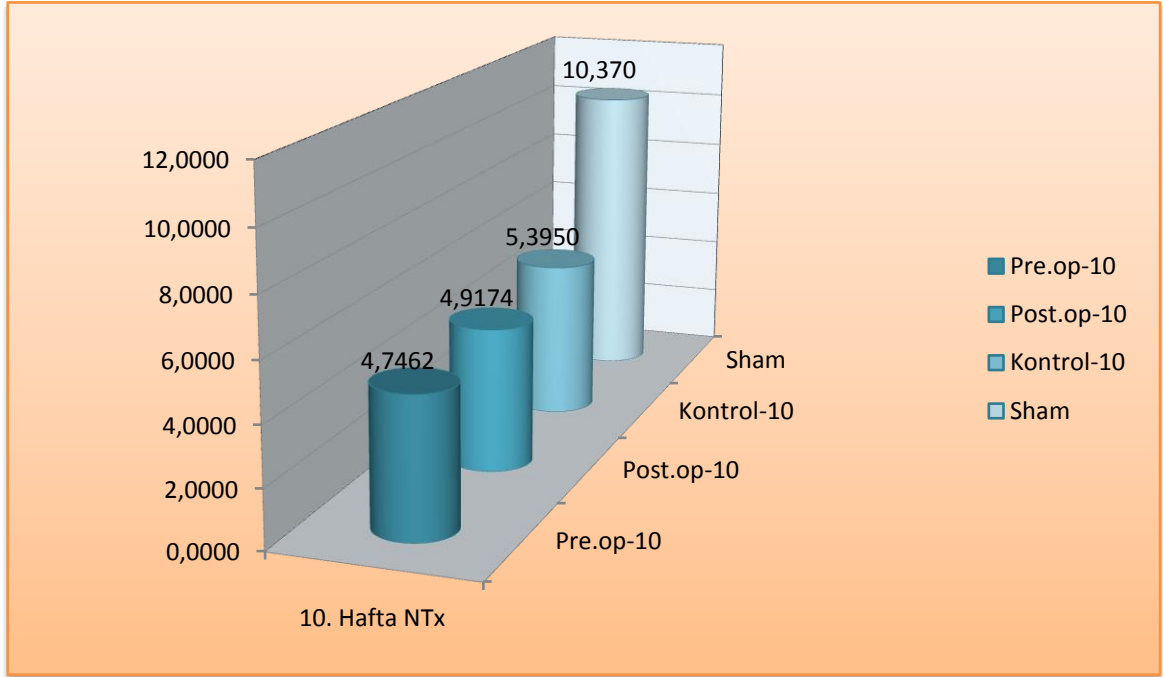
### 6.2.2. N-telopeptid

10. haftada sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre N-telopeptid değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 7:** N-telopeptid'in Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	4.7462±1.36885
Postoperatif-10	9	4.9174±1.76166
Kontrol-10	7	5.3950±1.75837
Sham	5	10.3702±5.07059
<b>Toplam</b>	<b>29</b>	<b>6.2886±3.52625</b>

**Şekil 17:** N-telopeptid'in gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



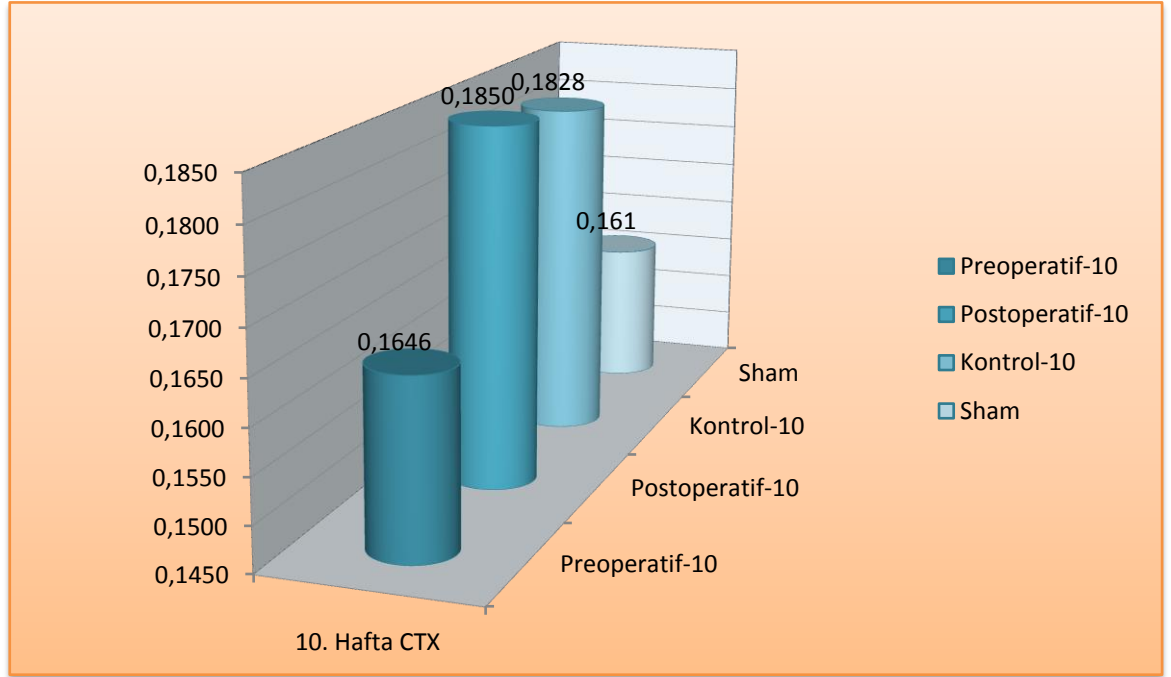
### 6.2.3. C-telopeptid

10. haftada sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre C-telopeptid değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 8:** C-telopeptid'in Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	.1646±.05119
Postoperatif-10	9	.1850±.05045
Kontrol-10	7	.1828±.06107
Sham	5	.1610±.04147
<b>Toplam</b>	<b>29</b>	<b>.1739±.04869</b>

**Şekil 18:** C-telopeptid'in gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



#### 6.2.4. Vitamin D

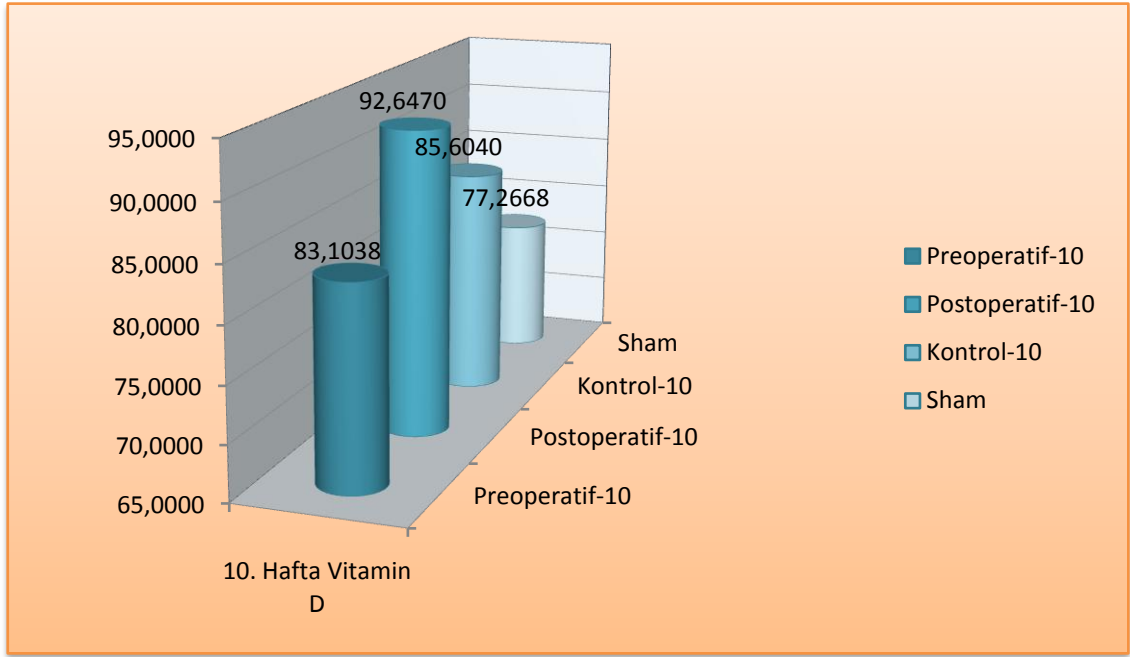
10. haftada sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Onova testine göre vitamin D değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 9:** Vitamin D'nin Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	83.1038±34.55486
Postoperatif-10	9	92.6470±14.32660
Kontrol-10	7	85.6040±39.29121
Sham	5	77.2668±11.23047
<b>Toplam</b>	<b>29</b>	<b>77.2668±11.23047</b>



**Şekil 19:** Vitamin D'nin gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



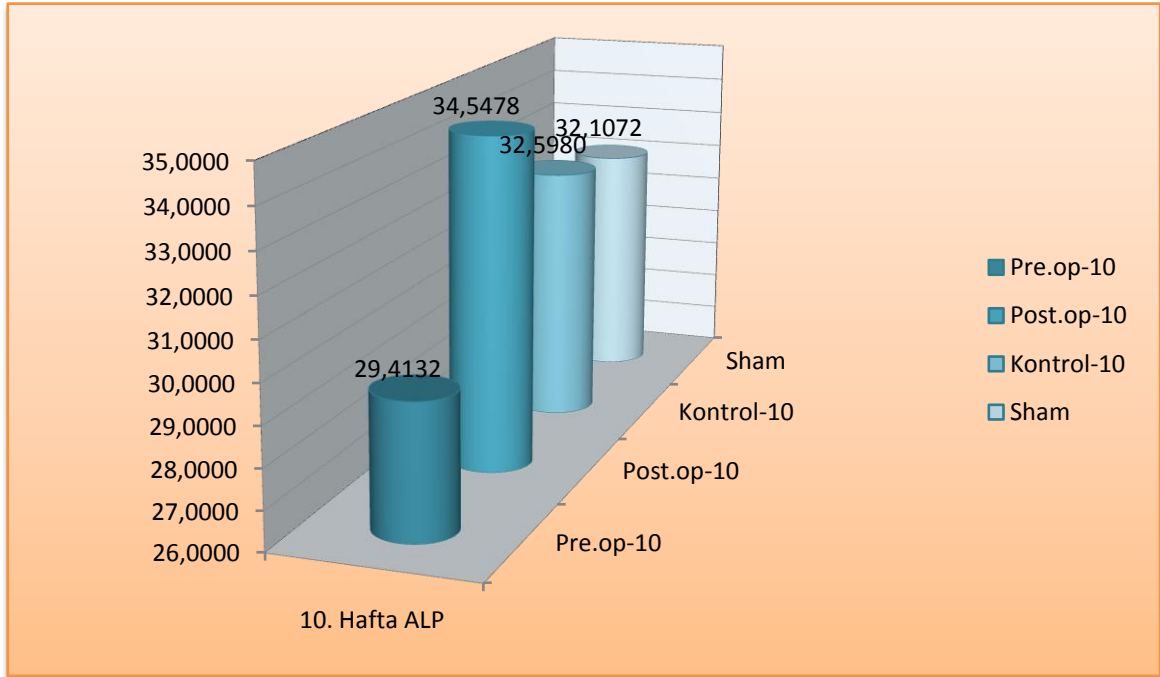
### 6.2.5. ALP

10. haftada sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Onova testine göre ALP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 10:** ALP'nin Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	29.4132±7.29010
Postoperatif-10	9	34.5478±9.11608
Kontrol-10	7	32.5980±7.70015
Sham	5	32.1072±10.57547
<b>Toplam</b>	<b>29</b>	<b>32.2800±8.32236</b>

**Şekil 20:** ALP'nin gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



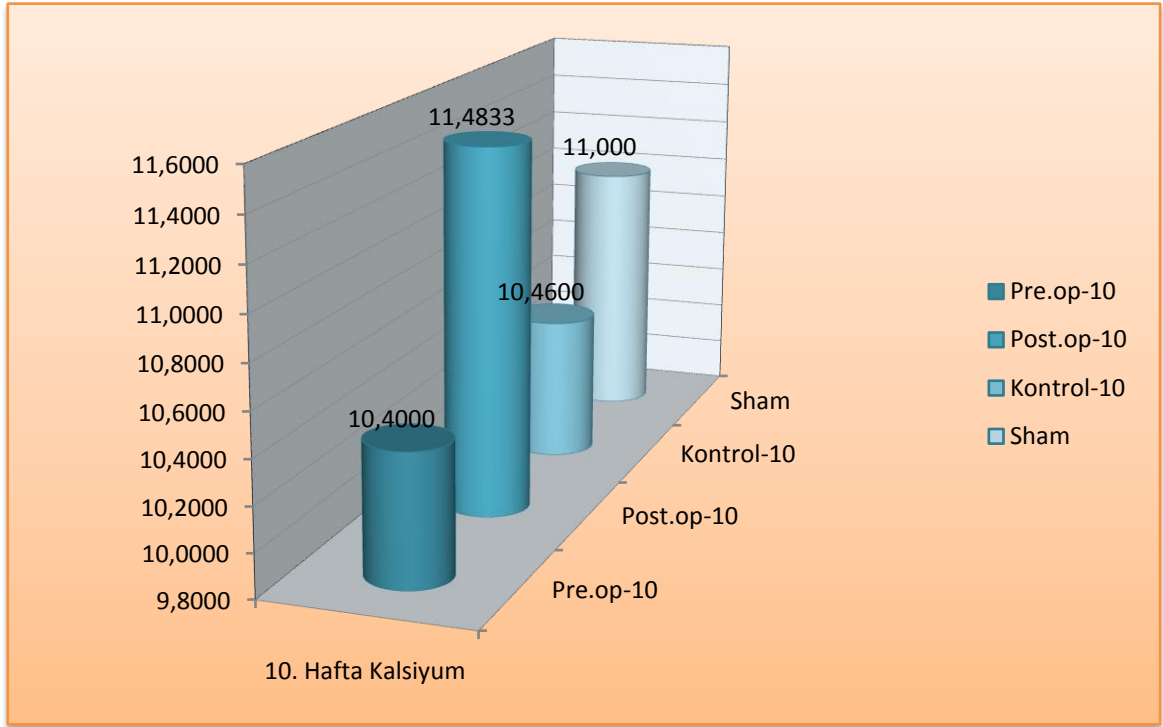
### 6.2.6. Kalsiyum

10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre kalsiyum değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.040$ ). Kalsiyuma ait alt gruplar (Kontrol-10, Preoperatif-10, Postoperatif-10 ile Sham grubu) Duncan testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında, Postoperatif-10 grubu hem Preoperatif-10 ( $p=0,012$ ) hemde Kontrol-10 ( $p=0,019$ ) gruplarına göre ise istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır.

**Tablo 11:** Kalsiyum'un Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	10.4000±.12247
Postoperatif-10	9	11.4833±.34488
Kontrol-10	7	10.4600±.20881
Sham	5	11.0000±.43932
<b>Toplam</b>	<b>29</b>	<b>10.8667±.17516</b>

**Şekil 21:**Kalsiyum'un gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



### 6.2.7. Fosfor

10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Onova testine göre fosfor değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 12:** Fosfor'un Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	7.8600±1.11461
Postoperatif-10	9	9.2067±1.02979
Kontrol-10	7	7.5540±.83257
Sham	5	7.0500±2.98649
<b>Toplam</b>	<b>29</b>	<b>7.9790±1.77557</b>

**Şekil 22:**Fosfor'un gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



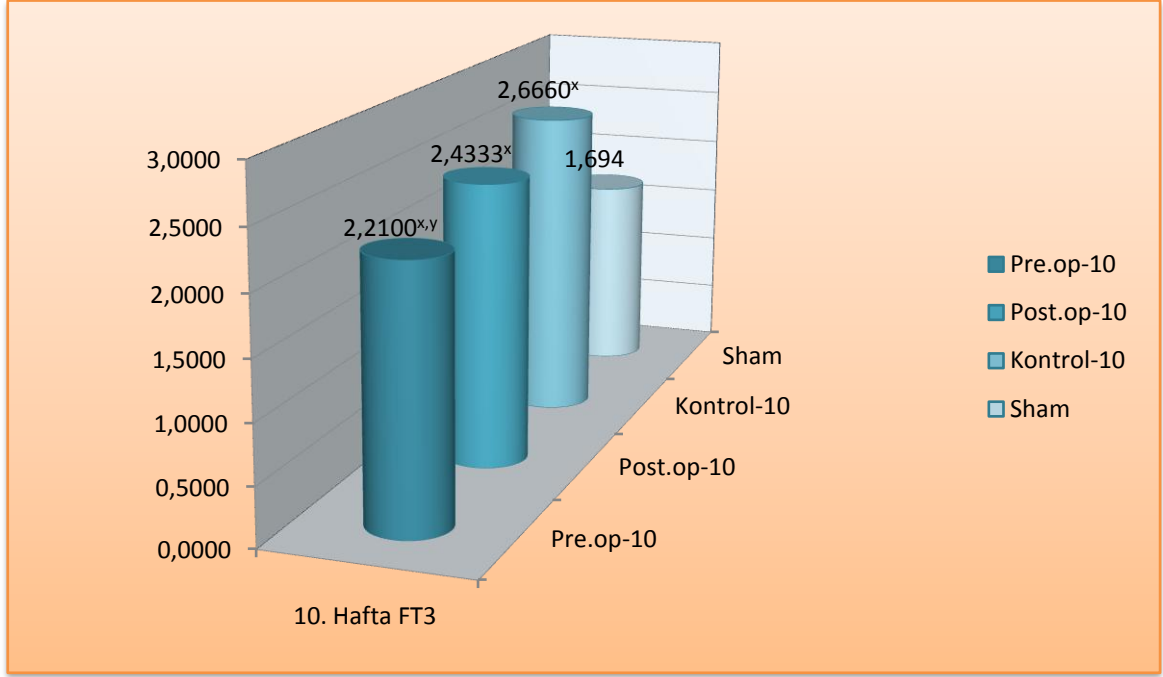
### 6.2.8. FT3

10. hafta sakrifiye edilen gruplar içersine One Way Onova testine göre FT3 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.000$ ). FT3'e ait alt gruplar (Kontrol-10, Preoperatif-10, Postoperatif-10 ile Sham grubu) LSD testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında; Preoperatif-10 grubu Kontrol-10 grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük çıkmış ( $p=0.012$ ), Sham grubu ise Preoperatif-10 ( $p=0.005$ ), Postoperatif-10 ( $p=0.000$ ) ve Kontrol 10 ( $p=0.000$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Tablo13:** FT3'ün Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	2.2100±.18762
Postoperatif-10	9	2.4333±.20285
Kontrol-10	7	2.6660±.24203
Sham	5	1.6940±.36143
<b>Toplam</b>	<b>29</b>	<b>2.2595±.43140</b>

**Şekil 23:**FT3'ün gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

y= Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

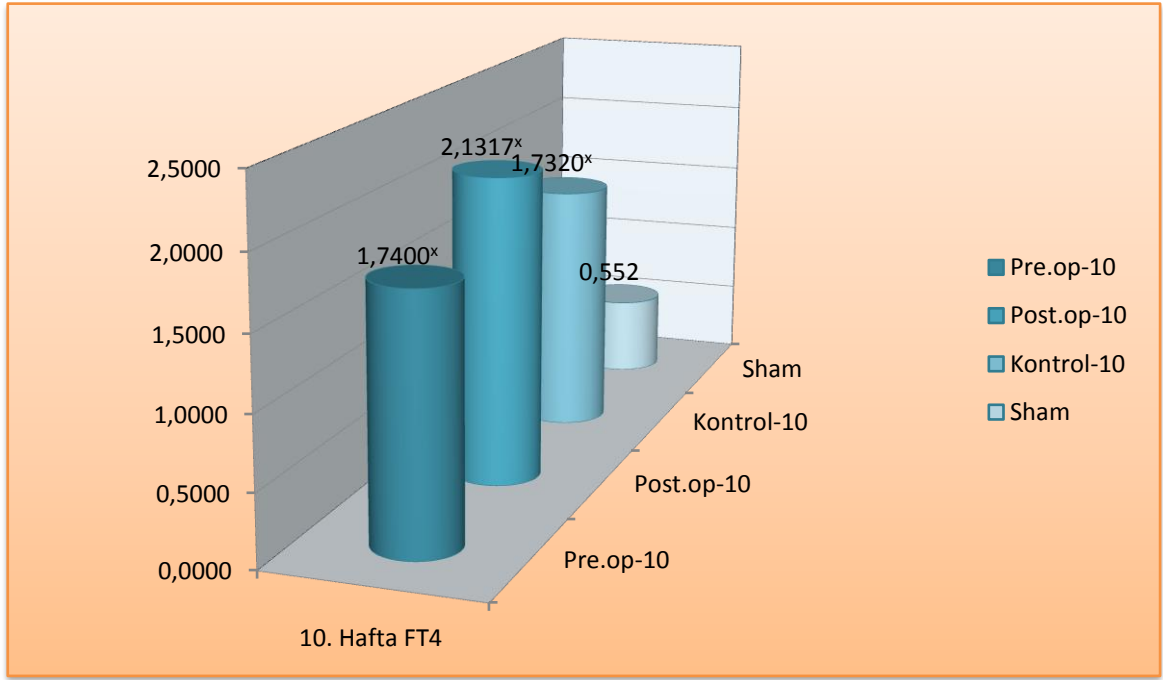
#### 6.2.9.FT4

10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre FT4 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.003$ ). FT4'e ait alt gruplar (Kontrol-10, Preoperatif-10, Postoperatif-10 ile Sham grubu) Duncan testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında, Sham grubu Preoperatif-10 ( $p=0.028$ ), Postoperatif-10 ( $p=0,00$ ) ve Kontrol 10 ( $p=0,034$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Tablo 14:** FT4'ün Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	1.7400±.28653
Postoperatif-10	9	2.1317±.31212
Kontrol-10	7	1.7320±.24672
Sham	5	.5520±.22499
<b>Toplam</b>	<b>29</b>	<b>1.5671±.65618</b>

**Şekil 24:** FT4'ün gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

### 6.3. Biyokimyasal Parametrelerin İstatistiksel Analizleri(15. Hafta)

15. haftaya ait gruptaki parametrelere (osteokalsin, N-telopeptid, C-telopeptid, vitamin D, ALP, kalsiyum, fosfor, FT3 ve FT4) Shapiro-Wilk ile normalite testi uygulandı.

**Tablo 15:** Shapiro-Wilk testi/normalite testi

Paremetreler	p
Osteokalsin	.032
N-telopeptid	.013
C-telopeptid	.018
Vitamin D	.562*
ALP	.865*
Kalsiyum	.007
Fosfor	.229*
FT3	.036
FT4	.001

Bu teste göre normal dağılım gösteren Vitamin D, ALP ve Fosfor parametrelerine One-way ANOVA testi uygulandı.

**Tablo 16:** Vitamin D, ALP, Fosfor ve osteokalsin değerleri

	.023*	.994	.437
One way - ANOVA			

\*İstatistiksel olarak anlamlı fark (p<0.05)

One-way ANOVA testine istatistiksel olarak anlamlı fark vitamin D’de çıkmıştır. Bu yüzden vitamin D’nin homojenitesine levene testi ile bakılmıştır.Grupların çoklu karşılaştırılmasına ise LSD testi ile bakılmıştır.

Shapiro-Wilk testine göre normal dağılım göstermeyen osteokalsin, FT3, FT4, kalsiyum, C-telopeptid ve N-telopeptid parametrelerine Kruskal Wallis Testi yapıldı.

**Tablo 17:** Kruskal Wallis testi

	N-telopeptid	C-telopeptid	Kalsiyum	FT3	FT4	osteokalsin
--	--------------	--------------	----------	-----	-----	-------------

p	.007*	.366	.119	.016*	.006*	.378
---	-------	------	------	-------	-------	------

Kruskal Wallis Testine göre istatistiksel olarak anlamlı çıkan N-telopeptid, FT3 ve FT4 parametrelerine Duncan testi uygulandı.

### 6.3.1. Osteokalsin

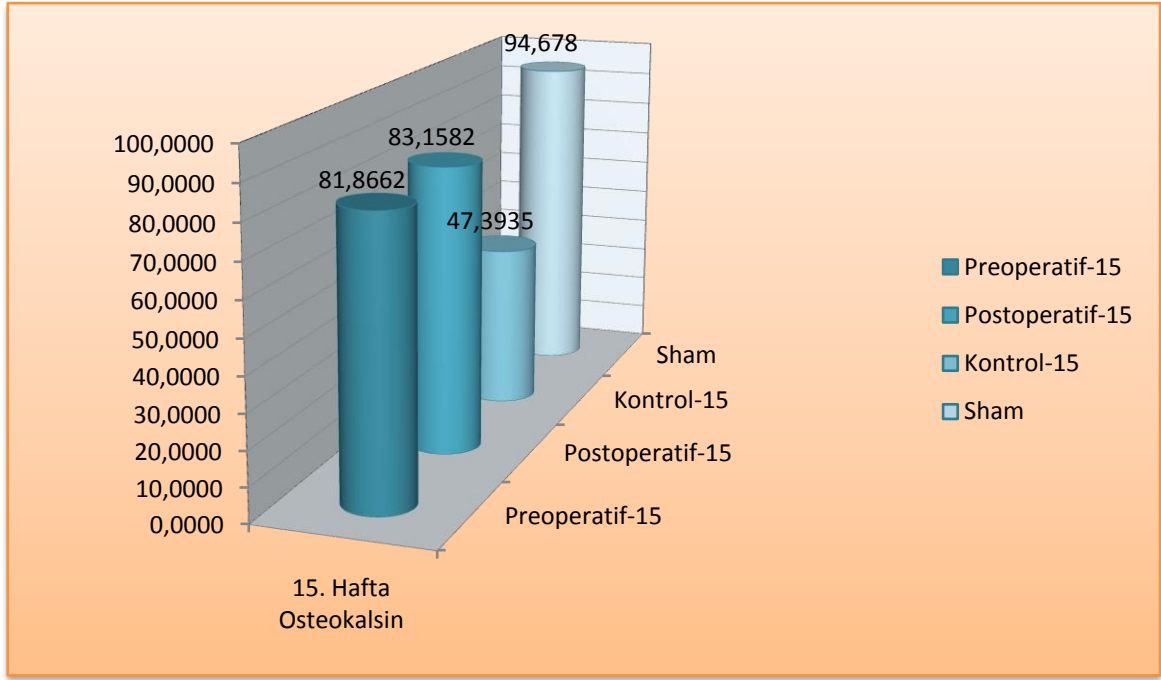
15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre osteokalsin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 18:** Osteokalsin'in Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	81.8662±47.27516
Postoperatif-15	9	83.1582±35.85453
Kontrol-15	8	47.3935±20.89586
Sham	7	94.6780±68.95617
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>75.9955±45.71337</b>

**Şekil 25:** Osteokalsin'in gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.





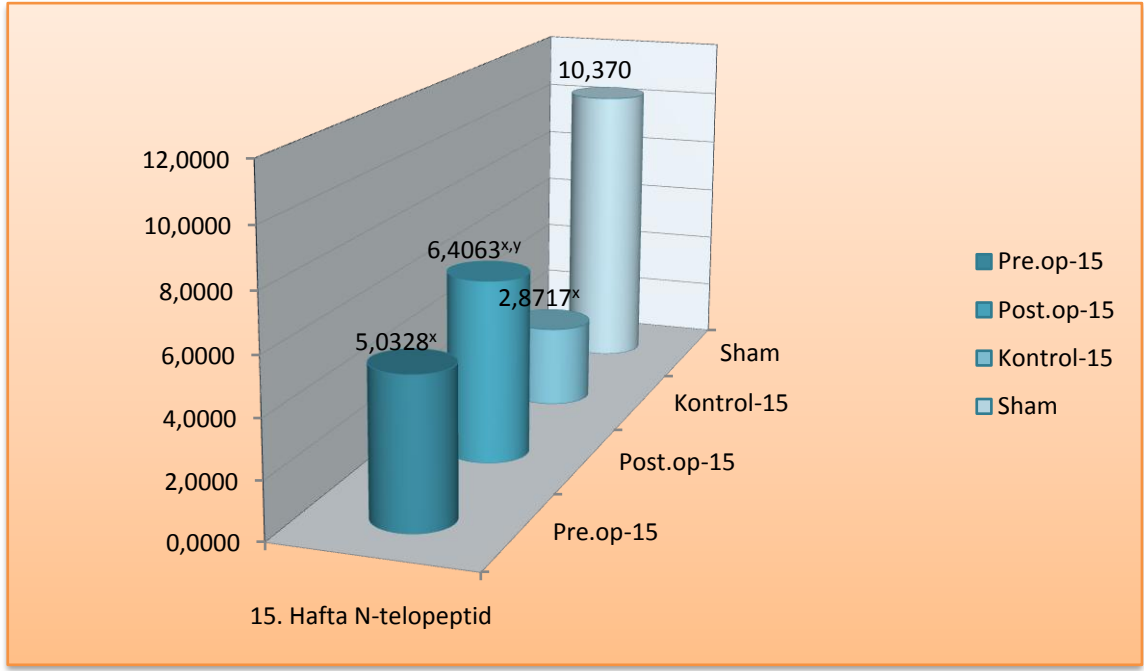
### 6.3.2. N-telopeptid

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre NTXdeğerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.007$ ). NTX'e ait alt gruplar (Kontrol-15, Preoperatif-15, Postoperatif-15 ile Sham grubu) Duncan testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında, Kontrol-15 grubu, Postoperatif-15 ( $p=0,050$ ) ve Sham grubuna göre ( $p=0,008$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Tablo 19:** N-telopeptid'in Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	5.1727±1.70838
Postoperatif-15	9	6.4063±1.44007
Kontrol-15	8	2.8717±1.80186
Sham	7	10.3702±5.07059
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>6.0241± 3.71321</b>

**Şekil 26:** N-telopeptid'in gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

y= Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

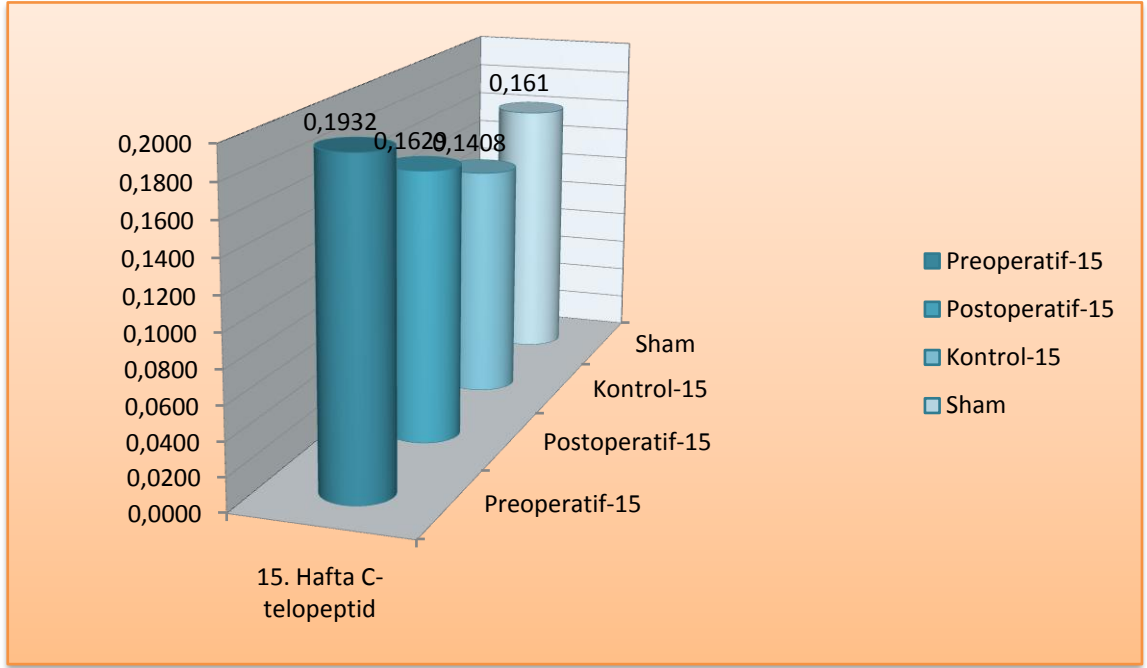
### 6.3.3. C-telopeptid

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre C-telopeptid değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 20:** C-telopeptid'in Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	.1932±.06546
Postoperatif-15	9	.1629±.03494
Kontrol-15	8	.1408±.02941
Sham	7	.1610±.04147
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>.1647±.04628</b>

**Şekil 27:** C-telopeptid'in gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



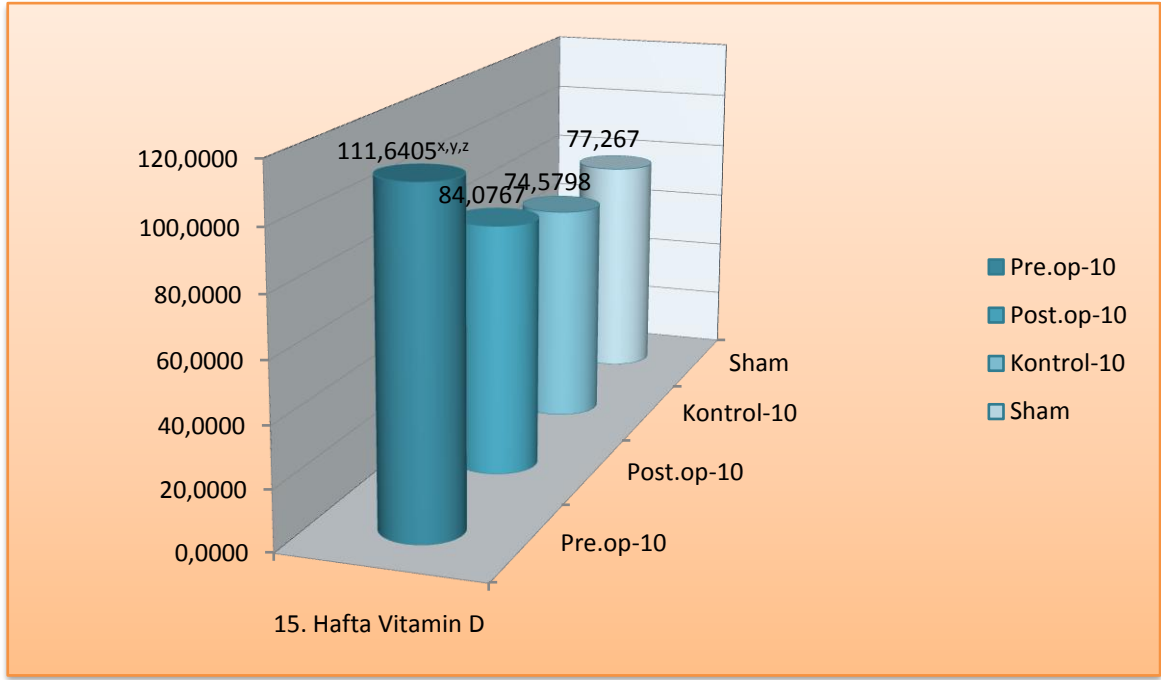
#### 6.3.4. Vitamin D

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Anova testine göre vitamin D değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.023$ ). Vitamin D'ye ait alt gruplar (Kontrol-15, Preoperatif-15, Postoperatif-15 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında Preoperatif-15 grubu, Postoperatif-15 ( $p=0.032$ ), Kontrol-15 ( $p=0,006$ ) ve Sham gruplarına göre ( $p=0,012$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır.

**Tablo 21:** Vitamin D'nin ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	111.6405±23.21658
Postoperatif-15	9	84.0767±28.53273
Kontrol-15	8	74.5798±12.45142
Sham	7	77.2668±11.23047
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>87.3094±24.43595</b>

**Şekil 28:** Vitamin D'nin gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

y= Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

z= grupların kendi aralarında olan istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

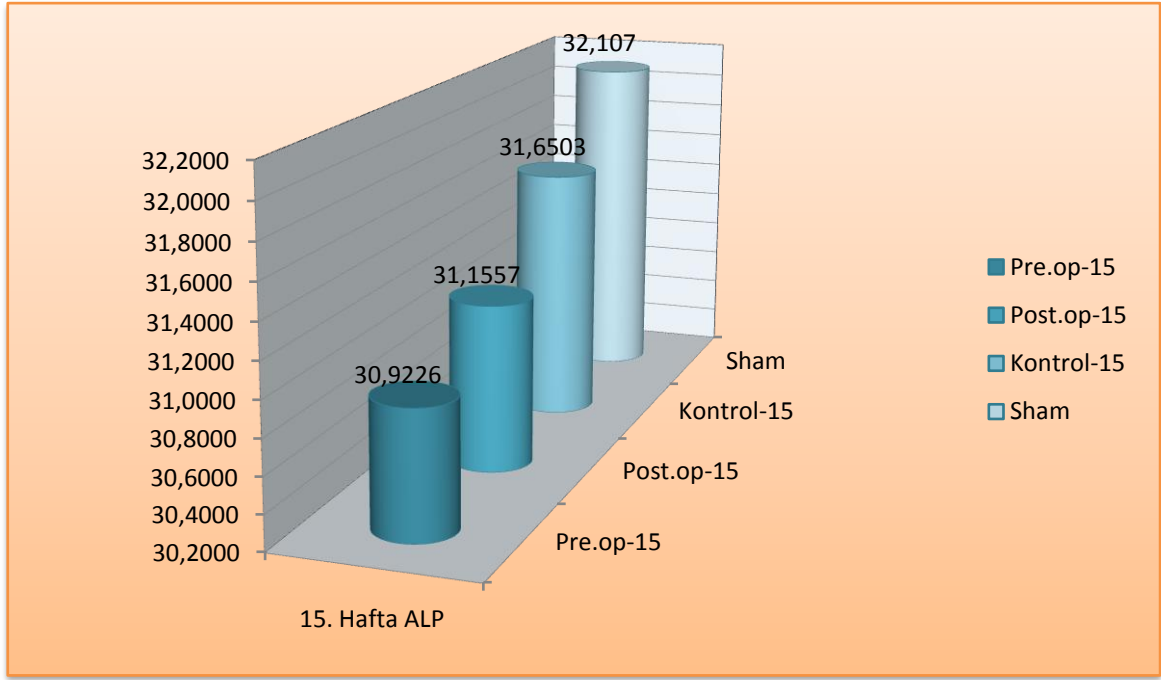
### 6.3.5. ALP

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Anova testine göre ALP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 22:** ALP'nin Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	30.9226±7.31462
Postoperatif-15	9	31.1557±5.46393
Kontrol-15	8	31.6503±6.81722
Sham	7	32.1072±10.57547
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>31.4308±7.07462</b>

**Şekil 29:** ALP'nin gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



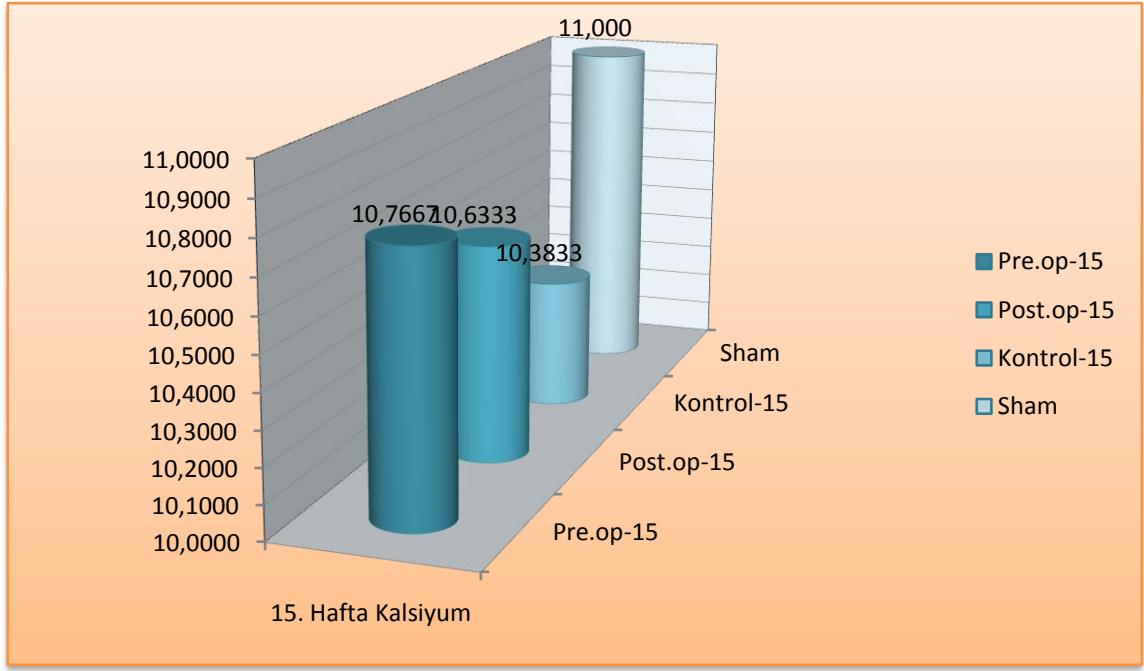
### 6.3.6. Kalsiyum

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre kalsiyum değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 23:** Kalsiyum'un Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	10.7667±.38816
Postoperatif-15	9	10.6333±.31411
Kontrol-15	8	10.3833±.24014
Sham	7	11.0000±.98234
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>10.6826±.54327</b>

**Şekil 30:** Kalsiyum'un gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



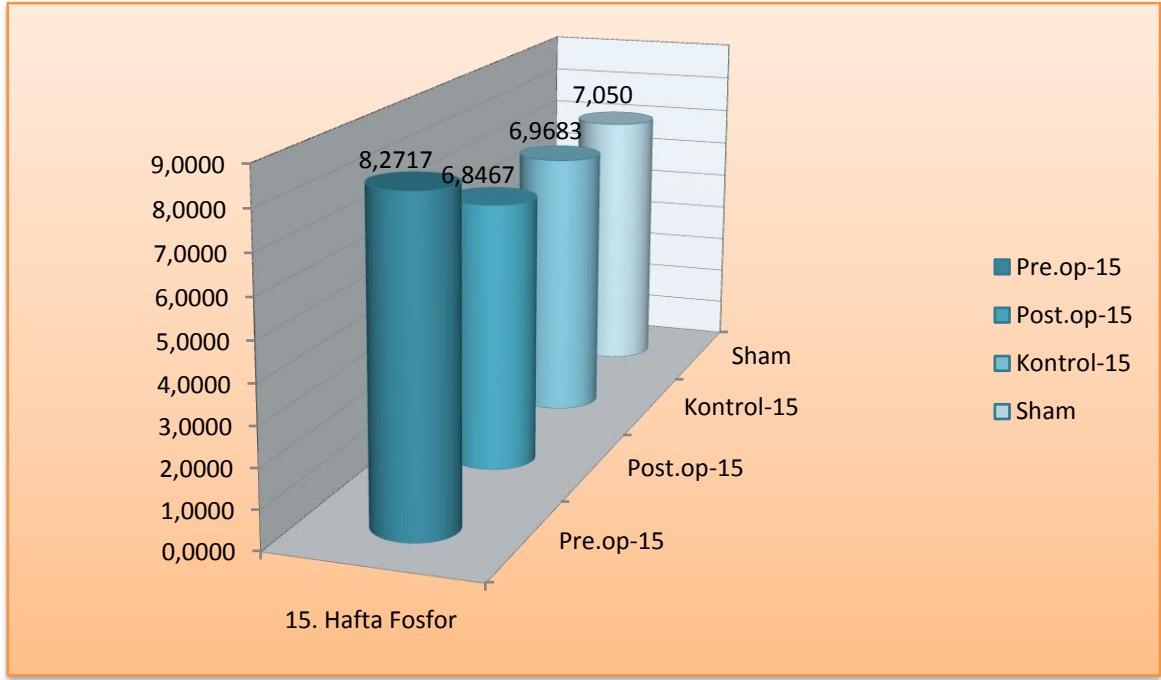
### 6.3.7. Fosfor

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way ANOVA testine göre fosfor değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 24:** Fosfor'un Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	8.2717±1.30145
Postoperatif-15	9	6.8467±.99446
Kontrol-15	8	6.9683±.82543
Sham	7	7.0500±2.98649
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>7.2943±1.65648</b>

**Şekil 31:** Fosfor'un gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



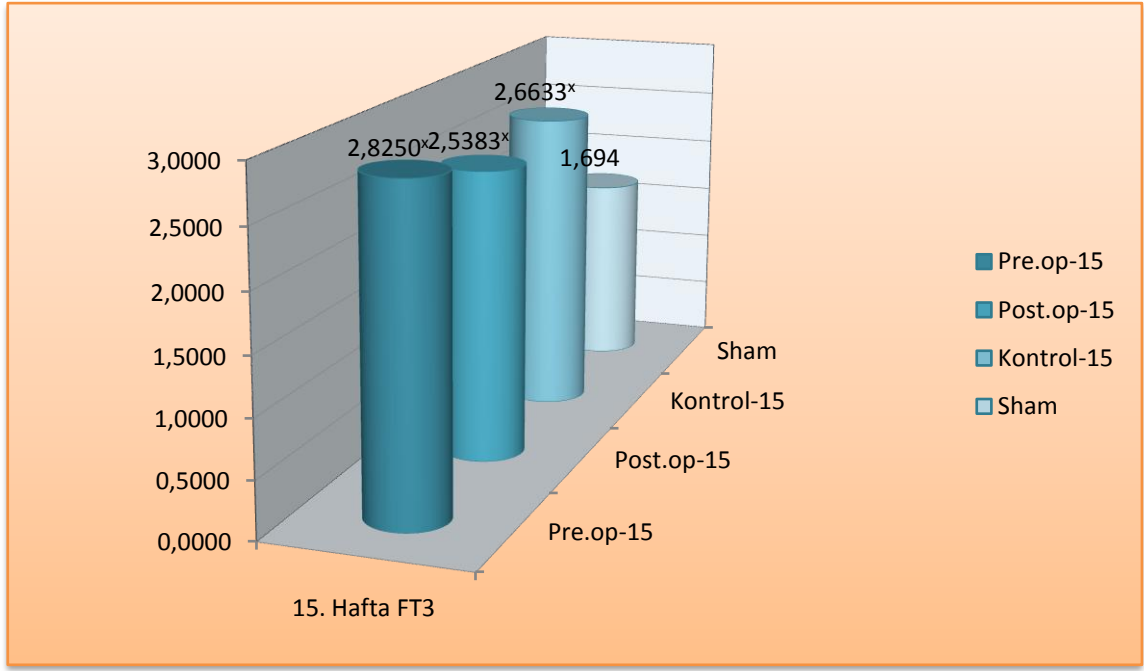
### 6.3.8. FT3

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre FT3 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.016$ ). FT3'e ait alt gruplar (Kontrol-15, Preoperatif-15, Postoperatif-15 ile Sham grubu) Duncan testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında, Sham grubu, Preoperatif-15 ( $p=0,002$ ), Postoperatif-15 ( $p=0.026$ ), Kontrol-15 ( $p=0.013$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Tablo 25:** FT3'ün Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	2.8250±.24777
Postoperatif-15	9	2.5383±.43595
Kontrol-15	8	2.6633±.39973
Sham	7	1.6940±.36143
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>2.4622±.54758</b>

**Şekil 32:** FT3'ün gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

### 6.3.9. FT4

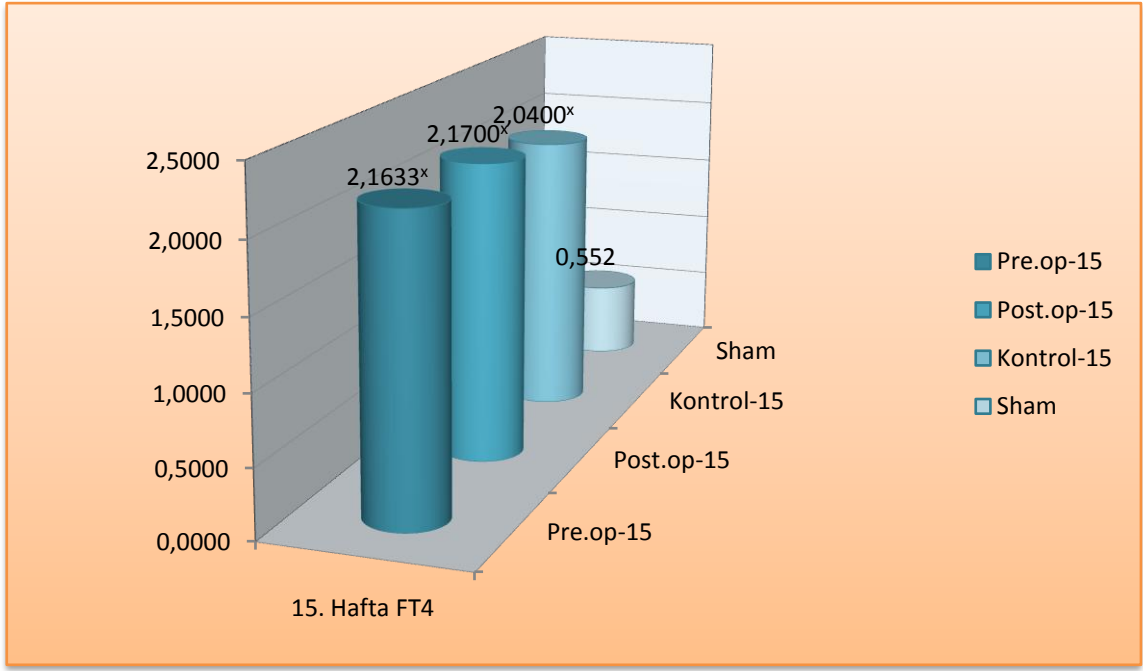
15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre FT4 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.006$ ). FT4'e ait alt gruplar (Kontrol-15, Preoperatif-15, Postoperatif-15 ile Sham grubu) Duncan testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında, Sham grubu, Preoperatif-15 arasında ( $p=0,002$ ), Postoperatif-15 ile ( $p=0,002$ ) ve Kontrol-15 ( $p=0,026$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Tablo 26:** FT4'ün Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	2.1633±.13706
Postoperatif-15	9	2.1700±.29441
Kontrol-15	8	2.0400±.29826
Sham	7	.5520±.22499
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>1.7826±.70435</b>

**Şekil 33:** FT4'ün gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.





x= Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

#### 6.4. Biyokimyasal Parametrelerin İstatistiksel Analizi (17. Hafta)

17. haftaya ait gruplardaki parametrelere (osteokalsin, N-telopeptid, C-telopeptid, vitamin D, ALP, kalsiyum, fosfor, FT3 ve FT4) Shapiro-Wilk ile normalite testi uygulandı.

**Tablo 27:** Shapiro-Wilk testi

Parametreler	p
Osteokalsin	.000
N-telopeptid	.011
C-telopeptid	.006
Vitamin D	.131*
ALP	.010
Kalsiyum	.141*
Fosfor	.439*
FT3	.161*
FT4	.010

Bu teste göre normal dağılım gösteren vitamin D, kalsiyum, fosfor ve FT3 parametrelerine One-way ANOVA testi uygulandı.

**Tablo 28:** Vitamin D, Kalsiyum, Fosfor ve FT3 değerleri

\*İstatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

.313	.001*	.220	.000*
One way - ANOVA			

One-way ANOVA testine istatistiksel olarak anlamlı fark kalsiyum ve FT3’de çıkmıştır. Bu yüzden kalsiyum ve FT3’ün homojenitesine levene testi ile bakılmıştır. Grupların çoklu karşılaştırılmasına LSD testi ile bakılmıştır.

Shapiro-Wilk testine göre normal dağılım göstermeyen osteokalsin, C-telopeptid, ALP ve FT4 parametrelerine Kruskal Wallis testi uygulanmıştır.

**Tablo 29:** Kruskal Wallis testi

	osteokalsin	C-telopeptid	ALP	FT4	N-telopeptid
p	.589	.918	.198	.004*	.040*

\*. Ortalama fark  $p > 0.05$  den küçük seviyelerde anlamlıdır.

Kruskal Wallis testine göre anlamlı çıkan FT4 ve N-telopeptid parametrelerine Duncan testi uygulandı.

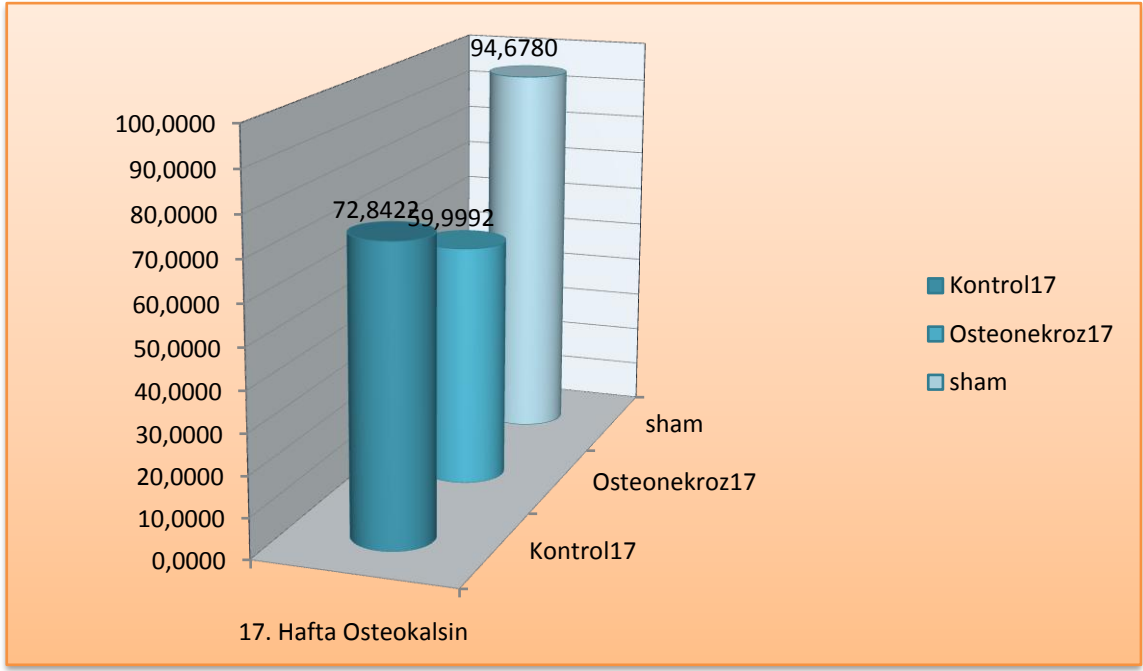
#### 6.4.1. Osteokalsin

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre osteokalsin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p > 0.05$ ) çıkmamıştır.

**Tablo 30:** Osteokalsin'in Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	72.8422±58.83882
Osteonekroz-17	9	59.9992±13.28257
Sham	7	94.6780±68.95617
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>74.7316±50.32703</b>

**Şekil 34:** Osteokalsin'in gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



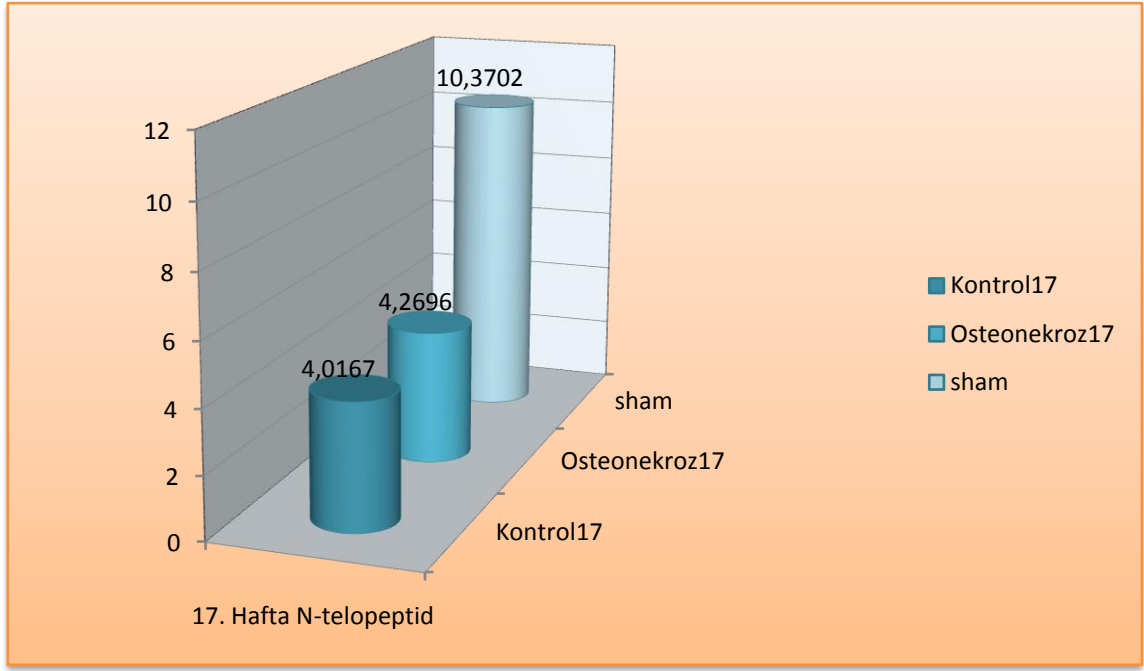
#### 6.4.2. N-telopeptid

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre N-telopeptid değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.040$ ). N-telopeptid'e ait alt gruplar (Kontrol-17, Osteonekroz-17 ile Sham grubu) Duncan testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında Sham grubu Kontrol-17 ( $p=0.020$ ) ve Osteonekroz-17 ( $p=0.034$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır.

**Tablo 31:** N-telopeptid'nin Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	4.0167±1.71871
Osteonekroz-17	9	4.2696±1.75811
Sham	7	10.3702±5.07059
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>5.9746±4.10881</b>

**Şekil 35:** NTX'in gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



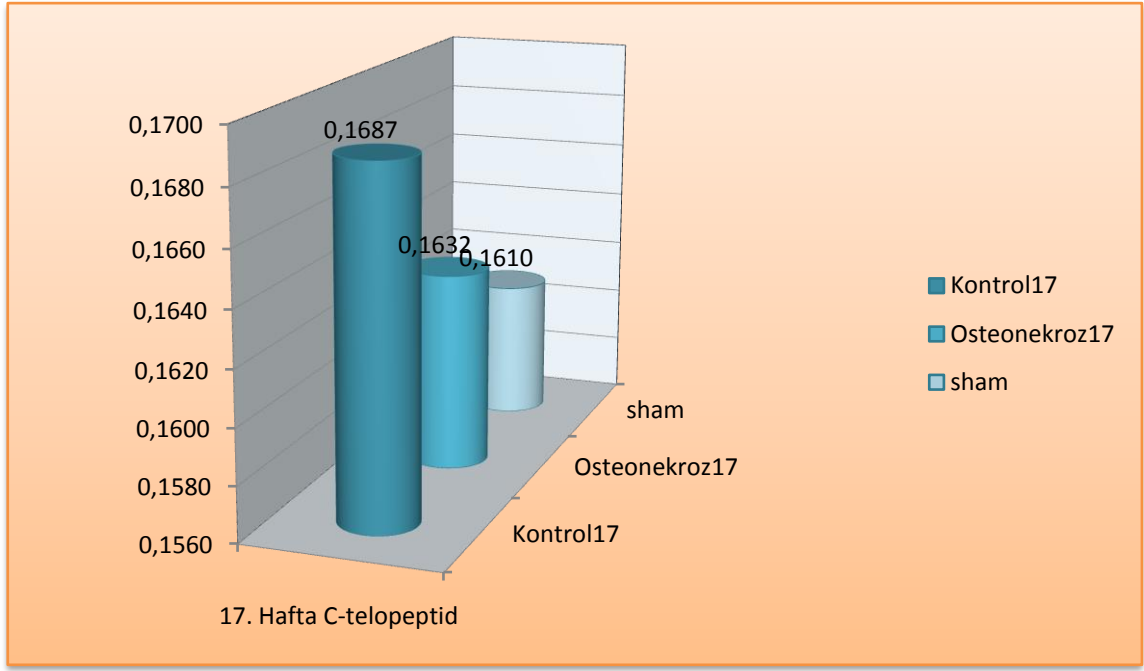
### 6.4.3. C-telopeptid

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre C-telopeptid değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farkçıkılmamıştır ( $p>0.05$ ).

**Tablo 32:** C-telopeptid'in Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	.1687±.06316
Osteonekroz-17	9	.1632±.06542
Sham	7	.1610±.04147
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>.1645±.05500</b>

**Şekil 36:** C-telopeptid'in gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



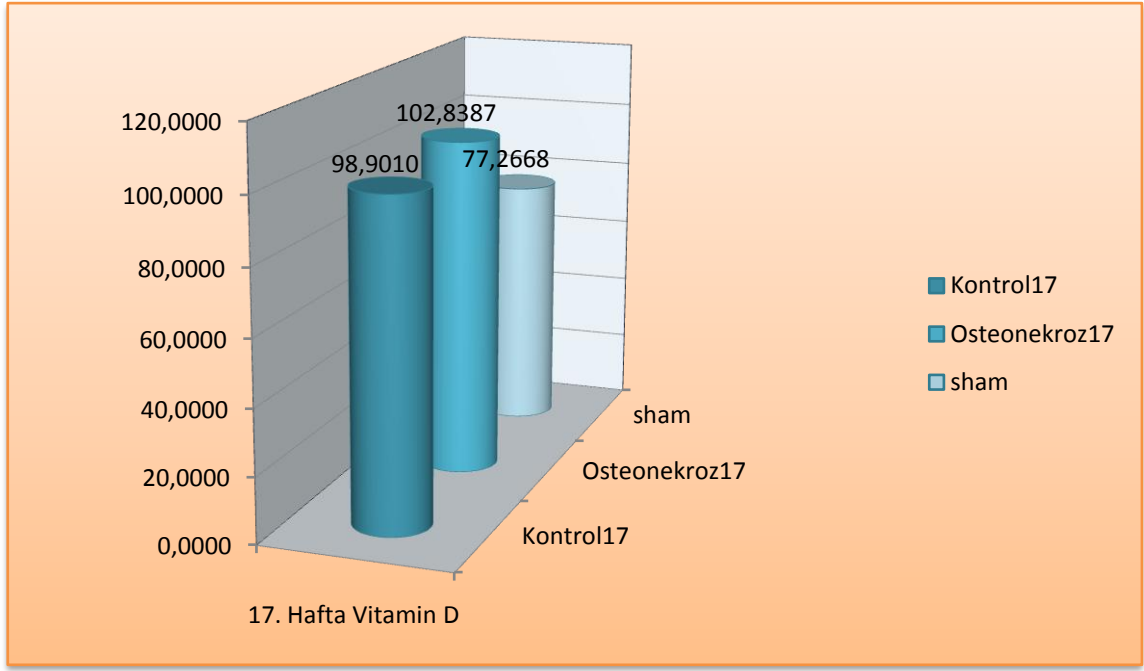
#### 6.4.4. Vitamin D

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Anova testine göre vitamin D değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 33:** Vitamin D'nin Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	98.9010±37.77956
Osteonekroz-17	9	102.8387±26.47148
Sham	7	77.2668±11.23047
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>93.9278±28.67646</b>

**Şekil 37:** Vitamin D'nin gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



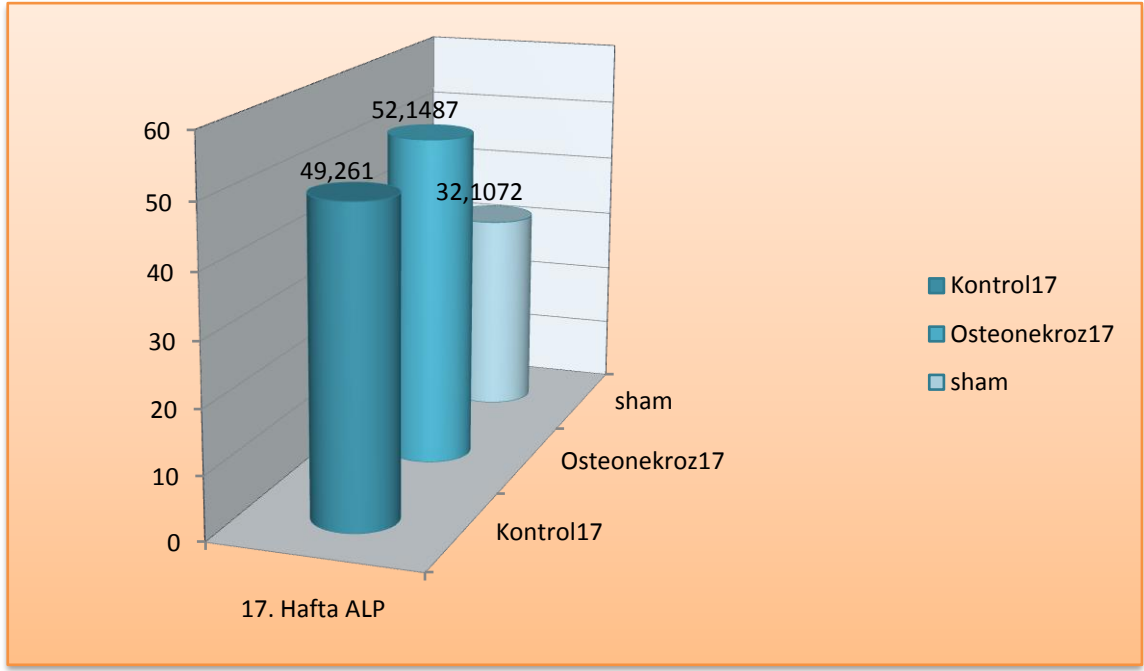
#### 6.4.5. ALP

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre ALP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farkçıkılmamıştır ( $p>0.05$ ).

**Tablo 34:** ALP'nin Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	49.2610±20.21341
Osteonekroz-17	9	52.1487±28.97910
Sham	7	32.1072±10.57547
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>45.2350±22.26959</b>

**Şekil 38:** ALP'nin gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



#### 6.4.6. Kalsiyum

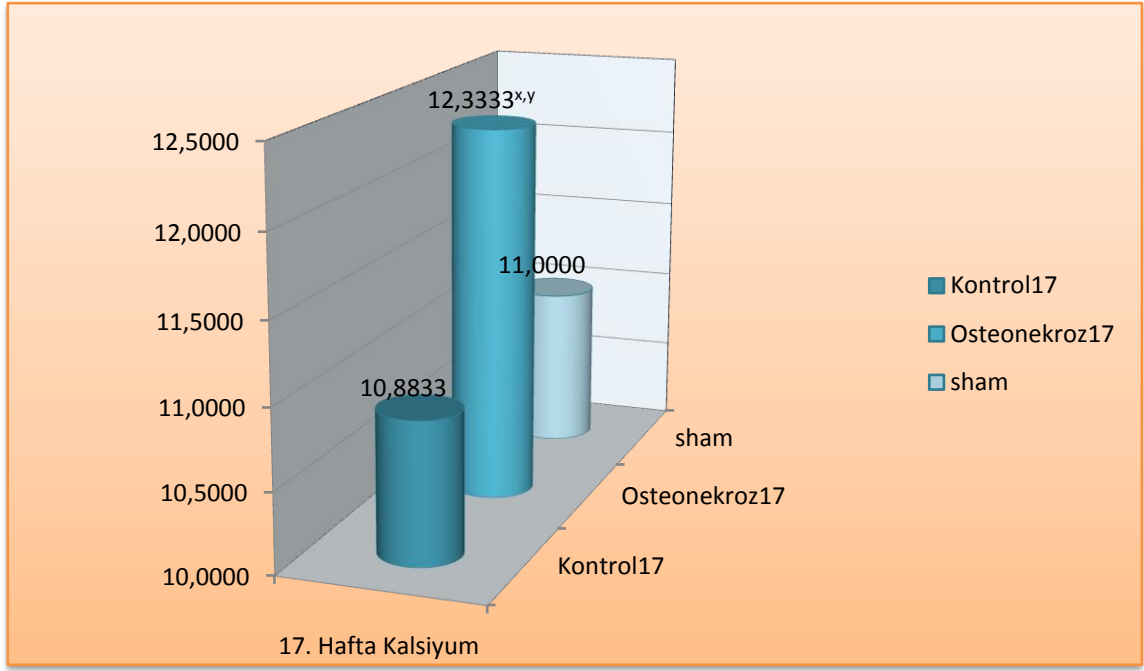
17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Anova testine göre kalsiyum değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.001$ ). Kalsiyum'a ait alt gruplar (Kontrol-17, Osteonekroz-17 ile Sham) grubu LSD testine göre kendi aralarında karşılaştırıldıklarında Osteonekroz-17 grubu hem Kontrol-17 grubuna göre ( $p=0.001$ ) hemde Sham grubuna göre ( $p=0.002$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır.

**Tablo 35:** Kalsiyum'un Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	10.8833±.20412
Osteonekroz-17	9	12.3333±.32042
Sham	7	11.0000±.98234
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>11.4294±.87304</b>

**Şekil 39:** Kalsiyum'un gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.





x= Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

y= Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

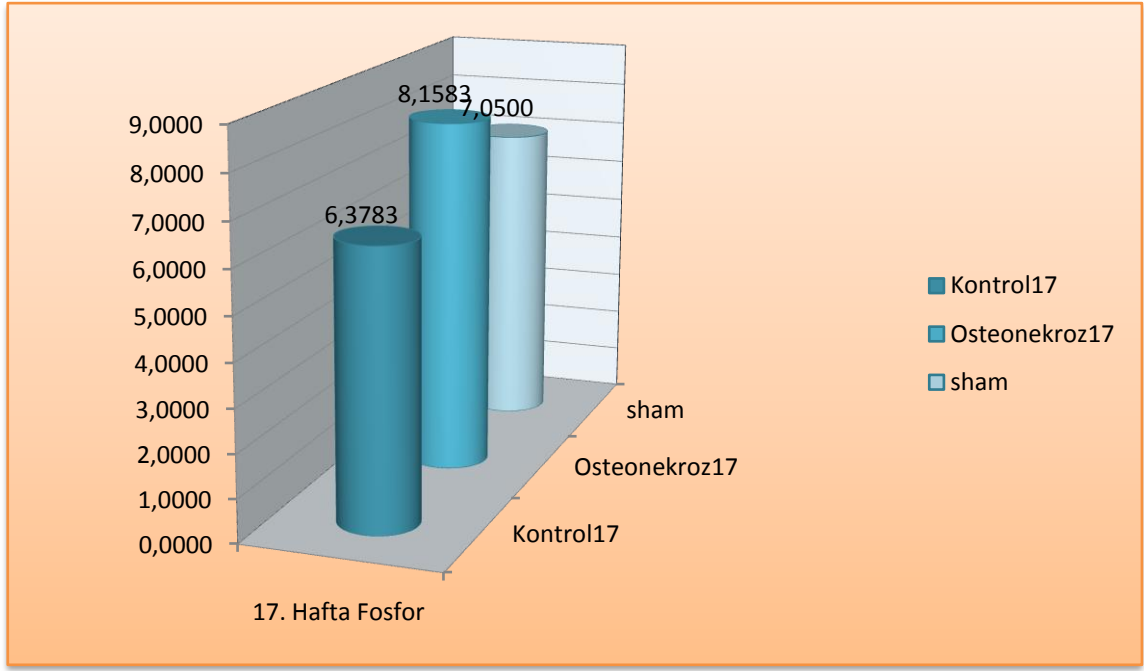
#### 6.4.7. Fosfor

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Anova testine göre C-telopeptid değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farkçıkmamıştır ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 36:** Fosfor'un Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	6.3783±.65276
Osteonekroz-17	9	8.1583±.67256
Sham	7	7.0500±2.98649
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>7.2041±1.76320</b>

**Şekil 40:** Fosfor'un gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



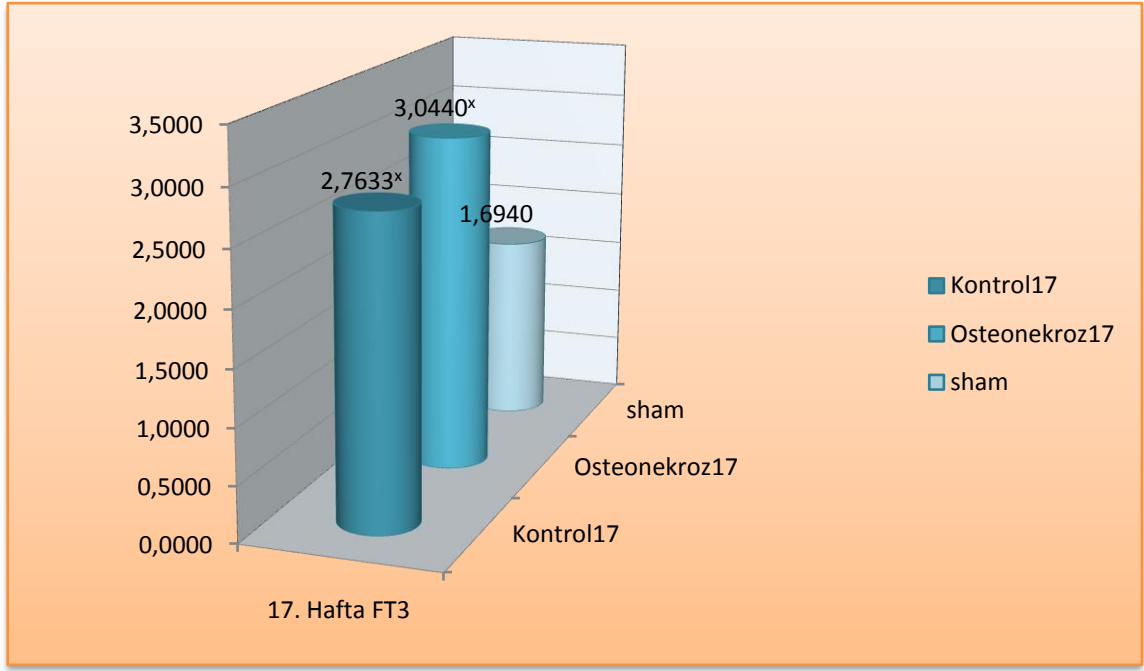
#### 6.4.8. FT3

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Anova testine göre FT3 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.000$ ). FT3'e ait alt gruplar (Kontrol-17, Osteonekroz-17 ile Sham grubu) LSD testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında Sham grubu, Osteonekroz-17 ( $p=0.000$ ) ve Kontrol-17 ( $p=0.000$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Tablo 37:** FT3'ün Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	2.7633±.38980
Osteonekroz-17	8	3.0440±.22996
Sham	7	1.6940±.36143
<b>Toplam</b>	<b>23</b>	<b>2.5169±.66499</b>

**Şekil 41:** FT3'ün gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

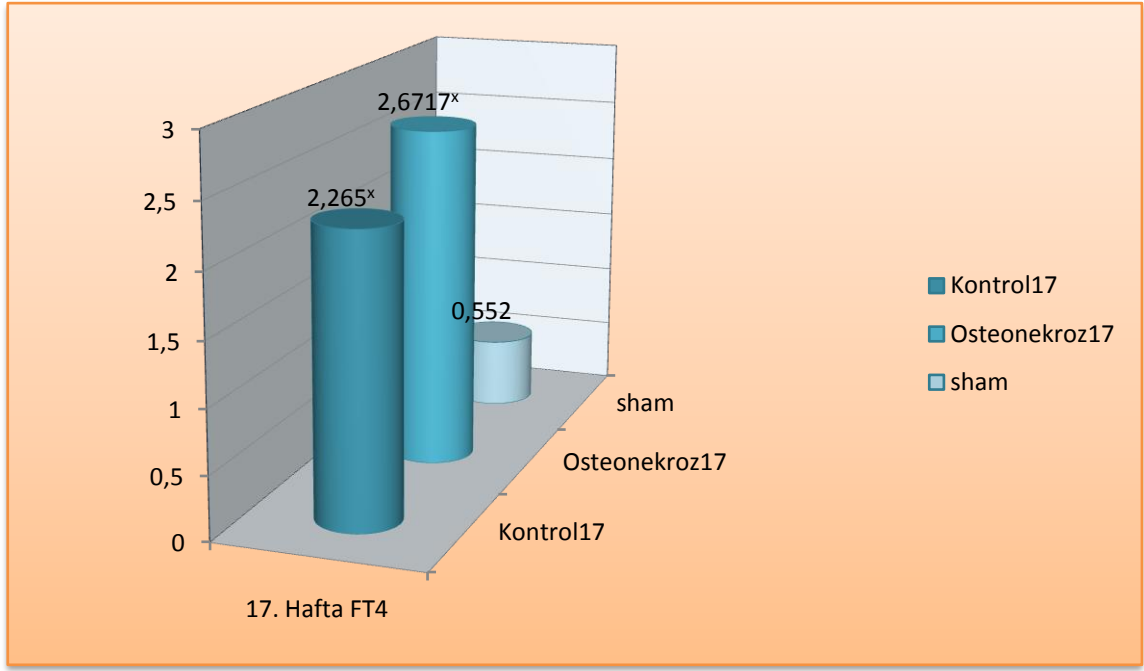
#### 6.4.9. FT4

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre FT4 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.004$ ). FT4'e ait alt gruplar (Kontrol-17, Osteonekroz-17 ile Sham grubu) Duncan testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında Sham grubu, Kontrol-17 ( $p=0.022$ ) ve Osteonekroz-17 gruplarına göre ( $p=0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Tablo 38:** FT4'ün Ortalama Değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	2.2650±.47184
Osteonekroz-17	9	2.6717±.22076
Sham	7	.5520±.22499
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>1.9047±.96878</b>

**Şekil 42:** FT4'ün gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.

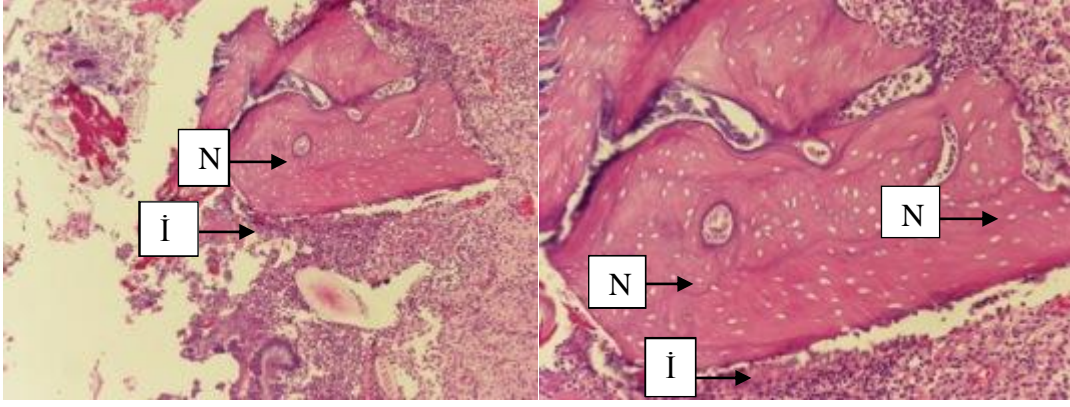


x= Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

## 6.5. Histopatolojik Analiz Sonuçları

### 6.5.1. Kontrol-10 grubunun histolojik bulguları

10. hafta sakrifiye edilen Kontrol-10 grubundan elde edilen maksiller kemik örneklerinin boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında incelenmesinde; defekt bölgesinde belirgin osteonekroz mevcut olup, nekroz bölgesinin etrafı iyileşme fazının henüz ilk evresinde olduğu (proliferasyon), nekroz bölgesinin tabanında osteoblastların mevcut olduğu fakat defekt bölgesinin çevresinin osteoklasttan tamamen yoksun olduğu tespit edildi. Sonuç olarak bu grupta 10. hafta sakrifiye edilen Preoperatif-10 ve Postoperatif-10 gruplarına göre; kemik iyileşmesinin ve rezorbsiyon bulgularının daha az olduğu tespit edildi. (Resim 9 A-B).

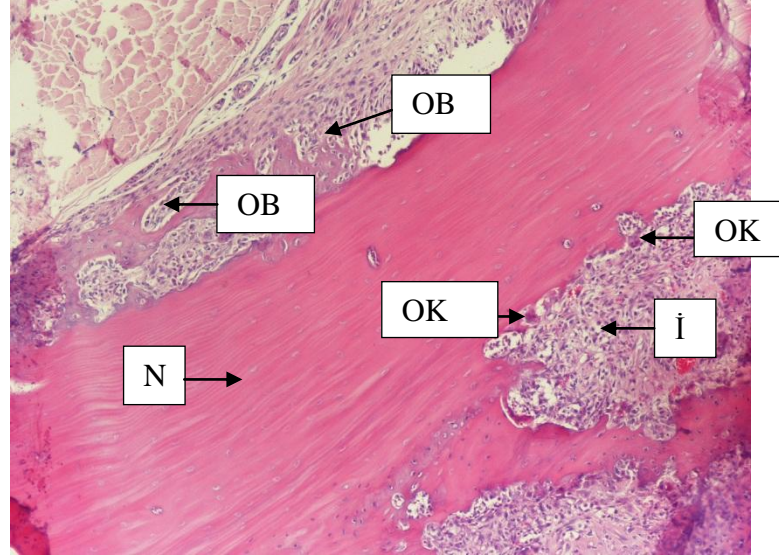


**Resim 9 A-B:** 10. hafta sakrifiye edilen kontrol grubundan alınan Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanmış olan histopatolojik örnekler (Kontrol-10)(x100vex200).

N: Nekroz İ: İyileşme

### 6.5.2. Preoperatif-10 grubunun histolojik bulguları

10. hafta sakrifiye edilen Preoperatif-10 grubundan elde edilen maksiller kemik örneklerinin boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında incelenmesinde; defekt bölgesinde belirgin bir şekilde osteonekroz mevcut olup, nekroz bölgesinin etrafı iyileşme fazının orta evresinde olduğu (fibrozis+proliferasyon), nekroz bölgesinin tabanında osteoblastların mevcut olduğu tespit edildi ve defekt bölgesinin çevresinde osteoklastların arttığı tespit edildi. Sonuç olarak bu grupta 10. hafta sakrifiye edilen Kontrol-10 grubuna göre kemik iyileşmesinin daha iyi olduğu ve bölgede rezorbsiyon bulgularının daha fazla olduğu; Preoperatif -10 grubuna göre ise nekroz miktarının daha fazla olduğu, kemik iyileşmesinin ve rezorbsiyon bulgularının benzer olduğu tespit edildi (Resim 10).

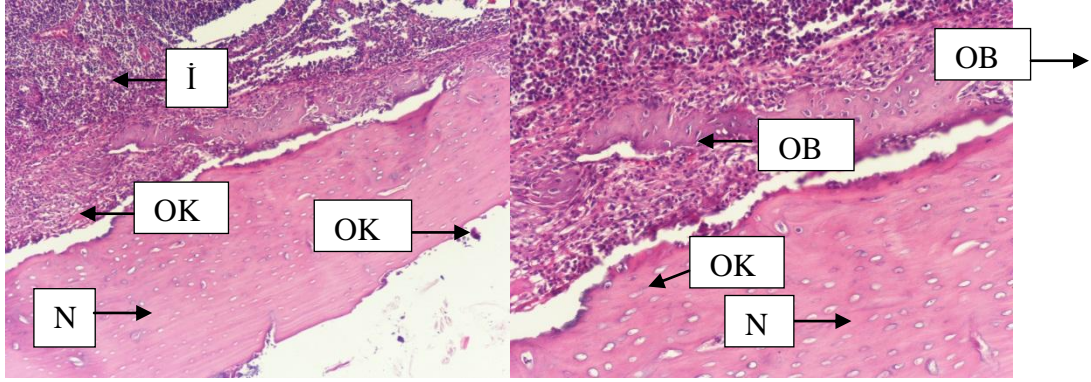


**Resim 10:** 10. hafta sakrifiye edilen operasyon öncesi grubundan alınan Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanmış olan histopatolojik örnekler (Preoperatif-10) (x200).

İ: İyileşme OK: Osteoklast; OB: Osteoblast; N: Nekroz

### 6.5.3. Postoperatif-10 grubunun histolojik bulguları

10. hafta sakrifiye edilen Postoperatif-10 grubundan elde edilen maksiller kemik örneklerinin boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında incelenmesinde; defekt bölgesinde osteonekroz miktarının az olduğu, nekroz bölgesinin etrafı iyileşme fazının orta evresinde olduğu (fibrozis+proliferasyon), nekroz bölgesinin tabanında osteoblastların ve osteoklastların artmış olduğu tespit edildi. Sonuç olarak bu grupta 10. hafta sakrifiye edilen Kontrol-10 grubuna göre kemik iyileşmesinin daha iyi olduğu ve bölgede rezorbsiyon bulgularının daha fazla olduğu; Preoperatif-10 grubuna göre nekroz miktarının daha az olduğu ve kemik iyileşmesinin ve rezorbsiyon bulgularının benzer olduğu tespit edildi (Resim 11 A-B).

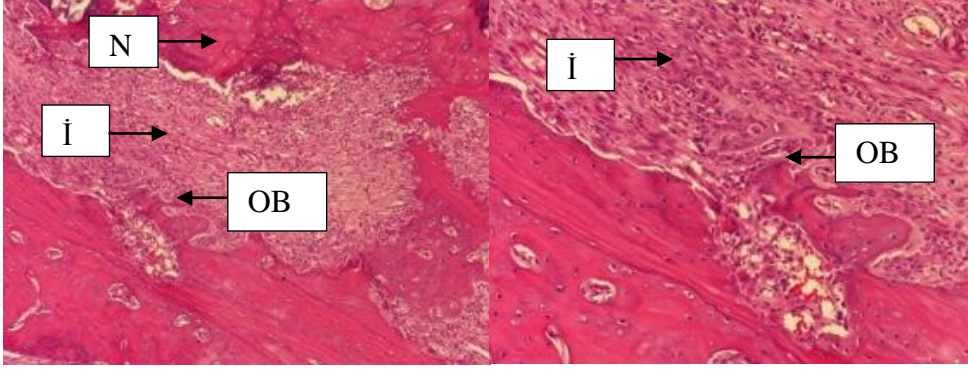


**Resim 11 A-B:** 10. hafta sakrifiye edilen operasyon sonrası grubundan alınan Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanmış olan histopatolojik örnekler (Postoperatif-10)(x100vex200).

OK: Osteoklast N: Nekroz İ:İyileşme

#### 6.5.4. Kontrol-15 grubunun histolojik bulguları

15. hafta sakrifiye edilen Kontrol-15 grubundan elde edilen maksiller kemik örneklerinin boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında incelenmesinde; defekt bölgesinde belirgin osteonekroz mevcut olup, nekroz bölgesinin etrafı iyileşme fazının orta evresinde olduğu (fibrozis+proliferasyon), nekroz bölgesinin tabanında osteoblastların artmış olduğu fakat defekt bölgesinin çevresinin osteoklasttan yoksun olduğu tespit edildi. Sonuç olarak bu grupta enflamasyon miktarı,15. hafta sakrifiye edilen Preoperatif-15, Postoperatif-15 grupları ile benzer olduğu,osteoblastik aktivitenin bu gruplardan daha fazla olduğu, fakat bölgede rezorbsiyon bulgularının daha az olduğu tespit edildi (Resim 12 A-B).



**Resim A**

**Resim B.**

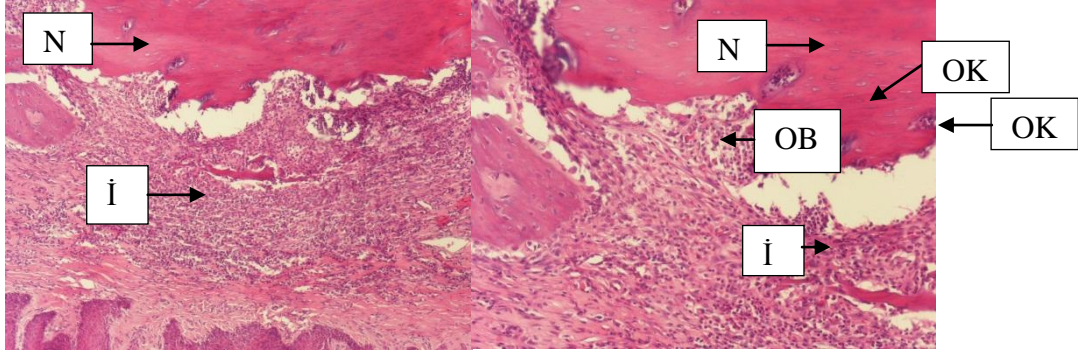
**Resim 12 A-B:** 15. hafta sakrifiye edilen kontrol grubundan alınan Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanmış olan histopatolojik örnekler (Kontrol-15)(x100vex200)

İ: İyileşme      OB: Osteoblast      N: Nekroz

#### **6.5.5. Preoperatif-15 grubunun histolojik bulguları**

15. hafta sakrifiye edilen Preoperatif-15 grubundan elde edilen maksiller kemik örneklerinin boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında incelenmesinde; defekt bölgesinde belirgin osteonekroz mevcut olup, nekroz bölgesinin etrafı iyileşme fazının orta evresinde olduğu (fibrozis+proliferasyon), nekroz bölgesinin tabanında osteoblastların normal seviyede ve osteoklastların ise artmış olduğu tespit edildi. Sonuç olarak bu grupta iyileşme fazı Kontrol-15 ve Postoperatif-15 grupları ile aynı seviyede, osteoklastik aktivitenin ise bu gruplardan daha fazla olduğu tespit edildi (Resim 13 A-B).



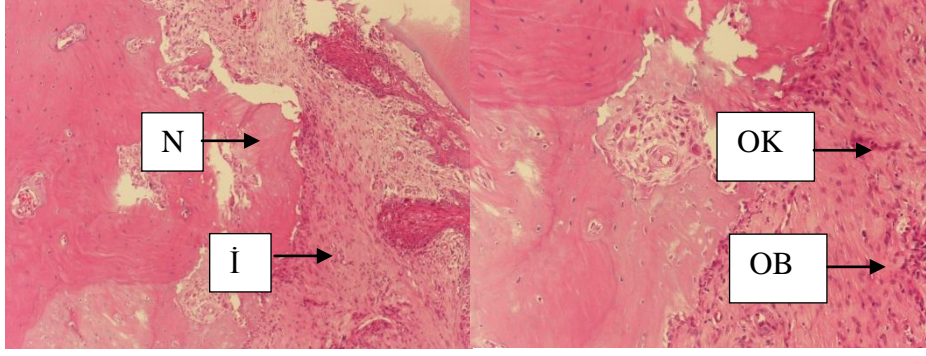


**Resim 13 A-B:** 15. hafta sakrifiye edilen operasyon öncesi grubundan alınan Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanmış olan histopatolojik örnekler (Preoperatif-15)(x40vex100).

İ:İyileşme      OK: Osteoklast      OB: Osteoblast      N: Nekroz

#### **6.5.6. Postoperatif-15 grubunun histolojik bulguları**

15. hafta sakrifiye edilen Postoperatif-15 grubundan elde edilen maksiller kemik örneklerinin boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında incelenmesinde; defekt bölgesinde düşük oranda osteonekroz mevcut olup, nekroz bölgesinin etrafı iyileşme fazının orta evresinde olduğu (fibrozis+proliferasyon), nekroz bölgesinin tabanında osteoblastların normal seviyede ve osteoklastların artmış olduğu tespit edildi. Sonuç olarak bu grupta ise 15. hafta sakrifiye edilen Kontrol-15 ve Preoperatif-15 gruplarına göre; kemik iyileşmesinin benzer olduğu fakat nekroz miktarının ise daha az olduğu tespit edildi (Resim 14).

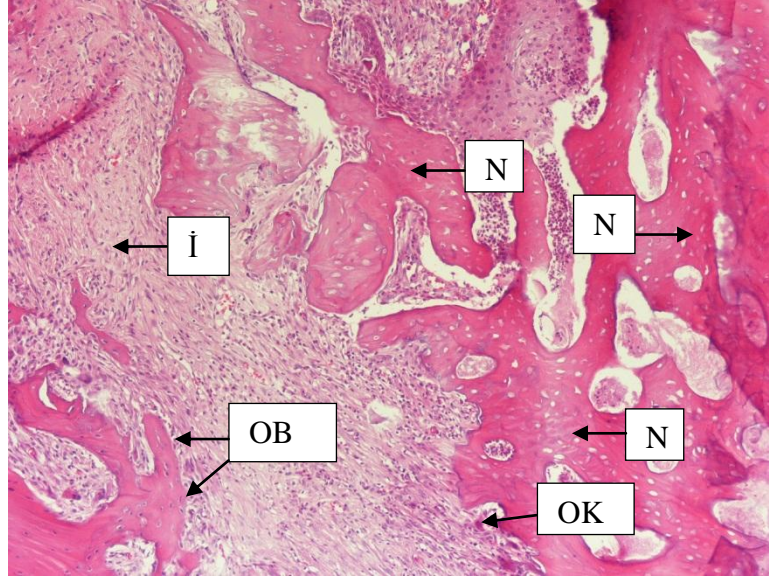


**Resim 14:** 15. hafta sakrifiye edilen operasyon sonrası grubundan alınan Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanmış olan histopatolojik örnekler (Postoperatif-15)(x100vex200)

İ: İyileşme      OK: Osteoklast      OB: Osteoblast      N: Nekroz

#### **6.5.7. Kontrol-17 grubunun histolojik bulguları**

17. hafta sakrifiye edilen Kontrol-17 grubundan elde edilen maksiller kemik örneklerinin boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında incelenmesinde; defekt bölgesinde belirgin osteonekroz mevcut olup, nekroz bölgesinin etrafı iyileşme fazının orta evresinde olduğu (fibrozis+proliferasyon), nekroz bölgesinin tabanında artmış aktif osteoblastlar mevcut olduğu fakat defekt bölgesinin çevresinde az miktarda osteoklast olduğu tespit edildi. Sonuç olarak bu grupta ise 17. hafta sakrifiye edilen Osteonekroz-17 grubuna göre; kemik iyileşmesinin, nekroz miktarının ve osteoblastik aktivitenin benzer olduğu fakat bölgede rezorbsiyon bulgularının daha az olduğu tespit edildi (Resim 15).

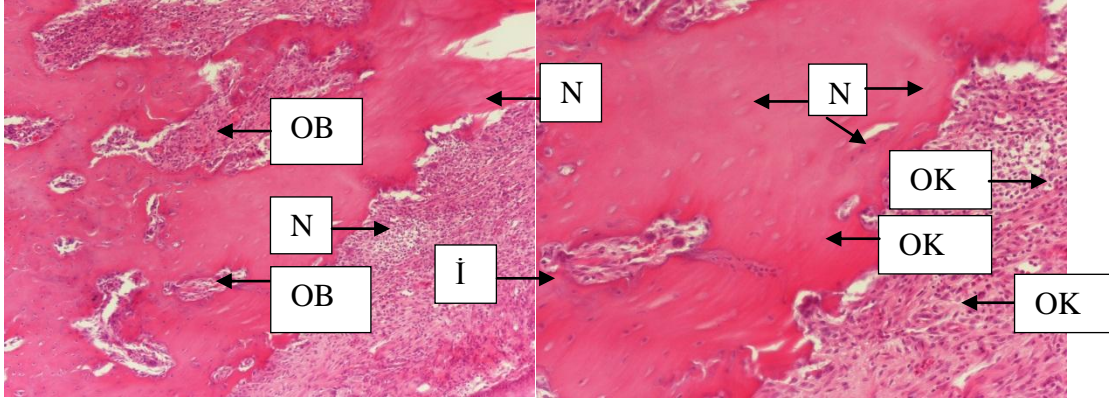


**Resim 15:** 17. hafta sakrifiye edilen kontrol grubundan alınan Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanmış olan histopatolojik örnekler (Kontrol-17)(x200).

İ:İyileşme      OK: Osteoklast      OB: Osteoblast      N: Nekroz

#### **6.5.8. Osteonekroz-17 grubunun histolojik bulguları**

17. hafta sakrifiye edilen O.nekroz-17 grubundan elde edilen maksiller kemik örneklerinin boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında incelenmesinde; defekt bölgesinde belirgin osteonekroz mevcut olup, nekroz bölgesinin etrafı iyileşme fazının orta evresinde olduğu (fibrozis+proliferasyon), nekroz bölgesinin tabanında osteoblastların ve osteoklastların belirgin bir şekilde artmış olduğu tespit edildi. Sonuç olarak bu grupta ise 17. hafta sakrifiye edilen Kontrol-17 grubuna göre; kemik iyileşmesinin, nekroz miktarının ve osteoblast sayısının benzer olduğu fakat bölgede osteoklastik aktivitenin daha belirgin olduğu tespit edildi (Resim 16 A-B).



**Resim 16 A-B:** 17. hafta sakrifiye edilen osteonekroz sonrası grubundan alınan Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanmış olan histopatolojik örnekler (Osteonekroz-17)(x100vex200)

İ:İyileşme      OC: Osteoklast      OB: Osteoblast      N: Nekroz

**Tablo 39:**Histolojik olarak osteonekroz alanının, enflamasyon fazının, osteoblast ve osteoklast sayılarının ortalamalarının gruplara göre değerlendirilmesi.

	Osteonekroz Alanı	İnflamasyon Fazı	Osteoblast sayısı	Osteoklast sayısı
Kontrol-10	2,40	1,20	6,60	0,00
Preoperatif-10	2,60	2,00	5,25	5,6
Postoperatif-10	1,66	1,83	4,16	6,33
Kontrol-15	2,50	1,50	7,50	1,00
Preoperatif-15	2,16	2,00	3,00	7,66
Postoperatif-15	1,375	2,00	2,75	4,375
Kontrol-17	2,43	1,60	6,10	2,30
Osteonekroz-17	2,625	2,00	6,375	7,625

## 6.6. Histopatolojik Parametrelerin İstatiksel Analizleri (10. Hafta)

10. haftaya ait gruplardaki parametrelere (osteoblast, osteoklast, enflamasyon, makroskopik osteonekroz ve histolojik osteonekroz) Shapiro-Wilk ile normalite testi uygulandı.

**Tablo40:**Normalite testi/ Shapiro-Wilk

Shapiro-Wilk Testi	
parametreler	p
makroskopikosteonekroz	.015
histolojikosteonekroz	.000
enflamasyon	.000
osteoblast	.035
osteoklast	.016

\* normal dağılım gösteren parametreler ( $p>0.05$ )

Shapiro-Wilk testine göre normal dağılım göstermeyen makroskopik osteonekroz, histolojik osteonekroz, enflamasyon, osteoblast ve osteoklast parametrelerine Kruskal Wallis Testi yapıldı.

**Tablo 41:** Kruskal Wallis Testi

	Makroskopik osteonekroz	Histolojik osteonekroz	enflamasyon	osteoblast	osteoklast
p	.475	.223	.020*	.405	.006*

\* istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p<0,05$ )

Kruskal Wallis Testine göre istatistiksel olarak anlamlı çıkan enflamasyon ve osteoklast parametrelerine Duncan testi uygulandı.

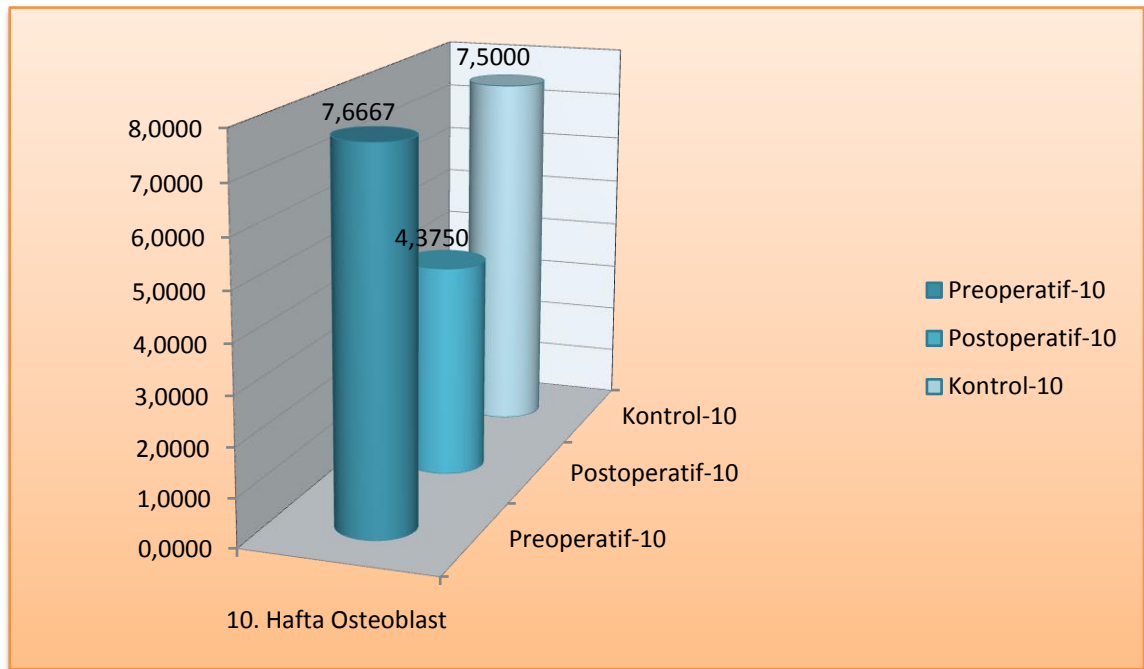
### 6.6.1. Osteoblast

10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisindeKruskal Wallis testine göre osteoblast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 42:** Osteoblast'ın ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	4.8000±1.64317
Postoperatif-10	9	6.3333±2.58199
Kontrol-10	7	6.6000±1.94936
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>5.9375±2.14379</b>

**Şekil 43:** Osteoblast'ın gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



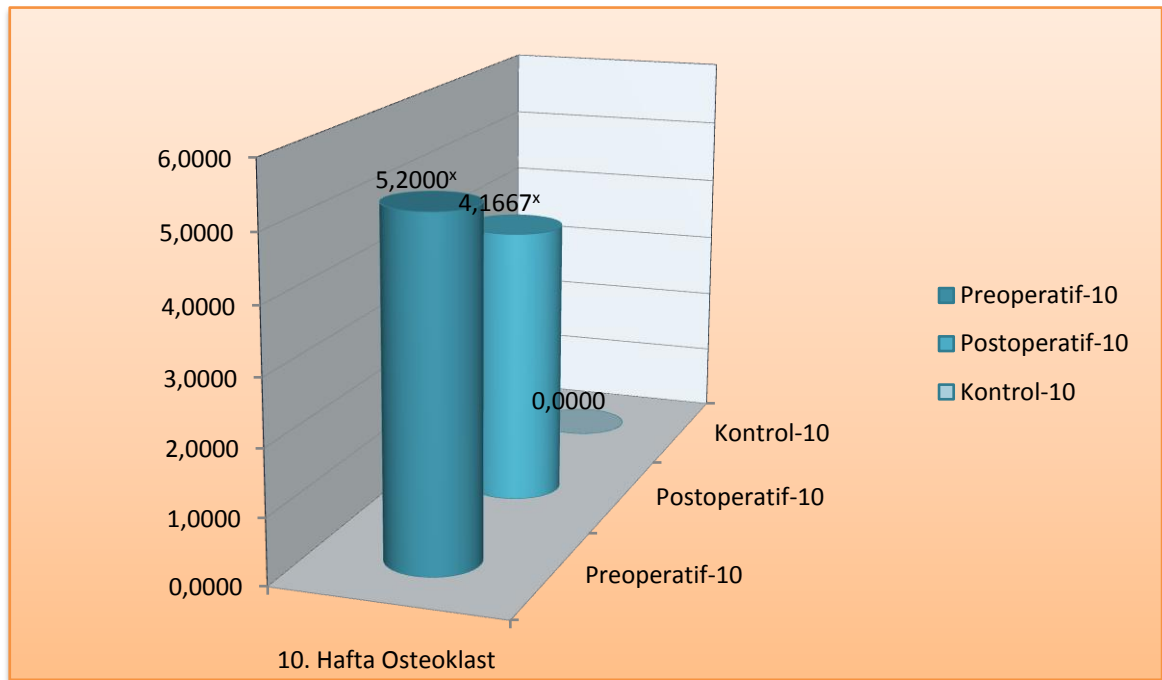
### 6.6.2. Osteoklast

10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre osteoklast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.006$ ). Osteoklast'a ait alt gruplar (Preoperatif-10, Preoperatif-10 ile Kontrol grubu)Duncan testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında Kontrol-10 grubu,Preoperatif-10 ( $p=0.010$ ), Postoperatif-10 ( $p=0.026$ ) gruplarına göre istatistiksel anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Tablo 43:** Osteoklast'ın ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	5.2000±2.86356
Postoperatif-10	9	4.1667±3.12517
Kontrol-10	7	.0000±.00000
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>3.1875±3.25000</b>

**Şekil 44:** Osteoklast'ın gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

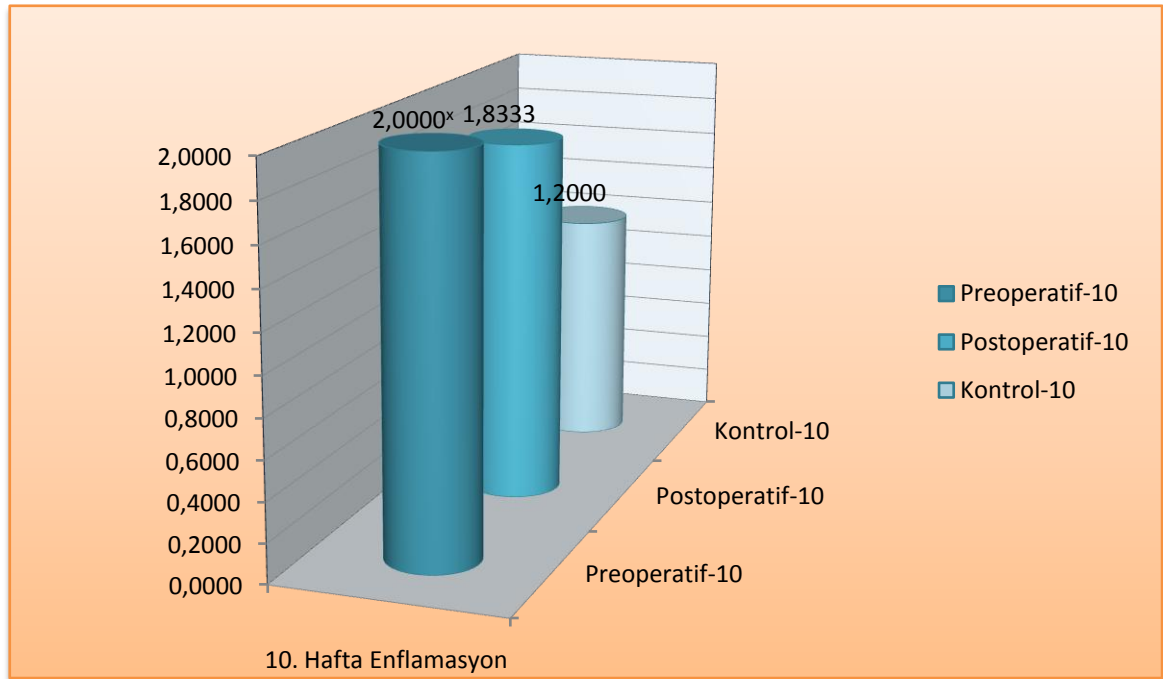
### 6.6.3. Enflamasyon

10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre enflamasyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.020$ ). Enflamasyona'a ait alt gruplar(Preoperatif-10, Postoperatif-10 ile Kontrol grubu) Duncan testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında Preoperatif-10 grubu Kontrol-10 ( $p=0.025$ ) grubuna istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır.

**Tablo 44:** Enflamasyon'un ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	2.0000±.00000
Postoperatif-10	9	1.8333±.40825
Kontrol10	7	1.2000±.44721
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>1.6875±.47871</b>

**Şekil 45:** Enflamasyon'un gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

#### 6.6.4. Histolojik osteonekroz

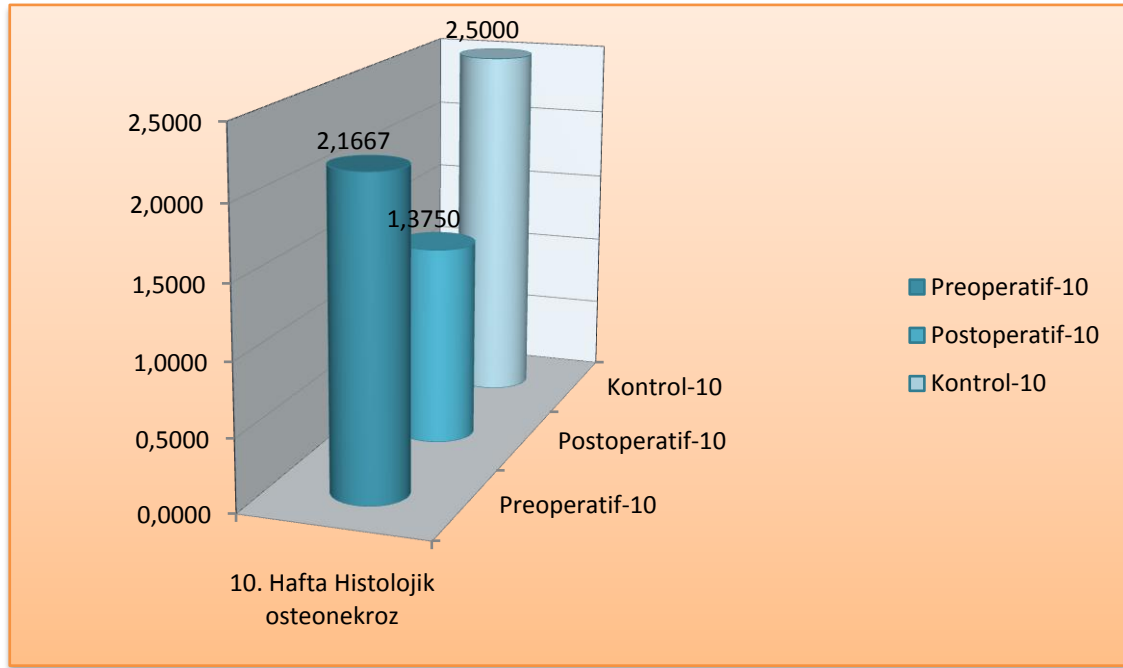
10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre histolojik osteonekroz değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p > 0,05$ )

**Tablo 45:** Histolojik osteonekroz'un ortalama değerleri



Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	2.6000±.89443
Postoperatif-10	9	1.6667±1.03280
Kontrol-10	7	2.4000±.54772
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>2.1875±.91059</b>

**Şekil 46:** Histolojik osteonekroz'un gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



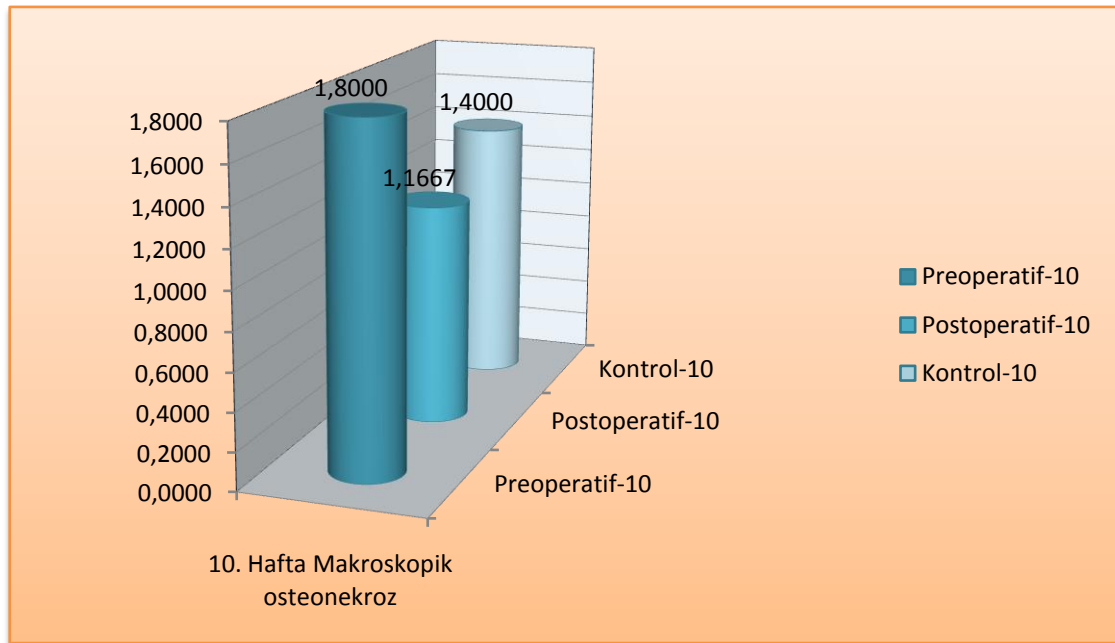
### 6.6.5 Makroskopik osteonekroz

10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre makroskopik osteonekroz değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 46:** Makroskopik osteonekroz'un ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-10	8	1.8000±.83666
Postoperatif-10	9	1.1667±1.16905
Kontrol-10	7	1.4000±.89443
<b>Toplam</b>	<b>24</b>	<b>1.4375±.96393</b>

**Şekil 47:** Makroskopik osteonekroz'un gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



### 6.7. Histopatolojik Parametrelerin İstatiksel Analizleri (15. Hafta)

15. haftaya ait gruplardaki parametrelere (osteoblast, osteoklast, enflamasyon, makroskopik osteonekroz ve histolojik osteonekroz) Shapiro-Wilk testi ile normalite testi uygulandı.

**Tablo47:**Normalite testi/ Shapiro-Wilk

<b>Shapiro-Wilk</b>	
<b>parametreler</b>	<b>p</b>
<b>makroskopikosteonekroz</b>	.000
<b>histolojikosteonekroz</b>	.001
<b>enflamasyon</b>	.000
<b>osteoblast</b>	.079*
<b>osteoklast</b>	.060*

\* normal dağılım gösteren parametreler

Bu teste göre normal dağılım gösteren osteoblast ve osteoklastparametrelerine One-way ANOVA testi uygulandı.

**Tablo 48:**Osteoblast ve osteoklast değerleri

.001*	.153
One way - ANOVA	

\*İstatistiksel olarak anlamlı fark (p<0.05)

One-way ANOVA testine istatistiksel olarak anlamlı fark osteoblast'ta çıkmıştır. Grupların çoklu karşılaştırılmasına ise LSD testi ile bakılmıştır.

Shapiro-Wilk testine göre normal dağılım göstermeyen makroskopik osteonekroz, histolojik osteonekroz ve enflamasyon parametrelerine Kruskal Wallis Testi yapıldı.

**Tablo 49:** Kruskal Wallis Testi

	<b>Makroskopik osteonekroz</b>	<b>Histolojik osteonekroz</b>	<b>Enflamasyon</b>
<b>p</b>	.092	.007	.067

\* istatistiksel olarak anlamlı fark (p<0,05)

Kruskal Wallis Testine göre istatistiksel olarak anlamlı çıkan histolojik osteonekroz parametresine Duncan testi uygulandı.

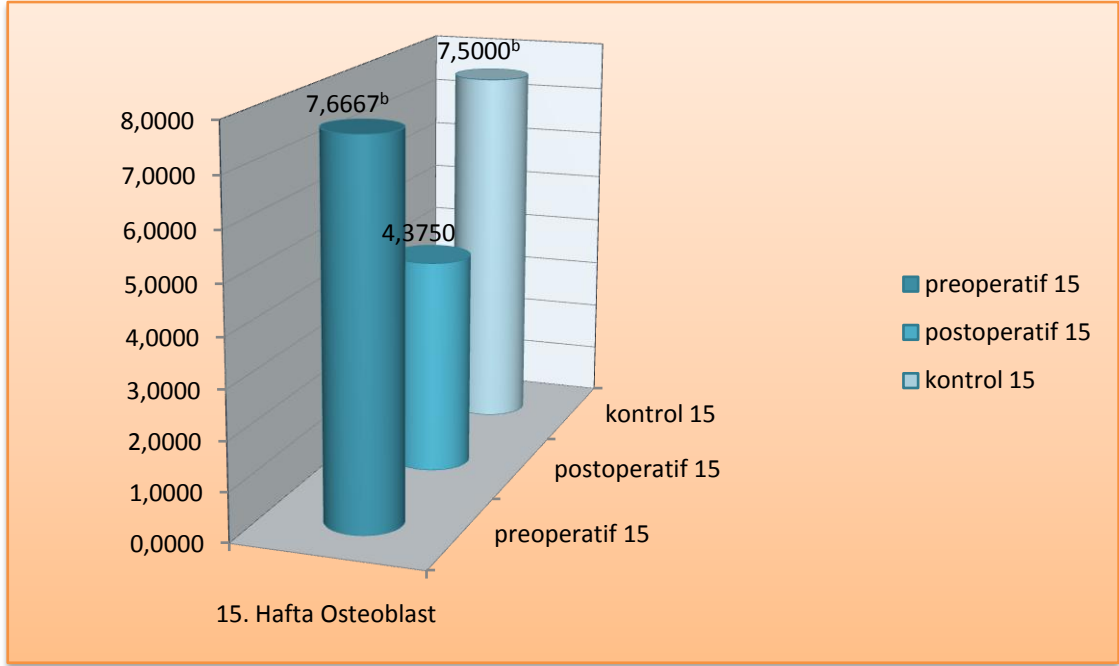
### 6.7.1. Osteoblast

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Anova testine göre osteoblast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.001$ ). Osteoblast'a ait alt gruplar (Preoperatif-15, Postoperatif-15 ile Kontrol grubu) LSD testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında Postoperatif-15 grubu, Preoperatif-15 ( $p=0.001$ ) ve Kontrol-15 ( $p=0.002$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Tablo 50:** Osteoblast'ın ortalama değerleri

<b>Gruplar</b>	<b>n</b>	<b>Ortalama değer</b>
Preoperatif-15	9	7.6667±2.33809
Postoperatif-15	9	4.3750±.91613
Kontrol-15	8	7.5000±1.37840
<b>Toplam</b>	<b>26</b>	<b>6.3000±2.20287</b>

**Şekil 48:** Osteoblast'ın gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



b= postoperatif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

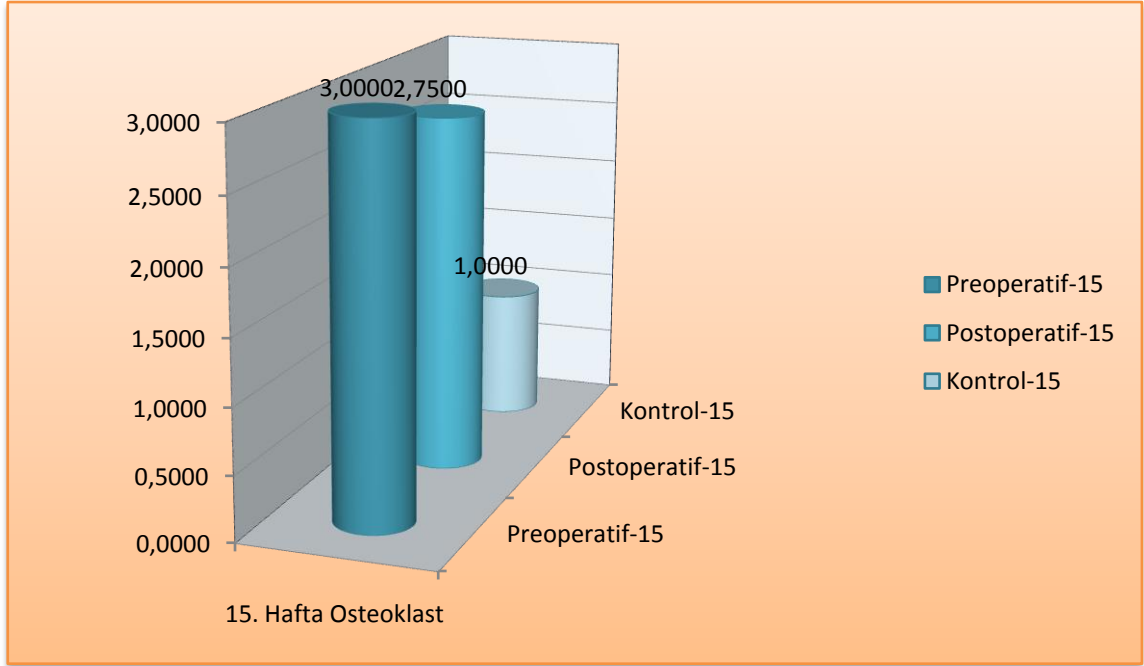
### 6.7.2. Osteoklast

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Anova testine göre osteoklast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 51:** Osteoklast'ın ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	3.0000±2.28035
Postoperatif-15	9	2.7500±1.66905
Kontrol-15	8	1.0000±1.67332
<b>Toplam</b>	<b>26</b>	<b>2.3000±1.97617</b>

**Şekil 49:** Osteoklast'ın gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



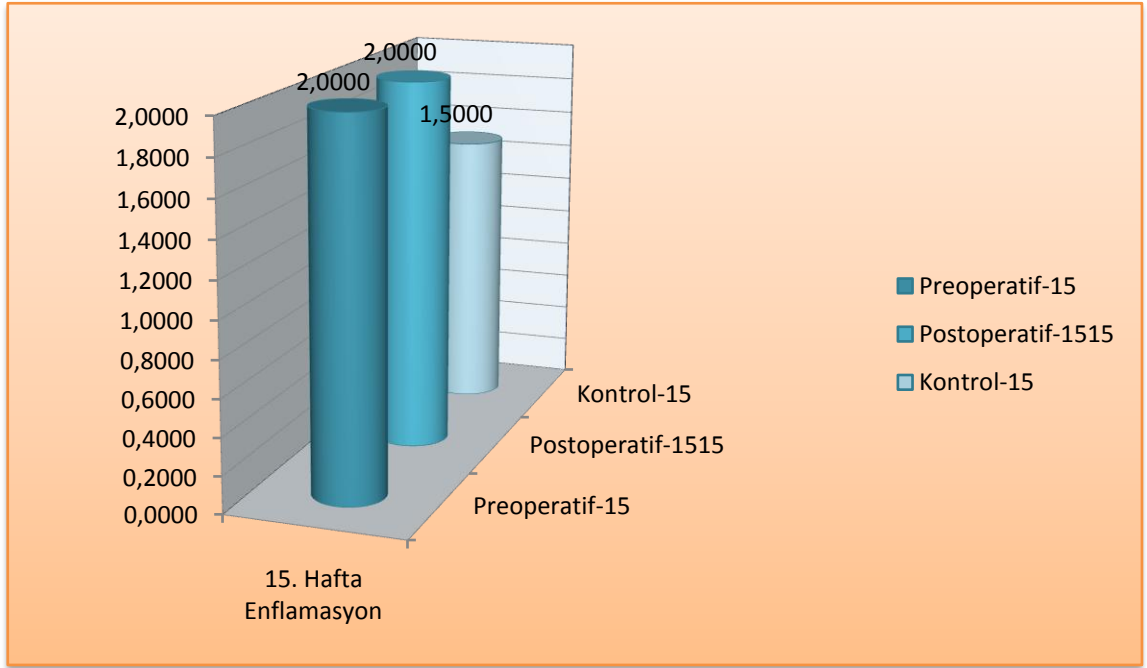
### 6.7.3. Enflamasyon

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre enflamasyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 52:** Enflamasyon'un ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	2.0000±.00000
Postoperatif-15	9	2.0000±.00000
Kontrol-15	8	1.5000±.83666
<b>Toplam</b>	<b>26</b>	<b>1.8500±.48936</b>

**Şekil 50:** Enflamasyon'un gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



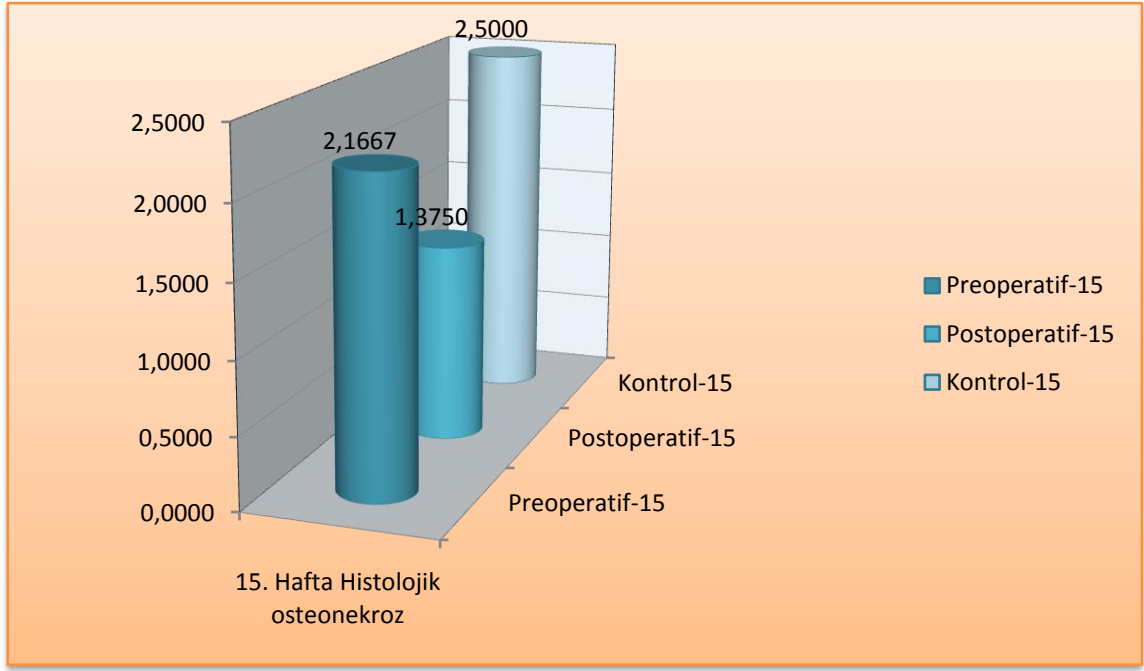
#### 6.7.4. Histolojik osteonekroz

15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre histolojik osteonekroz değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmıştır ( $p=0.007$ ). Histolojik osteonekroz'a ait alt gruplar (Preoperatif-15, Postoperatif-15 ile Kontrol grubu)Duncan testine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında, Postoperatif-15 grubu Kontrol-15 grubuna ( $p=0.034$ ) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Tablo 53:**Histolojik osteonekroz'un ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	2.1667±.98319
Postoperatif-15	9	1.3750±.51755
Kontrol-15	8	2.5000±.54772
<b>Toplam</b>	<b>26</b>	<b>1.9500±.82558</b>

**Şekil 51:** Histolojik osteonekroz'un gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

#### 6.7.5. Makroskopik osteonekroz

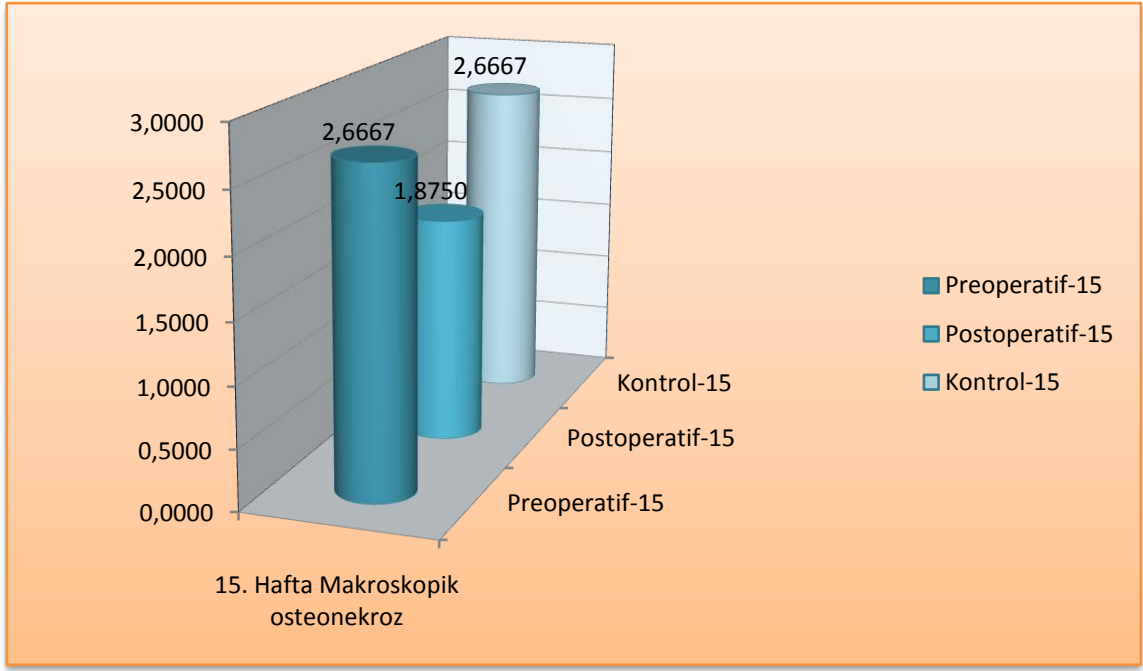
15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre makroskopik osteonekroz değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 54:** Makroskopik osteonekroz'un ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Preoperatif-15	9	2.6667±.51640
Postoperatif-15	9	1.8750±.99103
Kontrol-15	8	2.6667±.51640
<b>Toplam</b>	<b>26</b>	<b>2.3500±.81273</b>

**Şekil 52:** Makroskopik osteonekroz'un gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.





### 6.8. Histopatolojik Parametrelerin İstatiksel Analizleri (17. Hafta)

17. haftaya ait gruplardaki parametrelere (osteoblast, osteoklast, enflamasyon, histolojik osteonekroz ve makroskopik osteonekroz) Shapiro-Wilk testi ile normalite testi uygulandı.

**Tablo55:**Normalite testi/ Shapiro-Wilk

Shapiro-Wilk	
parametreler	p
makroskopikosteonekroz	.006
histolojikosteonekroz	.000
enflamasyon	.001
osteoblast	.341*
osteoklast	.021

\* normal dağılım gösteren parametreler

Bu teste göre normal dağılım gösteren osteoblast parametresine One-way ANOVA testi uygulandı.

**Tablo 56:**osteoblast değerleri

.163
------

One way - ANOVA

\*İstatistiksel olarak anlamlı fark ( $p<0.05$ )

One-way ANOVA testine göre istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır.

Shapiro-Wilk testine göre normal dağılım göstermeyen makroskopik osteonekroz, histolojik osteonekroz, osteoklast ve enflamasyon parametrelerine Kruskal Wallis Testi yapıldı.

**Tablo 57:** Kruskal Wallis Testi

	Makroskopik osteonekroz	Histolojik osteonekroz	Enflamasyon	Osteoklast
p	.011*	.677	.094	.023*

\* istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p<0,05$ )

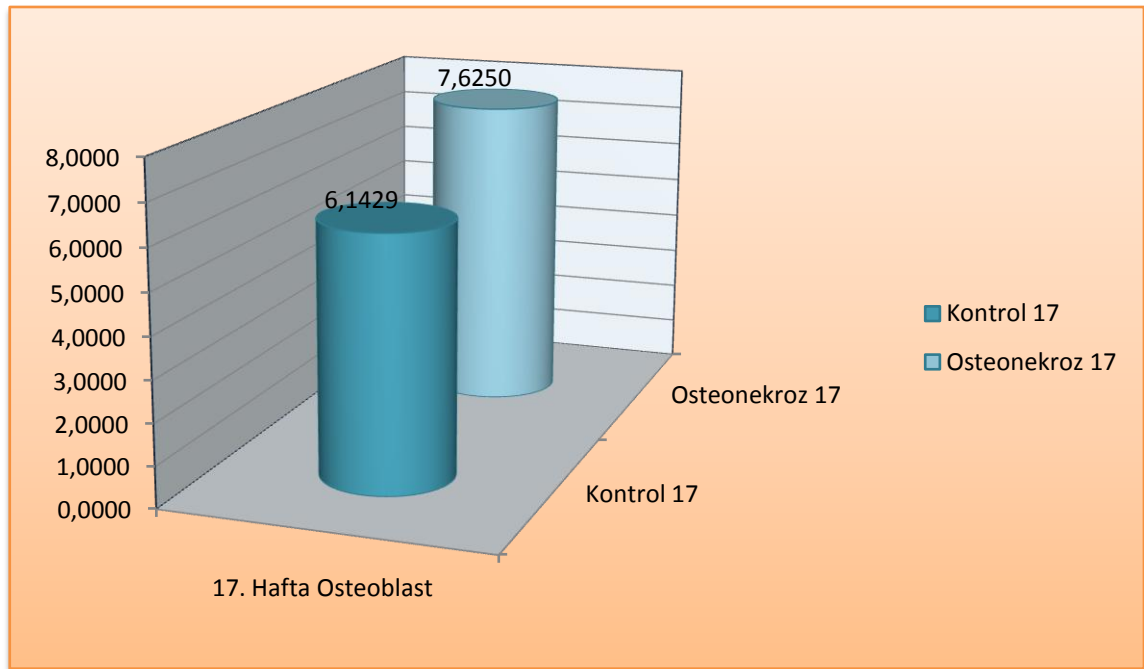
### 6.8.1. Osteoblast

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde One Way Anova testine göre osteoblast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 58:** Osteoblast'ın ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	6.1429±2.03540
Osteonekroz-17	9	7.6250±1.84681
<b>Toplam</b>	<b>17</b>	<b>6.9333±2.01660</b>

**Şekil 53:** Osteoblast'ın gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



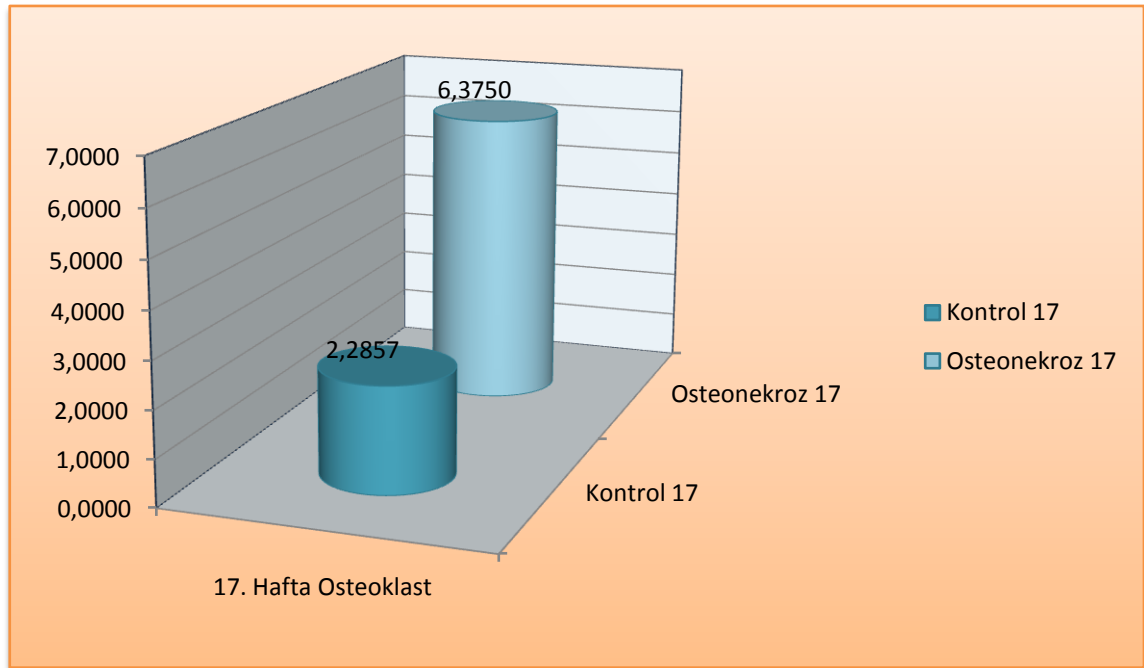
### 6.8.2. Osteoklast

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre Osteonekroz 17 grubu Kontrol-17 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır ( $p=0.023$ ).

**Tablo 59:** Osteoklast'ın ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	2.2857±2.69037
Osteonekroz-17	9	6.3750±4.53360
<b>Toplam</b>	<b>17</b>	<b>4.4667±4.22352</b>

**Şekil 54:** Osteoklast'ın gruplardaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

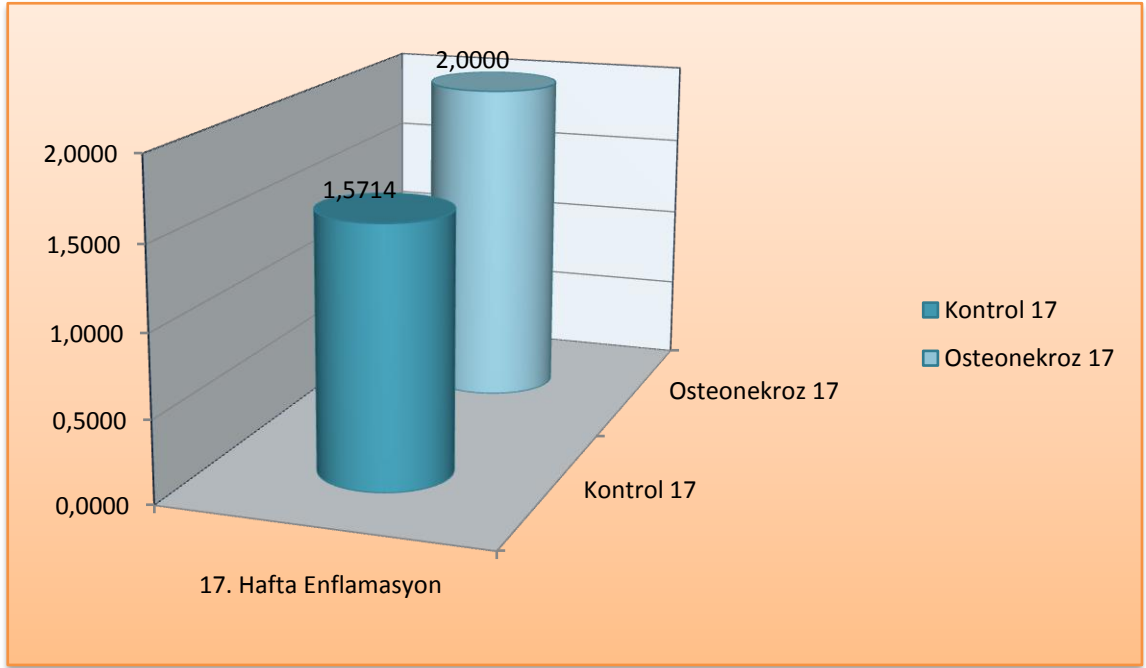
### 6.8.3. Enflamasyon

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre enflamasyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p > 0,05$ )

**Tablo 60:** Enflamasyon'un ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol17	8	1.5714±.78680
Osteonekroz17	9	2.0000±.00000
<b>Toplam</b>	<b>17</b>	<b>1.8000±.56061</b>

**Şekil 55:** Enflamasyon'un gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



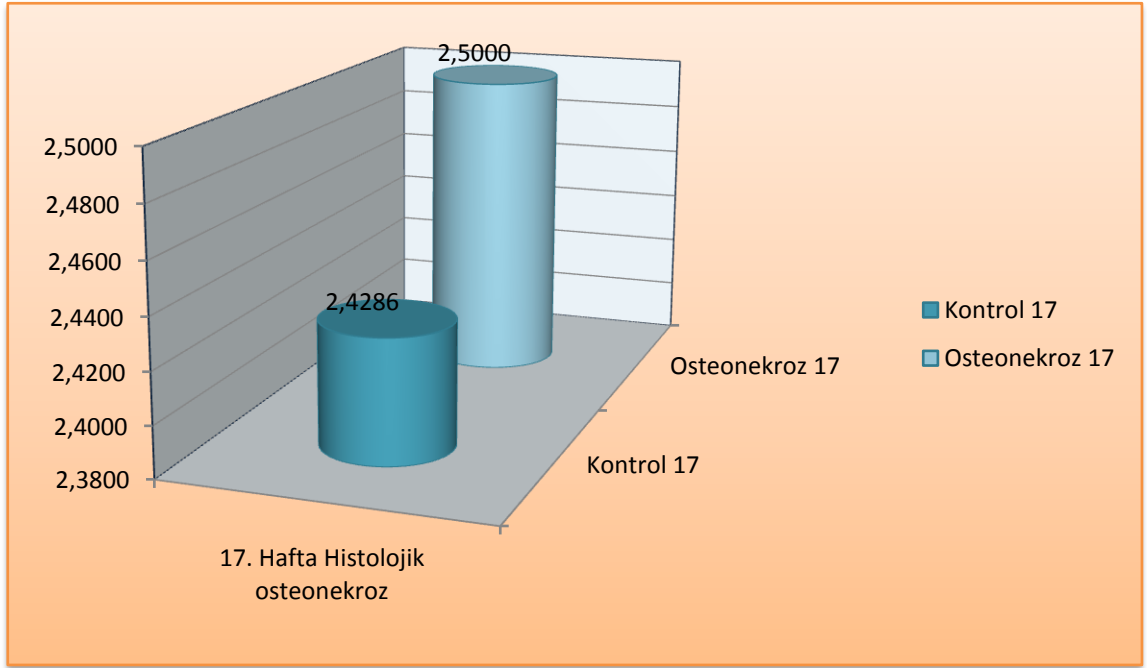
#### 6.8.4. Histolojik osteonekroz

17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine göre histolojik osteonekroz değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ )

**Tablo 61:** Histolojik osteonekroz'un ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	2.4286±.78680
Osteonekroz-17	9	2.5000±.92582
<b>Toplam</b>	<b>17</b>	<b>2.4667±.83381</b>

**Şekil 56:** Histolojik osteonekroz'un gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



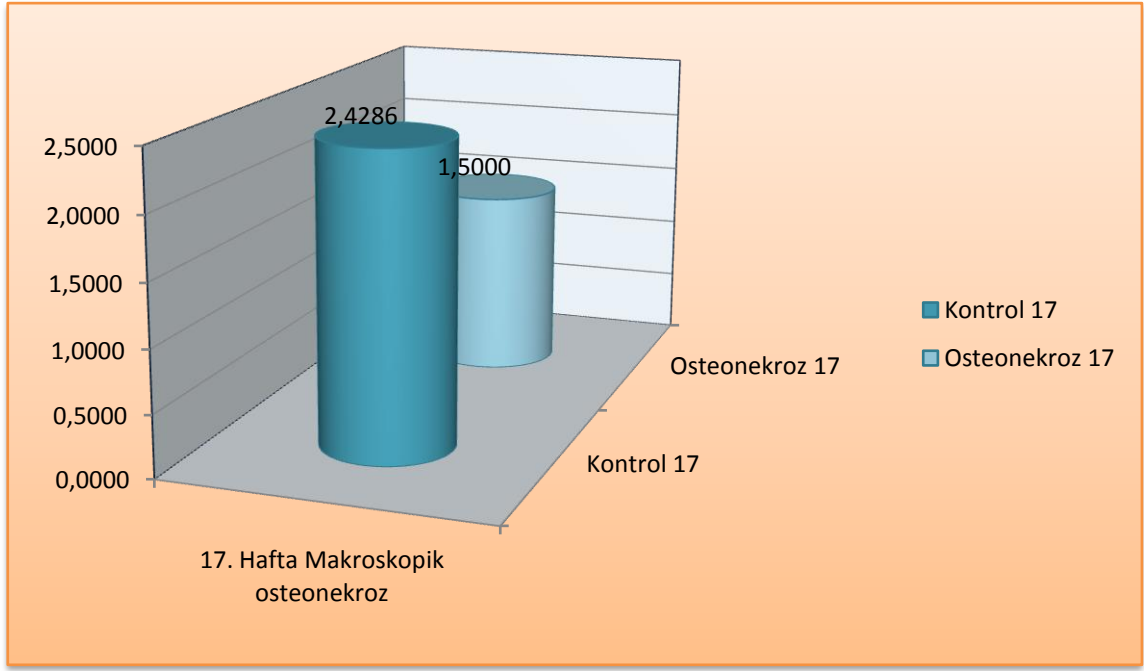
#### 6.8.5. Makroskopik osteonekroz

17. haftada sakrifiye edilen gruplar içerisinde Kruskal Wallis testine Kontrol-17 grubu Osteonekroz-17 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır ( $p=0,011$ ).

**Tablo 62:** Makroskopik osteonekroz'un ortalama değerleri

Gruplar	n	Ortalama değer
Kontrol-17	8	2.4286±.53452
Osteonekroz-17	9	1.5000±.53452
<b>Toplam</b>	<b>17</b>	<b>1.9333±.70373</b>

**Şekil 57:** Makroskopik osteonekroz'un gruptaki ortalama değerlerinin grafik üzerindeki görünümü.



x= Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

## 7.TARTIŞMA VE SONUÇ

Bifosfonatlar inorganik pirofosfatların sentetik analoglarıdır ve antiresorptif ilaçlar olarak yaklaşık 30 yıldır kullanılmaktadırlar. Bu ilaçlar kemik yüzeyine bağlanıp osteoklastlar tarafından emildikten sonra, bu hücrelerin rezorpsiyon ve yaşam süreçlerini değiştirirler(8, 93, 307).

Bifosfonatların önemli yan etkileri 2003 yılına kadar bazı araştırmacıların (11, 183, 308, 309) BRONJ olarak adlandırdıkları atipik kemik nekrozunu bildirene kadar sadece oral kullanıma bağlı gastrointestinal intolerans ve i.v kullanıma bağlı grip benzeri sendromlar(10) olarak biliniyordu.

Bifosfonatların çenelerde görülen osteonekroz ile olan ilişkisi ilk defa 2003 yılında Marx tarafından rapor edilmiştir (11). Bu ilaçlara bağlı ciddi komplikasyonlar sıklıkla i.v zoledronate (zometa) veya pamidronate (aredia) kullanımına bağlı olarak oluşmaktadır(1, 10). Bunun yanında osteonekroz vakaları uzun süreli oral alendronate kullananlarda olduğu rapor edilmiştir(10, 12).

BRONJ'un tedavisi hem zor hem de halen tartışmalıdır. Şu anki fikir birliği primer olarak antibiyotik, analjezik, klorheksidinli ağız gargarası, iyi oral hijyen ve yüzeysel debritlemdir(1, 18). Ancak tedaviye rağmen varlığını sürdürebilmekte hatta ilerleyerek ciddi kemik nekrozlarına sebep olabilmektedir. Bazı yazarlar hiperbarik oksijen tedavisi ile başarılı bir şekilde tedavi edilmiş vakalar olduğunu bildirmekle beraber(19, 20), bir kısım araştırmacılar ise bu tedavi alternatifinin düşük başarı oranına sahip olduğunu söylemektedirler(21, 22). İlerlemiş ve semptomatik mandibular osteonekroz vakalarında ise kemik rezeksiyonunu takiben immediate rijit plakla rekonstrüksiyon ve yumuşak doku grefti gerekmektedir(23, 24).

Serum kalsiyum değerleri, bisfosfonat tedavisine bağlı kemik erimesinin akut bastırılması nedeniyle yavaş bir şekilde azalmaktadır(310). Bu etki tedavinin ilk ayında meydana gelmekte ve paratiroid hormonun artışıyla birlikte seyretmektedir. Serum kalsiyum seviyesindeki düşüş, yeterli seviyede kalsiyum ve vitamin D'ye sahip hastalarda görülmemekle beraber, klinik olarak hipokalsemi vitamin D eksikliği ve hipoparatiroidizmi olan hastalarda gözlenmektedir(192, 311).



Hokugo ve ark. (299) vitamin D eksikliği oluşturarak yaptıkları hayvan çalışmasında; ratları VitD(-)/ZOL, ZOL, VitD(-) ve Kontrol olmak üzere 4 gruba ayırmışlar ve bu gruplardaki osteonekroz insidansına bakmışlardır. Sonuçlara göre BRONJ;VitD(-)/ZOL grubunda %66,7, ZOL grubunda %14,3 oranında oluşmakla birlikte diğer gruplarda (kontrol ve vitD(-)) hiç oluşmamıştır. Bu sonuçlara göre i.v zoledronik asit kullanan hastalarda Vitamin D eksikliği ile BRONJ arasında yüksek oranda bir ilişki olduğunu iddia etmişlerdir. Bu ilişki, vitamin D eksikliğin özelliikle zoledronik kullanan hastalarda BRONJ oluşumunda primer bir etken olduğunu gösterebilir.

Altundağ ve ark. (312) ileri sürdükleri hipotezde; vitamin D'nin kemik iliği stromal hücrelerinde RANKL ekspresyonunu arttırarak osteoklast oluşumunu uyardığını, lokal kalsiyumun ise tümör büyümesini ve paratiroid hormon ile ilişkili peptid üretimini teşvik ettiğini ve bununda kemik rezorpsiyonunu uyardığını belirtmişlerdir. Bisfosfonat kullanımı sırasında, kemik metastazlı hastalarda hipokalsemiye ilişkin yan etkilerin ortadan kaldırılması amacıyla verilen Vitamin D ve kalsiyum takviyesinin, kemik rezorpsiyonun artırabileceğini ve bifosfonatların etkinliğini azaltabileceğini vurgulamışlardır.

Mastaglia ve ark. (313) 2006 yılında yapmış oldukları çalışmada vitamin D seviyesinin bifosfonatların antikatobolik özellikleri üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar overektomize (OVX) yaptıkları ratları üç çalışmada birde kontrol olmak üzere toplam 4 gruba ayırmışlardır. Grup 1(kontrol grup): 105 gün vitamin D (200 İU) ve son 45 gün plasebo verilmiş. Grup 2 (+D ): OVX yapılan ratlara 105 gün vitamin D (200 İU) ve son 45 gün plasebo verilmiş. Grup 3 (+D/OPD): OVX yapılan ratlara 105 gün vitamin D (200 İU) ve son 45 gün 160µg/kg olpandronat (OPD) verilmiş. Grup 4 (-D/OPD): OVX yapılan ratlara 15 gün vitamin D (200 İU) verilmiş sonraki 90 gün verilmemiş, son 45 gün 160µg/kg OPD verilmiş. Sonuç olarak kalsiyum, fosfor, BALP ve CTX değerlerinde istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark çıkmazken, vitamin D yetersizliği olan grupta lumbar spin ve proksimal tibiadan alınan örneklerde kemik kütlelerinin ve hacminin daha düşük olduğunu bulmuşlardır.

Yukarıda belirtilen araştırmalardan vitamin D eksikliğin hem BRONJ oluşma riskini artırabileceği hemde kemik kütlelerini negatif yönde etkileyebileceği anlaşılmaktadır. Ayrıca yazarlar vitamin D'nin osteoklast oluşumunu uyarabileceği, kemik

rezorpsiyonun artırabileceğini ve bifosfonatlar etkinliğini azaltabileceğini vurgulamışlardır.

Bilindiği gibi bifosfonat kullanan hastalarda diş çekimi veya herhangi bir oral cerrahi işlemi çoğu zaman kontrendike olmakta, bu işlemlerin yapılabilmesi için hem bifosfonat kullanımının kesilmesi gerekmekte hem de belirli bir süre beklenmesi gerekmektedir. Aksi takdirde çekim bölgesinde veya operasyon bölgesinde bir BRONJ oluşma riski öngörülmektedir. Bifosfonatların kesilmesi ise özellikle kemik metastazları için bu ilaçları kullanan malignitesi olan hastalardadaha riskli durumların oluşmasına sebep olabilmektedir. Bu yüzden özellikle kemik metastazlarının önlenmesi amacıyla bifosfonat kullanan hastalarda ilgili ilacın kesilmeden dişlerin çekilebilmesiveya oral cerrahi işlemlerin yapılabilmesi oldukça önem arz etmektedir. Son dönemlerde yapılan çalışmalarda bu konunun üzerine eğilmeye başlanmış ve bifosfonatların kesilmeden cerrahi işlemin yapılabilceği tedavi alternatifleri üzerinde durulmaya başlanmıştır.

Bu literatür bilgileri ışığında, yapmış olduğumuz bu çalışmamızda 1,25(OH)2D3'ün (vitamin D3) osteonekroz oluşmasının önlenmesi ve ortadan kaldırılması üzerine olan etkinliği rat modelinde araştırılmıştır. Zoledronik asit ve dekzametazon verilen ratlarda diş çekimi öncesi, diş çekimi sonrası ve osteonekroz oluşuktan sonra vitamin D3 verilerek, vitamin D3'ün diş çekimi öncesi ve sonrasında osteonekroz oluşumunu ne kadar önleyebildiği ve osteonekroz oluşumdan sonra bu nekrotik alanı ne kadar iyileştirdiği biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılmıştır. Bu amaçla daha önce yapılmış bir çalışma olmadığından, ratlara verilecek olan vitamin D'nin dozu insanlarda kullanılan doza eşdeğer olarak hesaplanmış ve kilogram başına 0.25mcg olacak şekilde subkutan olarak kullanılması uygun görülmüştür.

Seçilecek deney hayvanının yapılacak olan çalışmaya uygun olması gerekmektedir. Literatürlere bakıldığı zaman, çenelerde bifosfonata bağlı osteonekroz oluşturabilmek için yapılan hayvan çalışmalarında; av köpeği (tazı) (Burr ve ark.(314), Matthew ve ark.(315)), domuz (Pautke ve ark.(316)), dişi fare (Kikuri ve ark.(317)), (Giuliani ve ark.(318)), erkek fare (Kang ve ark.(319)) ve erkek Sprague-Dawley rat (Abtahi ve ark.(320), Hokugo ve ark.(299)), dişi Sprague-Dawley rat (Aguirre ve ark.(307)), dişi Norveç ratı (Maahs ve ark.(321)), erkek Norveç ratı (Conte Neto ve ark.(322)), bataklık pirinç ratı (Aguirre ve ark.(323)) erkek Wistar Albino (Erdem ve ark.(324)), (Cankaya vd.,(325)), (Tsurushima ve ark.(326)) ve dişi Wistar Albino (Biasotto ve ark.(327))

kullanılmıştır. Ayrıca denek hayvanlarından domuz , köpek ve ratların immünesitesi ile insan immünesitesine çok benzerlik göstermektedir . Etik olarak ülkemizde köpekler üzerinde son yıllarda çalışma yapılmamaktadır . Domuzların ise hem bakımı hem de opere edilmesi zordur. Çalışmamız denek tedarikinin daha kolay olması, diğer deneklere göre daha sağlam karakterde olmaları ve yanı sıra barındırılmalarının ve beslenmelerinin kolay ve ucuz olmasından dolayı Wistar Albino ratlar üzerinde yapılmıştır.

Hernekadar, bifosfonat kullanımına bağlı olarak meydana gelen osteonekroz kendiliğinden ortaya çıkan bir durum olsa dahi, hayvanlarda tam olarak oturmuş bir osteonekroz oluşturma protokolü mevcut değildir.

Burr ve ark.(314) yaptıkları çalışmada 84 adet ortalama 1 buçuk yaşında dişi av köpeği kullanmışlar ve oral dozlarda alendronat sodyum ( 0.2 ve 1 mg/kg/gün) ile 1 ve 3 yıl boyunca ayrı gruplara, zoledronik asiti (0,06 mg/kg/gün) 6 ay boyunca uygulamışlar. 1 yıllık ve 3 yıllık takipleri yapılan hayvanlardan 1 yıl süreyle tedavi 0.20 mg/kg/gün dozda alendronat tatbik edilen grupta %25 oranında, 3 yıl süreyle tedavi 1 mg/kg/gün dozda alendronat tatbik edilen grupta ise %33 oranında osteonekroz meydana geldiği tespit edilmiştir. Zoledronik asit verilen grupta ise daha yüksek oranda osteonekroz meydana geldiğini ve bu osteonekroz modelinin, diş çekimi yapılmaksızın gerçekleştirildiği bildirilmişlerdir. Matthew ve ark.(315) 2013 yılında yine av köpekleri üzerinde yapmış oldukları farklı bir çalışmada hayvanlar iki haftalık alıştırma sürecinden sonra, kontrol, zoledronik asit (ZOL), deksametazon (DEX) veya ZOL+DEX gruplarına ayrılmıştır. ZOL insanlardaki 4mg/kg kanser tedavisi dozuna denk gelen 0,06 mg/kg dozunda bir ilaç dozunu maksimum hale getirmek i.v infüzyon şeklinde 2 haftada verilmiştir. İntravenöz uygulama (15 dakika boyunca 40 mL toplam hacim) bacadaki venden iğne kateter kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DEX tedavisi oral doz (5 mg/ gün) olacak şekilde her ayın ilk 7 günü boyunca verilmiştir. ZOL ilk dozundan sonraki 8. ayda sağ premolar, bir ay sonrada (9.ay) sol premolar çekilmiştir. Araştırmacılar bu uygulama ile iki ayrı çekim sonrası tedavi farklılıklarını araştırmamıza olanak verdiğini söylemektedirler. Tüm hayvanlara (5 mg / kg intravenöz) kalsein peş peşe iki gün uygulanmış ve 12 gün aradan sonra işlem tekrarlanmıştır. Bu işlemden 5 gün sonra hayvanlara intravenous sodyum pentobarbital verilerek ötenazi işlemi gerçekleştirilmişlerdir. Araştırmacılar hiç bir hayvanın çekim soketinde expose kemik ile karşılaşmadıklarını rapor etmişlerdir. Pautke ve ark.(316)domuzları kullanarak

yaptıkları protokolda hayvanlar rastgele iki gruba ayrılmış. 1. gruptakilere (n=5) haftalık bifosfonat solüsyonu (2 mg zoledronate saline çözeltisi içerisinde ve 30 dakika süre boyunca kulaktaki venden uygulandı, 0.05 mg zoledronate/kg vücut ağırlığına denk gelecek şekilde) genel anestezi altında verilmiştir. Anestezi intramüsküler ketamin (8 mg/kg) ve midazolam (1 mg/kg) enjeksiyonu ile yapılmıştır. 2 grup ise (n=5), aynı şartlar altında, zoledronate içermeyen saline solüsyonu verilmiştir. Diş çekimi 6 hafta sonra yapılmış ve infüzyona on hafta boyunca devam edilmiştir. Deneyin son dört günü boyunca, tüm hayvanlara kemik flüoresansı inceleyebilmek için günlük 100 mg doksisisiklin oral doz verilmiştir. 16 hafta sonra, tüm hayvanlar potasyum klorid ve ardından pentobarbital intravenöz enjeksiyonu ile sakrifiye edilmişlerdir. Bu çalışmada yazarlar makroskopik olarak çalışma grubundaki bütün hayvanlarda kötü yara iyileşmesi ve skor 3 düzeyinde ekspozite kemik olduğunu söylemektedir. Radyolojik olarak 30 çekim bölgesin 20 sinde osteolitik alan tespit etmişler. Histolojik olarak ise 30 bölgenin 29 unda bronj tespit etmişlerdir. Kikuri ve ark.(317) yılında fareler üzerinde osteonekroz oluşturduklarını rapor ettikleri çalışmalarında 8-10 haftalık fareleri kullanmışlardır. Farelere haftada iki kez zoledronik asit 125mg/kg ve 5 mg/kg dexamethasone kuyruk venlerinden verilmiştir. I.venjeksiyondan bir hafta sonra hayvanların maksillar 1. molarları intra peritoneal ketamine 35 mg/kg ve xylazine 5 mg/kg anestezisi altında çekilmiştir. Çekimden sonraki 2. ve 7. haftalarda maksillalar en blok olarak alınmıştır. Bu çalışmada otorler çekimden sonraki 2. haftada sakrifiye edilen ve hem zoledronik asit hem de deksamethasone verilen gruptaki farelerde %50 oranında ekspozite kemik tespit edildiğini bildirmişlerdir. Kang ve ark. (319), otuz beş adet 4 aylık erkek farelere periapikal lezyon indüksiyonundan 1 hafta önce intraperitoneal (i.p) veh enjeksiyonu (endotoksin içermeyen su) veya 200 ug/kg zoledronik asit (ZA) haftada üç kez verilmiş. Yazar, insanlarda BRONJ insidansının doza bağımlı olmasından dolayı hayvanlarda BRONJ'nin insidansını artırmak için yüksek doz kullanmayı seçmiş olduklarını iddia etmiştir. Fareler izofluran ile anestezi edildikten sonra bir çene retraksiyon boardı üzerine yerleştirildi. Sol birinci ve ikinci mandibular molar dişlerin pulpası 1/4 rond frez kullanılarak furkal perforasyondan kaçınılarak açığa çıkarılmış. Ekspozite diş ağız ortamına açık bırakılmıştır. Veh veya ZA i.p.enjeksiyonu haftada üç kez 200 ug / kg olacak şekilde 7 hafta boyunca devam etmiştir. İnsanlarda uygulanan prosedüre uyması için 8 hafta boyunca haftada üç kez hayvanlara enjeksiyon yapılmış. Bu nedenle, hayvan toplamda 24 ZA enjeksiyonu ile, kanser hastasının 2 yıllık tedavisine denk gelen i.v zoledronik asit dozunu almıştır. Deneyin sonunda sakrifiye

edilmiş bifosfonat verilmiş hayvanların % 88'inde osteonekroz alanı meydana gelmiş ve bunlardan sadece %33'ünde bronj olduğu rapor edilmiştir. Osteonekroz modeli için dişi Norveç kullandığını belirten Maahs ve ark. (321), ratları rastgele 3 gruba ayırmışlardır. 1. alendronat grubu: 11 hayvana alendronate gavaj ile 23 hafta boyunca, 0.05 mg/kg dozda oral olarak verilmiş ve diş çekimine tabi tutulmuştur. 2. zoledronik asit grubu: 10 hayvana 28 gün aralıklarla intraperitoneal olarak 5 doz 0.6 mg/kg zoledronik asit intraperitoneal olarak verilmiş ve daha sonra diş çekimi tabi tutulmuştur. 3. kontrol grubu: Bisfosfonat verilmemiş 10 hayvan diş çekimi tabi tutulmuştur. Diş çekimi derin anestezi altında, deneyin başlamasından 45 gün sonra yapılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre yazarlar, zolderonik asit verilen grupta %80 oranında osteonekroz oluştuğunu, diğer iki grupta ise (alendronat ve kontrol) hiç oluşmadığını gözlemlemişlerdir. Conte Neto ve ark. (322); 200 g ağırlığında, 8 haftalık 20 erkek Norveç ratı kullanmış oldukları çalışmalarında otörler 3 günlük alıştırma periyodundan sonra hayvanlar rasgele iki deneysel gruba ayırmışlardır. Bir gruptaki (n=10) hayvanlara günlük subkutan olarak alendronat (1 mg/kg) dozlarında verildikten 60 gün sonra, tüm hayvanların genel anestezi altında, alt ilk molar dişleri çekilmiştir. Cerrahi prosedürden sonra tüm hayvanlara, kas içi antibiyotik (0.1 mg/kg) ve antienflamatuar Ketoflex (% 1.0, 0.03 ml/rat) verilmiştir. Hayvanlara diş çekiminden 28 gün sonra, aşırı dozda anestezi ile ötenazi yapılmıştır. Bu çalışmada yazarlar tam olarak oran vermemekle birlikte alendronat grubunda yüksek oranda osteonekroz oluştuğunu söylemektedirler. Aguirre ve ark. (307) çalışmalarında on yedi adet 10 haftalık dişi Sprague-Dawley fareleri kullanmış ve ratlara s.c fosfat tamponlu saline veya ALN (alendronat) iki farklı dozunu (15 ya da 150 µg/kg)haftada iki kere enjekte etmişlerdir. Tedavilere diş çekiminden 3 hafta önce başlatılmış ve çekim sonrası 10 gün devam etmiştir. Bütün sıçanlar ketamine ve ksilizin anestezisi altında karın aortundan kanları tümüyle alınarak sakrifiye edilmiştir. Yine bu çalışmada da otörler % kaç oranında osteonekroz meydana geldiğini bildirmemiş olmalarına rağmen genel olarak osteonekroz oluşumunu rapor etmişlerdir. Hokugo ve ark. (299) D vitamini eksikliği oluşturmak için, 6- 8 haftalık Sprague-Dawley ratları, D vitamini içermeyen diyet (0.47% kalsiyum, 0.3% fosfor) ile beslemişlerdir ve 12-saat aydınlık / karanlık döngüsünde bırakmışlardır. Hayvanlarda floresan ışığında ultraviyole (290-305 nm) D vitamini sentezi saptanmamıştır. Çalışma gruplarına 0.9% NaCl içinde 35 mg/kg zoledronik asit i.v verilmiştir. Tedavinin başlangıcından 3 hafta sonra bütün hayvanların maksiller sol molar diş çekilmiş fakat antibiyotik verilmemiştir. Gruplar 1, 2, 4 ve 8. haftalarda kontrol edilmiş ve bu

haftalarda sakrifiye edilmişlerdir. Specimenler %10 formalinde bekletilmiş ve fikse dokulardan daha sonra mikro CT alınmıştır. Specimenler EDTA’da dekalsifiye edilip parafine gömülmüştür. Araştırmacılar histolojik olarak BRONJ oluşumunun 4 hafta sonra görüldüğünü rapor etmişlerdir. Sonuçlara göre BRONJ vitamin D(-)/ZOL grubunda % 66.7, ZOL grubunda %14.3 görülmekle birlikte diğer gruplarda (kontrol ve vitD(-) hiç görülmüştür. Cankaya ve ark. (325) 2011’de yapmış oldukları çalışmalarında yaklaşık 5 haftalık 110-120 g ağırlığındaki seksen erkek Wistar Albino rat kullanmış ve denekler bifosfonat (n=40) ve kontrol grubu(n=40) olarak ikiye ayrılmıştır. Çalışma grubundaki bütün hayvanlara 0, 7, 14. günlerde subkutan olarak 1 mg/kg dexamethasone (DX) ve 7.5 µg/kg zoledronik asit (ZA) verilmiştir. Son enjeksiyondan bir sonraki gün genel anestezi altında bütün gruplardaki hayvanları yarısının sol mandibular molar dişleri çekilmiş ve bütün hayvanlar diş çekiminden 28 gün sonra sakrifiye edilmiş. Sonuç olarak çalışma grubunda %60 oranında kontrol grubunda ise %31.6 oranında nekroz tespit edilmiştir. Biasotto ve ark. (327) 2010 yılında yaptıkları çalışmalarında yaklaşık 450 gr. ağırlığında dişi Wistar ratlar kullanılmıştır. İşlem öncesi ratlar  $20 \pm 0.5$  C sıcaklıkta,  $55 \pm 10\%$  nem oranında ve standart laboratuvar besin koşullarında bekletilmiştir. Beş adet rata saline solusyonunda (0.04 mg) i.v olarak zoledronik asit (0.2 mg/ml) 5 hafta boyunca haftada bir verilmiş olup ilaç tedavisinden 2 hafta sonra üst sağ 1. molar dişleri çekilmiş ve 4 mm’lik defekt oluşturulmuştur. Çekimden 7 hafta sonra ratlar sintigrafik ve tomografik üç boyutlu görüntüler elde edilmiş olup denekler bir hafta sonra ratlar sakrifiye edilmiştir. Araştırmacılar deneklerin %100’ünde osteonekroz geliştiğini bildirmişlerdir. Tsurushima ve ark. (326) yaptıkları faklı bir çalışmada ise; 12 adet, 8 haftalık, erkek Wistar rat kullanmış. Hayvanlar iki gruba bölünmüş ve ilk gruba haftada bir kez 4 hafta boyunca 0.1 mg zoledronik asit ikinci gruba ise aynı şekilde saline solüsyonu verilmiştir. Son enjeksiyondan bir hafta sonra bütün gruplar üç alt gruba ayrılmış olup ilk gruba dondurulmuş kurutulmuş “Aggregatibacter actinomycetemcomitans” bilateral mandibula ve femurda kemik iliğine verilmiştir. İkinci gruba “complete Freund’s adjuvant” (CFA) aynı protokolda verilmiş. Üçüncü gruba ise aynı protokolda saline verilmiştir. Bu işlemlerden 4 hafta sonra bütün hayvanlar sakrifiye edilmiş ve çift taraflı mandibulaları ve femurları alınıp % 10 luk formalinde fikse edilmiştir. Bu çalışmada yazarlar osteonekroz alanlarını karşılaştırmışlar ve zoledronik asit+Aa ve zoledronik asit+CFA gruplarındaki osteonekroz alanlarının diğer gruplara oranla çok daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Abtahi ve ark.(320)10 haftalık, 364-420 gr, erkek Sprague-

Dawley sıçanları bu çalışmalarında kullanılmıştır. Otuz rat rastgele üç gruba bölünmüş ve tüm ratların sol maksiller birinci molar dişleri tedavilerden sonra çekilmiştir. (1) grup I (kontrol): diş çekimi+ hiçbir ilaç tedavisi yok, (2) grup II: diş çekimi, alendronat (200 mg/kg) deri altına günde bir kez, 14 gün boyunca ve cerrahi işlemin yapıldığı gün başlanmış, günde bir kez deri altından ameliyattan önceki 2 gün önce başlayarak dört ardışık gün deksametazon (0.5 mg/kg) başlayarak, (3) Grup III: diş çekimi+ mukoperiosteal flep, yukarıdaki gibi, alendronat + deksametazon. Bütün hayvanlar 1, 2, 3. haftalarda anestezi altında gözden geçirilmiş. Hayvan acısını azaltmak için, BRONJ benzeri lezyonları olanlar 2 hafta sonra, karbon dioksit ile sakrifiye edilmiştir. Diğerleri hiçbir yaranın gelişmediğinden emin olmak için, 3 hafta kadar daha bekletilmiştir. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar, 1. ve 3. grupta herhangi bir değişiklik gözlenmezken 2. gruptaki bütün hayvanlarda osteonekroz benzeri lezyonlar gelişmiş olduğu rapor etmişlerdir.

Hayvan modellerinde BRONJ benzeri lezyonların oluşturulması için zoledronik asitin dozu, uygulama şekli ve süresi de net değildir. Bununla beraber literatürde bu konuyla ilgili araştırılmış birçok doz ve uygulama alternatifi bulunmaktadır(299, 314-317, 319, 321, 325-327).

Bu araştırmalardaki zoledronik asitin uygulama dozunu, şeklini ve süresini inceleyecek olursak; Burr ve ark. oluşturdukları hayvan modelinde i.v zoledronik asit (0,06 mg/kg/gün) 6 ay boyunca uygulamışlar, Matthew ve ark. (315) av köpekleri üzerinde yapmış oldukları farklı bir çalışmada, i.v olarak iki haftada bir uygulanan toplam 16 doz 0,06 mg/kg zoledronik asitin ve deksametazonun (5 mg/ gün, 7,8,9. ayların ilk 7 günü) osteonekrozla olan ilişkisini araştırmışlardır, Pautke ve ark. haftalık olarak 0.05 mg /kg zoledronatı i.v olarak 6 hafta boyunca uygulamışlar, Kikuri ve ark. haftada iki kez zoledronik asit 125mg/kg ve 5 mg/kg dexamethasone kuyruk venlerinden i.v olarak toplam 16 doz uygulamış, Kang ve ark. i.p olarak haftada üç kez 200 ug / kg olacak şekilde 8 hafta boyunca, Maahs ve ark. 28 gün aralıklarla 5 doz 0.6 mg/kg zoledronik asit intraperitoneal olarak vermiş, Hokugo ve ark. (0.9% NaCl içinde 35 mg/kg) zoledronik asit i.v olarak toplam 6 doz olacak şekilde iki haftada bir vermişler, Çankaya ve ark. çalışma grubundaki bütün hayvanlara 0, 7, 14. günlerde subkutan olarak 1 mg/kg dexamethasone (DX) ve 7.5 µg/kg zoledronik asit (ZA) vermişler, Biasotto ve ark. saline solusyonunda (0.04 mg) i.v olarak zoledronik asit (0.2 mg/ml) 5 hafta boyunca

haftada bir verilmiş ve Tsurushima ve ark. haftada bir kez 4 hafta boyunca 0.1 mg s.c zoledronik asit uygulamışlardır.

Çalışmamızda Biasotto ve ark. (327)2010 yılında sunmuş oldukları ve hem histolojik olarak hemde radyolojik olarak %100 nekroz oluşturduklarını iddia ettikleri osteonekroz modeli temel alınarak yapılmıştır. Ancak çalışmamız esnasında ratlara i.v. ilaç tatbik edilmesinin güçlüğünden dolayı ilaçlar intraperitonel olarak verilmiştir. İlaçlar i.v olarak verilemediğinden dolayı bölgede osteonekroz oluşturabilmek için daha uzun süre 0,4 mg/kg/hafta (7 hafta) zoledronik asit verilmiş ayrıca ratlara çekim öncesi 3 hafta boyunca haftada bir kez 1 mg/kg dozda deksametazon enjekte edilmiştir. 7. hafta sonunda deneklerin diş çekimleri gerçekleştirilmiştir. Her nekadardır 10. hafta sonunda sakrifiye edilen kontrol grubundaki ratlarda (Kontrol-10) görsel olarak genel olarak skor (+) (< 3mm) skorlamasına sahip bir görünüm vermesine rağmen histolojik olarak incelendiğinde genellikle (2-3) skorları görülmekteydi. Kontrol-15 ile Kontrol-17 gruplarında ise tüm ratlarda hem makroskopik olarak hem de histolojik olarak ileri derece de osteonekroz alanının varlığı tespit edilmiştir.

İntravenöz bisfosfonatlar, litik kemik metastazları, multiple myelom ve malignsekonder hiperkalsemi tedavisinde antineoplastik kemoterapi ile birlikte kullanılırlar (328-333). İkiz olarak bisfosfonatlar olarak bilinen son kuşak bisfosfonatlar, en güçlü bileşiklerdir ve bunların içersinde en güçlü olanı ise zoledronik asittir. 2003 yılından buğüne, BRONJ ve BPs'in intravenöz uygulaması arasındaki ilişkiyi açıklayan vakalar giderek artan sayıda literatürde yayınlanmıştır(11, 332-334).Ayrıca BRONJ en fazla (%6-10)zoledronik asit gibi N-BPs'in yüksek dozlarda i.v kullanımına bağlı olarak meydana geldiği ileri sürülmüştür(10, 11, 14, 180, 183, 309).

Bifosfonata bağlı osteonekroz başka bir etken olmadan kendiliğinden oluşabilse, epidemiyolojik çalışmalarda belirtilen yaygın olarak iki risk faktörü diş çekimi ve deksametazon tedavisidir. Hernekadardır diş çekimi BRONJ oluşma riskini 10 kat daha fazla artırsada kortikosteroid tedavisinin de BRONJ oluşumu için potansiyel bir etken olduğu iddia edilmiştir(183, 313). Ayrıca zoledronik asit ve deksametazonun eşzamanlı uygulanmasının diğer bir klinik önemide, çoğu multiple myeloma hastasının tedavi olarak her iki ilacı birden almasıdır(11, 335, 336).BP'nin onkolojik dozu, osteoporozda kullanılan dozundan yaklaşık olarak 10-12 kat daha yüksektir(15, 337) ve genellikle kortikosteroid gibi bir immünosüpresif madde ile kombine olarak kullanılır(338, 339).



Cankaya ve ark.(325) yapmış oldukları çalışmalarında 0, 7, 14. günlerde subkutan olarak 1 mg/kg dexamethasone (DX) ve 7.5 µg/kg zoledronik asit verilmişler ve sonuç olarak çalışma grubunda %60 oranında kontrol grubunda ise %31.6 oranında nekroz tespit etmişlerdir.Sonis ve ark.(340) yaptıkları çalışmada BRONJ benzeri lezyon oluşan hayvanların büyük bir kısmının zoledronik asit ve deksametazonun kombine kullanıldığı grupta oluştuğunu belirtmişlerdir. Benzer sonuçları Lopez-Journet ve ark. (341) rapor etmiştir. Yazarlar yapmış oldukları araştırmada ratlara pamidronat, deksametazon ve pamidronat+deksametazonu kombine vermişler ve sadece kombine ilaç verilen ratlarda BRONJ oluştuğunu bildirmişlerdir.Ayrıca yapılan insan epidemiyolojik çalışmalarında immünosüpresif tedavi alan kanser hastalarında BRONJ'un çok daha yüksek insidans gösterdiği belirtilmiştir(339, 342).

Bu epidemiyolojik bulgulara dayanarak, çalışmamızda eşdeğer bir tedavi protokolü oluşturabilmek için immünosüpresif bir ilaç olan deksametazonu BRONJ oluşma riskini artırmak yüksek doz i.v N- BP olan zoledronat ile kombine kullandık.

Kemikte yeniden şekillenme döngüsü doğrudan histomorfometrik analizlerle ve/veya kalsiyum kinetik çalışmaları ile değerlendirilebildiği gibi dolaylı olarak biyokimyasal parametrelerle de belirlenebilmektedir(343).

Tomat ve ark.(344) yaptıkları deneysel çalışmada; nefrektomi yapılan ratlarda olpandronatın üremik kemik hastalığı üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar tedavi başlangıcında, sonraki 7. günde ve 45. günde kan parametrelerinden kalsiyum, fosfor ve BALP seviyelerini inceleyerek, serum kalsiyum seviyelerinde herhangi bir fark görülmediğini ancak hem nefrektomi yapılan hem de nefrektomi yapıp olpandronat verilen ratlarda fosfor seviyesinin sham grubuna göre düştüğünü rapor etmişlerdir. BALP seviyelerinin ise hem nefrektomi yapılan hem de nefrektomi yapıp olpandronat verilen ratlarda tedavi başlangıcında ve 7. günde anlamlı bir şekilde arttığını ve daha sonra sham seviyelerine göre düşüş gösterdiğini bildirmişlerdir.

Chul Cho ve ark. (345)alendronat ve/veya kurkuminin verilen overektomize ratlarda kemik remodelingi üzerine etkisine baktıkları araştırmada, tedavi edilen gruplarda (alendronat, kurkumin ve kombine) tedavi edilmeyen gruplara oranla osteoklasin ve ALP seviyesinin anlamlı bir şekilde düşük olduğunu, ayrıca kombine tedavi edilen grupta, aledronat ve kurkumin gruplarına oranla yine osteokalsin ve ALP seviyesinin

daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Yine bu çalışmada CTX değerine de bakılmış, osteokalsin ve ALP değerleriyle aynı sonuçlar bulunmuştur.

Lespessailles ve ark.(346) yaptıkları hayvan çalışmasında; zoledronik asit ve egzersizin overektomize edilmiş ratlar üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada ratlara zoledronik asit ve egzersiz terapisi uygulanmış ve CTX ve serum osteokalsin değerleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır. CTX değeri overektomize yapılan rat grubunda sham grubuna oranla daha yüksek, egzersiz ve zoledronik asit terapisi uygulanan gruplarda overektomize grubuna oranla daha düşük, her iki terapinin birlikte uygulandığı grupta ise egzersiz ve zoledronik asit terapisinin ayrı ayrı uygulandığı gruplara oranla daha yüksek çıkmıştır. Her iki terapinin birlikte uygulandığı grup ve overektomize grubu arasında ise bir fark bulunamamıştır. Osteokalsin değerinde ise overektomize yapılan rat grubu ile sham grubu arasında bir fark bulunamamış, her iki terapinin birlikte uygulandığı grupta, egzersiz, zoledronik asit ve overektomize gruplarına oranla daha yüksek bulunmuş ve egzersiz grubunda zoledronik asit ve overektomize gruplarına oranla daha yüksek bulunmuştur.

Broulik ve ark. (347) hadım edilmiş ratlarda sodyum alendronatın BALP seviyesini hadım edilen gruba ve kontrol grubuna oranla anlamlı bir şekilde düşürdüğünü, hadım edilmiş grupta ise kontrol grubuna göre BALP seviyesinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu yaptıkları çalışmada göstermişlerdir. Serum kalsiyum ve fosfat konsantrasyonları ise normal değerlerde bulunmuş ve gruplar arasında farklılık bulunamamıştır.

Christopoulou ve ark. (348) overektomi yapılan osteoporozlu ratlarda serum NTX ve osteoklasin seviyelerine olan etkisini araştırmışlar ve serum NTX ve osteoklasin değerlerinin overektomi sonrası ciddi bir oranda yükseldiğini ve ayrıca overektomi yapılan ratların bifosfonat ile tedavisinden sonra bu değerlerin anlamlı bir şekilde düştüğünü göstermişlerdir.

Tamura ve ark. (349) yüksek ve düşük doz incadronate disodyumun overektomize ratlardaki kemik turnoverına olan etkisini inceledikleri çalışmalarında her iki dozdaki incadronate disodyum gruplarında BALP ve üriner deoksipiridinolin değerlerinin sham ve overektomize gruplarına oranla daha düşük olduğunu ve en düşük seviyedeki değerlerin ise yüksek dozda verilen incadronate disodyum grubunda olduğunu bildirmişlerdir.

Conte Neto ve ark. (322) kemirgenlerde yaptıkları çalışmada CTX ve BALP değerlerinin alendronat verilen grupta, saline solüsyonu verilen gruba oranla anlamlı bir oranda daha düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Body ve ark.(350) göğüs kanseri olan ve kemik metastazı yapmış olan hastalarda oral ibandronat ve i.v zoledronik asitin serum ve üriner CTX, BALP, P1NP ve osteokalsin değerlerine olan etkisini araştırmışlar ve her iki ilacında bu parametrelerde anlamlı olarak değerlerinde düşüş yaptıklarını fakat kendi aralarında anlamlı bir fark olmadığını rapor etmişlerdir.

O'Connell ve ark. (351) CTX seviyesi ile BRONJ oluşumu arasında ilişki olup olmadığını incelemişler. Araştırmalarında bifosfonat terapisi alan 23 hastanın CTX değerleri ölçülmüş, bu hastalarda diş çekimi yapılmış ve ortalama 30 aylık (8 ay-72 ay) takipte düşük, orta ve yüksek risk grubu olan hastaların hiçbirinde BRONJ gelişmediğini tespit etmişler. Sonuç olarak araştırmacılar CTX seviyesinin BRONJ'un önceden tahmininde etkili olmadığını söylemektedirler.

Zhao ve ark.(352)kemik metastazı yapmış göğüs kanserli hastada i.v zoledronik asit tedavisi öncesi ve tedavi süresince NTX değerlerini karşılaştırmışlar ve zoledronik asitin NTX değerini anlamlı bir şekilde düşürdüğünü rapor etmişlerdir.

Yuan Zhao ve ark. (353) araştırmalarında yalnız kanser tedavisi gören ve kanser tedavisi ve zoledronik asit tedavisini birlikte alan hastaların 1. ve 3. aylardaki NTX değerlerini karşılaştırmışlar ve zoledronik asitin hızlı ve sürekli olarak NTX değerini düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Generalı ve ark. (354) zoledronik asitin kemik turnover markırları üzerine olan etkisini farklı olarak zoledronik asiti bir gruba gece diğer gruba gündüz vererek karşılaştırmışlar. Her iki grupta da NTX, CTX, osteokalsin, kalsiyum, deoksipiridin ve BALP değerleri anlamlı bir şekilde düştüğü fakat zoledronik asitin gece veya gündüz verilmesinin bu değerlere bir etkisinin olmadığı bulunamamıştır.

Fidan ve ark. (355)41 kanser hastası üzerinde yaptıkları retrospektif çalışmada, zoledronik asit ve ibandronatın serum ALP ve kalsiyum ve fosfor değerlerine olan etkisini araştırmışlar ve her iki ilacında kalsiyum seviyesini etkilemediğini, ibandronatın ALP seviyesini, zoledronik asitin ise fosfor seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Kress ve ark.(356) postmenopozal osteoporozlu hastalarda alendronat tedavisi alanlarda almayanlara oranla BALP seviyesinin ilk üç ayda çok hızlı düştüğünü ve düşme oranının 6. aya kadar devam ettiğini rapor etmişlerdir.

### **Osteokalsin:**

Osteokalsin olgun osteoblastlar tarafından sentezlenen kemik matriksi proteindir ve kemik matriks proteinlerinin yaklaşık % 15'ini oluşturur(357, 358). Osteokalsin kemik oluşumunun çok iyi bir belirteci olmasına rağmen, yüksek biyolojik ve sirkadiyen değişkenliğine sahiptir (67).Sentezlenen osteokalsinin büyük bir kısmı kemik matriksinde bulunurken geri kalan kısmı ise kan dolaşımına karışır. Bu kan dolaşımına katılan osteokalsin miktarı kemik yapımını göstermektedir (359).

Christopoulou ve ark. (348) overektomi yapılan osteoporozlu ratlara alendronat vererek yaptıkları çalışmada, osteokalsin değerinin overektomi sonrası ciddi bir oranda yükseldiğini ve bifosfonat tedavisinden sonra bu değer anlamlı bir şekilde düştüğünü göstermişlerdir.

Body ve ark. (350)yaptıkları çalışmada, kemik metastazı yapmış göğüs kanseri olan hastalarda oral ibandronat ve i.v zoledronik asitin, osteokalsin değerlerini anlamlı olarak düşürdüğünü fakat bu iki ilaç arasında anlamlı bir fark olmadığını rapor etmişlerdir.

Generali ve ark. (354) gece ve gündüz verdikleri zoledronik asitin osteokalsindeğerlerini anlamlı bir şekilde düşürdüğünü fakat zoledronik asitin gece veya gündüz verilmesinin bu değerlere bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Chul Cho ve ark. (345)alendronat ve/veya kurkuminin verilen overektomize ratlarda, tedavi edilen gruplarda (alendronat, kurkumin ve kombine) tedavi edilmeyen gruplara oranla osteokalsin seviyesinin anlamlı bir şekilde düşük olduğunu, ayrıca kombine tedavi edilen grupta, alendronat ve kurkumin gruplarına oranla yine osteokalsin seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Yukarıda belirtilen çalışmalarda yazarlar bifosfonatların osteokalsin değerlerini ciddi bir şekilde düşürdüğünü iddia etmişlerdir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada 10, 15, 17. haftalarda çalışma ve kontrol grupları ile sham grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmamıştır ( $p>0.005$ ). Hernekadar

gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamış olsa dahi, 10 ve 15. haftalardaki çalışma ve kontrol gruplarındaki osteokalsin değerleri birlikte incelendiğinde, kontrol grubunun 15. haftadaki osteokalsin değeri 10. haftaya oranla ciddi bir düşüş gösterirken, çalışma gruplarında bu düşüşün daha az olduğu görülmektedir. **Bu sonuçlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa dahi zoledronik asitin özellikle 15. haftada osteokalsin değerini düşürdüğü görülmektedir. Vitamin D'nin ise osteokalsin değerini yükselttiği, bifosfonatların osteokalsin değerleri üzerine olan olumsuz etkisini azalttığı ve osteokalsin değerlerinin sham grubundaki değerlere yaklaştırdığı tespit edilmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmadığı için bu konuda herhangi bir çıkarım yapmak doğru değildir. Ayrıca bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.**

#### **N-telopeptid:**

N-telopeptid çapraz bağları, olgun kemik kollajeninin, osteoklastlar tarafından yıkımı esnasında salınan, tip I kollajene spesifik yapılardır. Tip I kollajen içeren diğer dokularda, kollajen yıkımı esnasında NTX çapraz bağları ortaya çıkmadığından NTX kemik rezorbsiyonun ölçümünde spesifik bir markır olarak kullanılabilir. Hastanın kemik rezorbsiyon düzeyinin saptanmasında ve antirezorbtif tedavinin takibinde, ilaç dozunun ayarlanmasında çok yararlı bir markırdır (360). Kemik metastazı yapan prostat kanseri, göğüs kanseri, multiple myeloma, akciğer kanseri gibi solid tümör vakalarında NTX seviyesinin artış olduğu bildirilmiş (361) bunun aksine bifosfonatlar gibi antirezorptif ilaçların, serum NTX değerini önemli ölçüde düşürdüğü rapor edilmiştir (76, 322, 348, 352-354). Sunulan çalışmada; 10. haftada sakrifiye edilen gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında NTX değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0.05$ ). 15. hafta sakrifiye edilen gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark ( $p=0.007$ ) olduğu ve bu gruplar (Kontrol-15, Preoperatif-15, Postoperatif-15) ile Sham grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında ise, Kontrol-15 grubunda serum NTX seviyesinin hem Postoperatif-15 grubuna göre ( $p=0,050$ ) hem de Sham grubuna göre ( $p=0,008$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu bulunmuştur. 17. hafta sakrifiye edilen gruplar kendi aralarında değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.040$ ). N-telopeptid'e ait alt gruplar (Kontrol-17, Osteonekroz-17 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında Sham grubu Kontrol-17 ( $p=0.020$ ) ve Osteonekroz-17 ( $p=0.034$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır.

**Bir kemik rezorbsiyon markırı olan NTX'in diş çekimi sonrası Vitamin D verilip 15. hafta sakrifiye edilen ratlarda (Sham grubuna benzer şekilde) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkması, Vitamin D'nin diş çekimi sonrası verilmesinin kemik rezorbsiyonunun inhibisyonunu engellediği sonucuna varılabilir.** Bu sonuçlara ilaveten NTX seviyesi kontrol gruplarında haftalara göre karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu (p=0.015) ve gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında ise sadece NTX seviyesinin Kontrol-15 grubunda Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düştüğu (p=0.019) tespit edilmiştir. **Onbeşinci haftada NTX seviyesindeki bu anlamlı düşüş, kemikteki rezorbsiyon miktarının özellikle 15. haftada bifosfonatlar tarafından baskılandığı şeklinde yorumlanabilir. Bu bulgu ise yukarıda bahsetmiş olduğumuz sonucun daha da önem kazanmasına yol açmaktadır. Bifosfonatlar tarafından özellikle onbeşinci haftada oluşması beklenen kemik rezorbsiyonundaki baskılanmanın diş çekimi sonrası Vitamin D verilen ratlarda engellenmesi, postoperatif olarak verilen Vitamin D'nin kemik turn overını 15. haftada da devam ettirdiği ve osteonekroz oluşma riskini anlamlı bir şekilde azaltabileceği sonucuna varılabilir.**

#### **C-Telopeptid:**

C-Telopeptid yaklaşık olarak %90'ı tip 1 kollajenden oluşan kemik matriksinin bir fragmanıdır(351). Kemik yıkımı esnasında ortaya çıkan ve diğer dokulardaki tip 1 kollajende bulunmadığı için kemik dokuya spesifik olan CTX fragmanı, son derece spesifik ve hassas bir kemik yıkımı belirtecidir (362). Paget hastalığı gibi kemik turn overının yüksek olduğu durumlarda CTX seviyesinde artış göstermekle birlikte antiresorptif ilaçların kullanıldığı durumlarda ise CTX seviyesi azalmaktadır (351). Yapılan birçok hayvan ve insan çalışmalarıda bifosfonat uygulamasının CTX seviyesinin anlamlı bir şekilde düşürdüğünü ileri sürülmüştür(346, 349, 350, 354, 363, 364). Bunun yanında kemik metastazı, kronik renal yetersizliği ve hiperparatiroidizm gibi yüksek kemik turnoverı gösteren hastalıklarda ise serum CTX değerlerinin artış gösterdiği yapılan araştırmalarda rapor edilmiştir (81, 365).

Marx ve ark. (364) CTX seviyesinin 100 pg/ml altında olduğu durumlarda BRONJ oluşma riskinin yüksek, 100-150 pg/ml arasında orta ve 150 pg/ml üzerinde olan durumlarda ise düşük risk oranına sahip olduğunu belirtmişlerdir. CTX hassas bir kemik

yıkımı belirteci olmasına ve bifosfonat kullanan hastalarda kemik rezorbsiyon belirteci olarak kullanılmasının önerilmesine rağmen O'Connell ve ark. (351) CTX seviyesinin BRONJ'un önceden tahmininde etkili olmayacağını söylemektedirler. Yapmış olduğumuz bu araştırmada bütün ratlarda zoledronik asite bağlı osteonekroz meydana getirilmiş olmasına rağmen, çalışma ve kontrol gruplarının hiçbirinde sham grubuna göre serum CTX seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik tespit edilememiştir.

### **Vitamin D:**

Vitamin D yağda eriyen vitaminler arasında bulunmakta olup vitaminden çok steroid yapılı bir hormon olarak değerlendirilir (25). Vitamin D kalsiyum, fosfor ve kemik metabolizmasının en önemli fizyolojik düzenleyicilerinden birisidir ve kemik, barsak, böbrek ve paratiroid bezler üzerine gösterdiği fizyolojik etkilerle kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenler(195). Ayrıca serum kalsiyum seviyesinin düzenlenmesinde paratiroid hormon (PTH) ile sinerjik etki gösterirler(366). Hokugo ve ark.(299) vitamin D yetmezliği olan ve zoledronik asit uygulanan ratlarda BRONJ görülme insidansının, sadece ZA verilen ve kontrol gruplarına oranla çok daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Koster ve ark.(367) vitamin D eksikliği olan ve olmayan postmenopozal kadınlarda aralıklı etidronat tedavisinin etkilerini incelemişler ve lomber ve femur boynu kemik kütlelerinin vitamin D eksikliği olan hastalarda belirgin olarak düşük olduğu bulmuşlardır. Yamanaka ve ark. (368) osteoporotik postmenopozal Japon kadınlarda vitamin D durumu ile alendronat tedavisinin etkisi arasındaki ilişkiyi incelenmişler ve osteoporoz tedavisinde alendronatın etkinliği için vitamin D'nin gerekli olduğu sonucuna varmışlardır.Mastaglia ve ark. (313) yaptıkları deneysel çalışmada vitamin D seviyesi ile aminobifosfonatların etkisi arasındaki ilişkiyi incelemişler ve vitamin D seviyesinin kalsiyum, fosfor, BALP ve CTX parametreleri üzerine etkisi olmadığını, ancak kemik erimesini önleme, kemik hacmi ve kemik yoğunluğunda olumlu değişiklikler, vitamin D'nin yeterli seviyede olduğu gruplarda daha yüksek seviyede olduğunu belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmada 10 ve 17. haftalara ait gruplar ile Sham grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ). 15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde vitamin D değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.023$ ). Vitamin D'e ait alt gruplar (Kontrol-15, Preoperatif-15, Postoperatif-15 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında Preoperatif-15 grubu, Postoperatif-15 ( $p=0.032$ ), Kontrol-15 ( $p=0,006$ ) ve Sham gruplarına göre ( $p=0,012$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde

yüksek çıkmıştır. Çıkan sonuçlar incelendiğinde Vitamin D seviyesinin sadece dış çekimi öncesi vitamin D verilip 15. hafta sakrifiye edilen Preoperatif-15 grubunda diğer grupların hepsine göre istatistiksel olarak anlamlı yükseldiği görülmektedir. **Yalnızca bu grupta serum vitamin D seviyesinin yükselmesi, (1,25(OH)2D3)'ün etkisinin tedavinin ileri evrelerinde ortaya çıkmasına bağlı olduğunu düşündürmektedir.**

### **Alkalen Fosfataz:**

Alkalen fosfataz (ALP) osteoblastlarda bulunmakla birlikte karaciğer, bağırsak ve plasentada bulunabilen bir enzimdir ve hepsi de kanda bulunan total ALP miktarına katkıda bulunurlar(59). Bu yüzden total alkalen fosfataz kemiğe duyarlı ve spesifik bir test değildir. Kemik Alkalen Fosfataz ise osteoblastlar tarafından sentezlenir ve postmenopozal kadınlarda osteoblastik aktiviteyi gösteren duyarlı bir testtir (60). Ayrıca bifosfonat tedavisi gören hastalarda osteoklastik aşırı baskılanmayı belirlemede en etkin kemik yapımı belirteçlerindendir (61). Yapılan birçok insan ve hayvan çalışmalarında bifosfonatların hem oral dozlarının hemde i.v dozlarının BALP seviyesini anlamlı bir şekilde düşürdüğü bildirilmiştir(322, 344, 345, 347, 349, 350, 354-356). Yapılan bu araştırmanın sonuçlarına göre; 10, 15, 17. haftalarda sakrifiye edilen çalışma ve kontrol grupları ile Sham grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).

### **Kalsiyum:**

Kalsiyum seviyesi ile ilgili yapılan çalışmalar ve literatür bilgileri incelendiğinde Tomat ve ark.(344) nefrektomi yapılan ratlarda bifosfonatın serum kalsiyum seviyelerinde herhangi etkisinin olmadığını, Broulik ve ark.(347) hadım edilmiş ratlarda sodyum alendronatın verilmesinin serum kalsiyum konsantrasyonlarını değiştirmediğini ve Fidan ve ark. (355) zoledronik asit ve ibandronatın kalsiyum seviyesini etkilemediğini, ancak Generali ve ark. (354)zoledronik asitin kalsiyum değerleri anlamlı bir şekilde düşürdüğünü belirtmişlerdir. Bu sonuçlara göre genel olarak bifosfonatların serum kalsiyum değerlerini etkilemediğini görmekteyiz. Bizim yaptığımız çalışmada ise 10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde kalsiyum değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.040$ ). Kalsiyuma ait alt gruplar (Kontrol-10, Preoperatif-10, Postoperatif-10 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında, Postoperatif-10 grubu hem Preoperatif-10 ( $p=0,012$ ) hemde Kontrol-10 ( $p=0,019$ ) gruplarına göre ise istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır. 15. hafta sakrifiye edilen gruplar



içerisinde kalsiyum değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ).17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde kalsiyum değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.001$ ). Kalsiyum'a ait alt gruplar (Kontrol-17, Osteonekroz-17 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldıklarında Osteonekroz-17 grubu hem Kontrol-17 grubuna göre ( $p=0.001$ ) hemde Sham grubuna göre ( $p=0.002$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır. Her ne kadar 15. haftadaki gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamış olsa da 10., 15. ve 17. haftalardaki alt gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında (10. Hafta kontrol/ 15.hafta kontrol/17. Hafta kontrol gibi), kontrol gruplarında kalsiyum değerlerinin hemen hemen aynı olduğu ve preop ve postop gruplarında ise kalsiyum değerlerinin giderek arttığı görülmektedir. Kalsiyum değerlerindeki belirtilen bu değişiklikler ve bifosfonatların kalsiyum seviyesini etkisinin olmadığı da göz önünde bulundurulduğunda vitamin D'nin kalsiyum seviyesini artıran bir etkisinin olduğu sonucuna varılabilir. **Bu artışın ise osteoklastik aktivitenin artırılması ile alakalı olabileceği ve osteoklastik aktivite arttıkça serum kalsiyum seviyesinde de bir artış olduğu çıkarımı yapılabilir.**

#### **FT3 ve FT4:**

Tirotropin (TSH), tiroid fonksiyon durumunun rutin değerlendirilmesi için kullanılan ilk basamak testtir. Ayrıca, serbest tiroksin (FT4) ve serbest triiyodotironin (FT3) TSH ile birlikte tiroid hastalıklarının teşhisinde ve tedavisinde kullanılan esansiyel biomarkırlardır (369). FT3 ve FT4 tiroid bezinden salgılanan yaşamsal fonksiyonların oluşumu ve devamı için gerekli olan hormonlardır. Bu hormonların normalden fazla salgılanması hipertroidi olarak adlandırılırken, düşük miktarlarda salgılanması ise hipotroidi olarak adlandırılır. Zoledronik asit iyodotironin diiyodinaz aktivitesinin 3 tipini değiştiren serum sitokinlerin yüksekliği ile bağlantılı olan akut faz cevabı indükler(370).Yapılan bir araştırmada bisfosfonatların verilmesinden sonra, akut faz cevapta önemli araçlar olan IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin uyarıldığını ileri sürülmüştür(371). Öteyandan, bu proinflamatuvar sitokinlerin yükselmesi tiroid bezi fonksiyon testleri etkileyebilmekte ve NTIS (tiroidal olmayan hastalık sendromu) patogenezinde rol oynayabilmektedir(372). NTIS eşzamanlı hipotalamus-hipofiz-tiroid hastalığı yokluğunda, tiroid hastalıkları taklit eden, serum tiroid fonksiyon testlerinde değişiklikler ile karakterize olan bir entitedir(373). Dicuonzo ve ark.(371)kemik metastazı yapmış kanser hastalarına zoledronik asit uygulamasının, serum IL-6 ve TNF-

$\alpha$  seviyelerinde geçici bir artış ile ateşe sebep olduğunu gözlemlemişlerdir. Karga ve ark. (370)2011 yılında yapmış oldukları çalışmalarında FT3 ve FT4 sevipleri zoledronik asit verilen grupla placebo grubu arasında karşılaştırılmış ve ilk iki günde zoledronik asit verilen grupta bu değerlerin yükseldiğini ve üçüncü günde ise başlangıç seviyesine düştüğünü tespit edilmiştirlerdir. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre; 10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde FT3 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.016$ ). FT3'e ait alt gruplar (Kontrol-10, Preoperatif-10, Postoperatif-10 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında, Preoperatif-10 grubu Kontrol-10 grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır ( $p=0.012$ ). Sham grubu ise Preoperatif-10 ( $p=0.005$ ), Postoperatif-10 ( $p=0.000$ ) ve Kontrol 10 ( $p=0.000$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır. 15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde FT3 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.016$ ). FT3'e ait alt gruplar (Kontrol-15, Preoperatif-15, Postoperatif-15 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında, Sham grubu, Preoperatif-15 ( $p=0,002$ ), Postoperatif-15 ( $p=0.026$ ), Kontrol-15 ( $p=0.013$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır. 17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde FT3 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.000$ ). FT3'e ait alt gruplar (Kontrol-17, Osteonekroz-17 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında Sham grubu, Osteonekroz-17 ( $p=0.000$ ) ve Kontrol-17 ( $p=0.000$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır. 10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde FT4 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.003$ ). FT4'e ait alt gruplar (Kontrol-10, Preoporatif-10, Postoperatif-10 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında, Sham grubu Preoporatif-10 ( $p=0.028$ ), Postoperatif-10 ( $p=0,00$ ) ve Kontrol 10 ( $p=0,034$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır. 15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde FT4 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.006$ ). FT4'e ait alt gruplar (Kontrol-15, Preoperatif-15, Postoperatif-15 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında, Sham grubu, Preoperatif-15 arasında ( $p=0,002$ ), Postoperatif-15 ile ( $p=0,002$ ) ve Kontrol-15 ( $p=0,026$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır. 17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde FT4 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.004$ ). FT4'e ait alt gruplar (Kontrol-17, Osteonekroz-17 ile Sham grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında Sham grubu, Kontrol-17 ( $p=0.022$ ) ve Osteonekroz-17 gruplarına göre ( $p=0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır.

**Bütün haftalarda (10,15,17) ve bu haftalara ait çalışma (preoperatif, postoperatif ve osteonekroz) ve kontrol gruplarında FT3 ve FT4 değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde sham gruplarına göre yüksek çıkmıştır. FT3 ve FT4 değerlerinde çalışma ve kontrol gruplarında birbirine oranla anlamlı bir fark çıkmaması ve bütün gruplarda sham grubuna göre yükselmiş olması, vitamin D'nin FT3 ve FT4 üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı ve bu değerlerin yükselmesinde bifosfonatların etkisinin olduğu söylenebilir.**

#### **Osteoblast:**

Çalışmamızda bifosfonatların osteoklastik aktiviteyi inhibe ederek etkilerini gösterdiğini birçok yerde literatür bilgileri eşliğinde vurgulanmıştı. Bunun yanında BPs osteoblastlar üzerine olan etkisi ise halen tartışmalıdır. Birçok araştırmacı bifosfonatların osteoblast farklılaşmasına direk etki gösterdiğini bildirirken(374-376), Khokher ve Dandona(377) BPs insan osteoblast hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasını inhibe ettiğini bulmuşlardır. Yine, Iwata ve ark. (378) 2006 yılında yaptıkları çalışmada alendronatın, periosteal yüzeyde osteoblast çoğalması ya da farklılaşmasını etkilemeden osteoblast aktivitesi bastırıldığını belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada ise alendronatın normal insan osteoblastları, canlılığı, çoğalması ya da mineral birikim aktivitesi üzerine herhangi bir etkiye sahip olmadığı gösterilmiştir. Aguirre ve ark.(307) yaptıkları çalışmada alendronatın bütün dozlarda osteoblastları azalttığını ve ayrıca yazar alendronatın yeni kemik oluşumunu engellediğini bunu da osteoblastogenezis üzerine olan direk etkisiyle ya da vasküleriteyi azaltarak indirek olarak yaptığını iddia etmiştir. Biasotto ve ark.(327) ratlarda yaptıkları çalışmada bifosfonat verilen grupta ülsere kemik alanlarının olduğunu ve bu bölgenin osteositlerden yoksun olduğunu, kontrol grubunda ise kemik iyileşmesinin normal olduğunu, osteoid yapımının ve osteoblastik aktivitenin olduğunu bildirmişir. Bedogni ve ark.(379) çeşitli sebeplerle bifosfonat tedavisi gören 11 hastanın BRONJ bölgesinden aldıkları specimenleri histopatolojik olarak incelemişler ve sonuç olarak osteoblast, osteoklast, damarlanmanın ve kemik remodelingine ait bir belirtinin olmadığını bildirmişlerdir. Pautke ve ark.(316) 2012 yılında yaptıkları çalışmada Bedogni'nin sonuçlarına benzer bir şekilde, zoledronik asit verilen grupta histolojik olarak osteoblast, osteoklast ve kemik remodeling belirtilerinin olmadığını bildirmişlerdir.

Bizim araştırmamızda ise 10. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde osteoblast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ). 15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde osteoblast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.001$ ). Osteoblast'a ait alt gruplar (Preoperatif-15, Postoperatif-15 ile Kontrol grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında Postoperatif-15 grubu, Preoperatif-15 ( $p=0.001$ ) ve Kontrol-15 ( $p=0.002$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir Şekilde düşük çıkmıştır. 17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde osteoblast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ). Bu sonuçların yanında, yapmış olduğumuz çalışmamızda osteoklastlar postoperatif 15 grubunda kontrol 15 grubuna göre anlamlı bir Şekilde yüksek çıkmıştır ve histolojik osteonekroz postoperatif 15 grubunda kontrol 15 grubunda göre anlamlı bir Şekilde düşük çıkmıştır. **Bütün bu sonuçlar birlikte ele alınacak olursa postoperatif 15 grubunda osteoblast sayısındaki bu azalmanın, literatür bilgilerindeki gibi bifosfonatlara bağlı değilde vitamin D'nin osteoklastik aktiviteyi artırırcı etkisi ile ilişkili olarak yıkım proesindeki artışa bağlı olduğunu iddia edebiliriz.**

#### **Osteoklast:**

Bifosfonatlar kimyasal yapısında P-C-P bağı içeren ve osteoklastlar tarafından meydana getirilen kemik erimesinin etkili inhibitörleri olarak hareket eden maddelerdir. Bu nedenle, bifosfonat içeren ilaçlar kalsiyum ve kemik metabolizması bozukluklarının tedavisinde endikedir(380). Bu ilaçlar hidroksiapatite hızlı bir Şekilde lokalize olurlar, osteoklastlar tarafından emilir ve osteoklastların resorptif fonksiyonlarını ve hayatta kalma süreçlerini değiştirirler(8, 381, 382). N-BPs, kolesterol biyosentezi için gerekli olan farnesil pirofosfat sentezi için önemli bir enzim olan farnesil difosfat sentazı inhibe ederek mevalonat yolunu etkileyerek etkilerini gösterirler (383).

Bertoldo (384) bisfosfonatların, diş çekimi veya periodontal işleminden sonra, osteoklastların apoptozunu indüklediğini belirtmiştir. Ayrıca osteoklastik kemik erimesinin engellenmesi, kemik matrisinden türetilen sitokinlerin üretimi azaltacağından kemikteki iyileşme proesini bozacağını ileri srmşdr.

Ben Kang ve ark. (319) 2013 yılında yaptıkları çalışmada yüksek doz zoledronik asit verdikleri farelerde peridontal hastalık meydana getirerek BRONJ oluşturmuşlar. Bu çalışmada yazarlar alveolar kemik rezorpsiyon merkezinde osteoklastik aktivitenin

olduğunu ancak periapikal lezyonların olduğu bölgede osteoklastik aktivitenin azaldığını göstermişlerdir.

Pautke ve ark.(316) domuzlar üzerinde yaptıkları çalışmada bifosfonat verdikleri hayvanların tamamında BRONJ benzeri kemik lezyonlarının oluştuğunu, osteoblastların ve multinükleer osteoklastların neredeyse olmadığını ve damarların ise çok az olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanında kontrol grubunda ise osteonekroza ait herhangi bir belirti görülmediğini belirtmişlerdir.

Tsurushima ve ark. (326) daha önceki çalışmalardan farklı olarak yaptıkları rat modelinde zoledronik asit verdikleri çalışma gruplarına ayrıca *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bakteri kültürü ve tam Freund adjuvanı (CFA) vermişlerdir. Yazarlar çeneler haricinde femurda da osteonekroz oluşturduklarını ve histopatolojik inceleme sonucunda osteoklastik aktivitenin inhibe olduğunu iddia etmişlerdir.

Aguirre ve ark. (323) ise s.c alendronat ve i.v düşük doz ve yüksek doz zoledronik asit verdikleri ratlarda 6, 12, 18 ve 24. haftalarda yaptıkları histolojik incelemelerde osteoklast sayısının sadece 6. haftadaki çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düştüğünü diğer haftalarda anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir

Bedogni ve ark.(379) bifosfonat tedavisi gören insanlar üzerinde yaptıkları araştırmada, cerrahi rezeksiyon sonrası ekpose kemikten aldıkları specimenlerde histopatolojik inceleme yapmışlar ve specimenlerin nonvital kemikle karakterize olduğunu, osteoblast ve multinükleer osteoklast hücrelerinin hemen hemen hiç olmadığını, çok az miktarda damarlanma görüldüğünü ve remodeling belirtilerinin olmadığını bildirmişlerdir.

Literatürde hem oral kullanılan BPs'in hemde i.v N-BPs'in osteoklast kaynaklı kemik rezorpsiyonunu ve hücrelerin canlılığını inhibe ettiği ve BPs'in bu etkisini hangi mekanizma ile gösterdiği çok iyi dokümanite edilmiştir(8, 381-383, 385). Ayrıca yapılan birçok hayvan ve insan çalışmalarında da BPs'in osteoklastları inhibe edici etkisi araştırılmış ve bu literatür bilgilerini destekleyen yönde sonuçlar bulunmuştur(316, 319, 323, 326, 329, 379). Yine yapılan birçok in vitro çalışmada, BPs'in osteoklast apoptozuna sebep olan osteoklastların iyileşmesini, farklılaşması, rezorbif aktivitesini ve morfolojisini etkileyerek osteoklast kaynaklı kemik rezorpsiyonuna zarar verdiği gösterilmiştir(386-388). Çalışmamızın sonuçlarına göre 10. hafta sakrifiye edilen

gruplar içerisinde osteoklast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ( $p=0.006$ ). Osteoklast'a ait alt gruplar (Preoperatif-10, Preoperatif-10 ile Kontrol grubu) kendi aralarında karşılaştırıldığında Kontrol-10 grubu, Preoperatif-10 ( $p=0.010$ ), Postoperatif-10 ( $p=0.026$ ) gruplarına göre istatistiksel anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır. 15. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde osteoklast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ). 17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde Osteonekroz 17 grubu, Kontrol-17 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır ( $p=0.023$ ). Hernekadar 15. haftadaki gruplarda istatistiksel olarak anlamlı fark olmasada hem preoperatif hemde postoperatif gruplardaki osteoklast sayısı kontrol grubundaki osteoklast sayısının yaklaşık üç katı sevidedir. **Bu sonuçlara göre vitamin D'nin bifosfonatların osteoklastları inhibe edici etkisini azalttığı ve osteoklastik aktiviteyi artırdığı söylenebilir.**

#### **Makroskopik ve Histolojik Nekroz:**

Yapılan birçok insan ve hayvan çalışmalarında, araştırmacılar bifosfonata bağlı osteonekroz alanlarının özelliklerini, oluşup oluşmadığını ve büyüklüğü gibi birçok özelliğini radyolojik, makroskopik ve histolojik olarak araştırmakla beraber(307, 314, 316, 319, 321, 325, 327, 379, 389), nekrotik alanın büyüklüğünü makroskopik olarak ve histolojik kesitlerde skorlama yöntemi ile çok fazla araştırılmamıştır. Tsurushima ve ark.(326) 2013 yılında yaptıkları çalışmada ratların hem mandibulasında hemde femurunda osteonekroz oluşturmuşlar ve bu nekrotik alanların boyutlarının ölçümünü yaparak karşılaştırmışlardır. Yazar, bifosfonat verilen gruplarda, saline solüsyonu verilen gruplara oranla nekrotik alanın daha büyük olduğunu iddia etmiştir. Conte Neto ve ark. (322) araştırmalarında diş çekiminden 3 gün sonra sakrifiye ettikleri ratların histolojik kesitlerinde hem bifosfonat verilen grupta hemde kontrol grubunda nekrotik alanda bir fark olmadığını ancak 28. günde alınan kesitlerde ise bifosfonat verilen grupta nekrotik alanın önemli derecede daha büyük olduğunu bildirmişlerdir. Yine Hokugo ve ark.(299) vitamin D yetersizliği oluşturup zoledronik asit verdikleri ratlarda nekrotik kemik alanın kontrol grubuna göre daha büyük oranlarda olduğunu belirtmişlerdir. Yaptığımız bu çalışmada 17. hafta sakrifiye edilen gruplar içerisinde makroskopik osteonekroz değeri Kontrol-17 grubunda, Osteonekroz 17 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır ( $p=0,011$ ). 15. haftada sakrifiye edilen gruplar içerisinde histolojik osteonekroz değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmıştır ( $p=0.007$ ). Histolojik osteonekroz'a ait alt gruplar (Preoperatif-15,

Postoperatif-15 ile Kontrol grubu) ise kendi aralarında karşılaştırıldığında, Postoperatif-15 grubu Kontrol-15 grubuna ( $p=0.034$ ) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır. Bu sonuçlara göre osteonekroz-17 grubunda kontrol grubuna göre makroskopik osteonekroz değeri daha düşük olduğu görülmektedir. **Bu sonuçların yanında, kalsiyum değerinin osteonekroz-17 grubunda kontrol-17 grubuna göre daha yüksek olması göz önüne alındığında vitamin D'nin osteonekroz oluşumundan sonra verilmesinin nekrotik alanın küçülmesine katkıda bulunabileceği çıkarımı yapılabilir.**

Histolojik osteonekroz değerleri incelendiğinde ise Postoperatif-15 grubunda kontrol grubuna göre oranla daha düşük çıkmıştır. Bunun yanında 15. hafta osteoblast, osteoklast ve NTX değerleri incelendiğinde osteoblast değerinin postoperatif-15 grubunda kontrol grubuna oranla daha düşük olduğu, osteoklast değerinin postoperatif-15 grubunda kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu ve NTX değerinin postoperatif-15 grubunda kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu görülmektedir. Bütün bu sonuçlar birlikte incelenecek olursa, vitamin D'nin 15. Haftada osteoklast sayısını artırdığı ve buna bağlı olarak nekrotik alanın küçüldüğü ve NTX değerinin ise yükseldiği görülmektedir. **Yani vitamin D'nin dış çekiminden sonra verilmesinin bifosfonata bağlı osteonekrozu iyileştirici etkisinin olduğu sonucuna varılabilir.**

Bifosfonatlara bağlı osteonekrozun tedavisinde cerrahi prensipler haricinde halen tam olarak oturmuş bir tedavi protokolu bulunmamaktadır. İleri sürülen bazı tedavi alternatifleri bulunmakla beraber, hem cerrahi tedavinin hemde bu tedavi seçeneklerinin başarısı, güvenilirliği ve etkinliği tartışmalı olup maliyetleride yüksektir. Çalışmamızda vitamin D'nin etkilediği parametreler incelenecek olursa;

**1. Osteokalsin değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamış olsa dahi, kontrol grubunun 15. haftadaki osteokalsin değeri 10. haftaya oranla ciddi bir düşüş gösterirken, çalışma gruplarında bu düşüşün daha az olduğu,**

**2. Kontrol-15 grubunda serum NTX seviyesinin hem Postoperatif-15 grubuna göre hem de Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu bununla birlikte Postoperatif-15 grubu ile sham arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı,**

3. Postoperatif-10 grubundaki kalsiyum değeri hem Preoperatif-10 hemde Kontrol-10 gruplarına göre ise istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıktığı, ayrıca Osteonekroz-17 grubunda serum kalsiyum seviyesinin hem Kontrol-17 grubuna göre hemde Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıktığı,

4. Postoperatif-15 grubunda osteoblast değeri, Preoperatif-15 ve Kontrol-15 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük çıktığı,

5. Osteoklast değerlerinde ise Kontrol-10 grubu, Preoperatif-10 ve Postoperatif-10 gruplarına göre istatistiksel anlamlı bir şekilde düşük çıktığı ve ayrıca Osteonekroz 17 grubu, Kontrol-17 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıktığı görülmektedir.

Bu sonuçlara göre, vitamin D'nin bifosfonatların osteoklastlar, NTX, kalsiyum, osteoklasin, kemik canlılığı ve osteoblastlar üzerine olan olumsuz etkilerini engellediği görülmektedir. Ayrıca bifosfonatlar tarafından özellikle onbeşinci haftada oluşması beklenen kemik rezorpsiyonundaki baskılanmanın dış çekimi sonrası Vitamin D verilen ratlarda engellenmesi, postoperatif olarak verilen Vitamin D'nin kemik turn overını 15. haftada da devam ettirdiği ve osteonekroz oluşma riskini anlamlı bir şekilde azaltabileceği sonucuna varılabilir. Bunun yanında Vitamin D'nin bifosfonata bağlı osteonekrozun tedavisinde özellikle de oluşmasının engellenmesinde kullanımının kolay ve ucuz bir tedavi alternatifi olabileceği öngörülmüştür. Hernekadar çalışmamızda vitamin D'nin bifosfonatların birçok parametre üzerinde olan olumsuz etkisini ortadan kaldırdığı görülsede, bifosfonat ile ilişkili osteonekrozun oluşmasından önce ve oluşumundan sonra, vitamin D'nin kullanımının nasıl, ne şekilde, hangi dozda ve sürede olacağı hakkında daha ileri in vivo ve in vitro çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



## **8.KAYNAKLAR**

1. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE and Mehrotra B. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--2009 update. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(5 Suppl):2-12.
2. Ruggiero SL, Carlson ER and Assael LA. Comprehensive review of bisphosphonate therapy: implications for the oral and maxillofacial surgery patient. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(5 Suppl):1.
3. Akarslan Z, Kahraman S. Kemik Metastazı Yapmış Prostat Kanseri Tedavisinde Kullanılan Bifosfonata Bağlı Olarak Çene Kemiklerinde Gelişen Osteonekroz: Vaka Raporu ve Literatür Derlemesi. *Atatürk Üniv Dis Hek Fak Derg.* 2008;18(3):105-110.
4. Lobato JV, Mauricio AC and Rodrigues JM. Jaw avascular osteonecrosis after treatment of multiple myeloma with zoledronate. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008; 61(1):99-106.
5. Rubin CT and Lanyon LE. Regulation of bone mass by mechanical strain magnitude. *Calcif Tissue Int.* 1985;37(4):411-417.
6. Berenson JR, Rosen LS, Howell A, Porter L, Coleman RE, Morley W, Dreicer R, Kuross SA, Lipton A and Seaman JJ. Zoledronic acid reduces skeletal-related events in patients with osteolytic metastases. *Cancer.* 2001;91(7):1191-1200.
7. Lipton A, Theriault RL, Hortobagyi GN. Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer J.* (2000).88:1082– 1090.
8. Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H, Thompson DD, Golub E and Rodan GA. Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest.* 1991;88(6):2095-2105.
9. Kimmel D. Mechanism of action, pharmacokinetic and pharmacodynamic profile, and clinical applications of nitrogen-containing bisphosphonates. *J Dent Res.*2009;86:1022–1033.

10. Bilezikian J. Osteonecrosis of the jaw – do bisphosphonates pose a risk? *N Engl J Med.* 2006; 355:2278–2281.
11. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61(9):1115-1117.
12. Rizzoli R, Burlet N, Cahall D, Delmas PD, Eriksen EF, Felsenberg D, Grbic J, Jontell M, Landesberg R, Laslop A, Wollenhaupt M, Papapoulos S, Sezer O, Sprafka M and Reginster JY. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonate treatment for osteoporosis. *Bone.* 2008;42(5):841-847.
13. 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 and Shane E. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res.* 2007;22(10):1479-1491.
14. Migliorati CA, Siegel MA and Elting LS. Bisphosphonate-associated osteonecrosis: a long-term complication of bisphosphonate treatment. *Lancet Oncol.* 2006:508–514.
15. Marx R, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis / osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005:1567–1575.
16. Lesclous P, Abi NS, Carrel JP, Baroukh B, Lombardi T, Willi JP, Rizzoli R, Saffar JL and Samson J. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a key role of inflammation? *Bone.* 2009;45(5):843-852.
17. Akintoye SO, Lam T, Shi S, Brahim J, Collins MT and Robey PG. Skeletal site-specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals. *Bone.* 2006;38(6):758-768.
18. Pazianas M, Miller P, Blumentals WA, Bernal M and Kothawala P. A review of the literature on osteonecrosis of the jaw in patients with osteoporosis treated with oral bisphosphonates: prevalence, risk factors, and clinical characteristics. *Clin Ther.* 2007;29(8):1548-1558.

19. Shimura K, Shimazaki, C., Taniguchi. Hyperbaric oxygen in addition to antibiotic therapy is effective for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw in a patient with multiple myeloma. *Int J Hematol.* 2006;343–345.
20. Freiburger JJ, Padilla-Burgos R, Chhoeu AH, Kraft KH, Boneta O, Moon RE and Piantadosi CA. Hyperbaric oxygen treatment and bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw: a case series. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(7):1321-1327.
21. Nastro E, Musolino C and Allegra A. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma and breast cancer. *Acta Haematol.* 2007:181–187.
22. O’Ryan F, Khoury S, Liao W. Intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: bone scintigraphy as an early indicator. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009:1363–1372.
23. Engroff S, Kim DD. Treating bisphosphonate osteonecrosis of the jaws: is there a role for resection and vascularised reconstruction? *J Oral Maxillofac Surg.* 2007:2374–2385.
24. Nocini PF, Saia G, Bettini G, Ragazzo M, Blandamura S, Chiarini L and Bedogni A. Vascularized fibula flap reconstruction of the mandible in bisphosphonate-related osteonecrosis. *Eur J Surg Oncol.* 2009;35(4):373-379.
25. Atas A, Çakmak A, Soran M. D Vitamin Metabolizması ve Rikets Hastalığı. *Bakırköy Tıp Dergisi.* 2008;4:1-7.
26. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(6 Suppl):1689-1696.
27. Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M, Newmark HL, Giovannucci E, Wei M and Holick MF. Vitamin D and prevention of colorectal cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;97(1-2):179-194.
28. Garland CF, Garland FC, Gorham ED, Lipkin M, Newmark H, Mohr SB and Holick MF. The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health.* 2006;96(2):252-261.

29. Chesney RW. Vitamin D and the magic mountain: the anti-infectious role of the vitamin. *J Pediatr.* 2010;156(5):698-703.
30. Jones G. Metabolism and biomarkers of vitamin D. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2012;243:7-13.
31. Brannon PM, Yetley EA, Bailey RL and Picciano MF. Overview of the conference "Vitamin D and Health in the 21st Century: an Update". *Am J Clin Nutr.* 2008;88(2):483-490.
32. Armas LA, Hollis BW and Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(11):5387-5391.
33. Bouvier M. Bone Mechanics. In: Cowin C.S. editor. *The biology and composition of bone.* Florida: CRC press; 1989: p.2–13.
34. Baron, R. Anatomy and ultrastructure of bone, in *Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism.* 4nd Ed. Favus, M.1., Ed. Lippincottwilliams & Wilkins, 1999, chap.1.
35. Murugan R, Ramakrishna S. Development of nanocomposites for bone grafting. *Composites Science and Technology.* 2005;65(15-16): 2385-2406.
36. Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology,* Tenth Edition: McGraw-Hill Companies; 2003: p. 142-52.
37. Özyiğit A. Deneysel Olarak Oluşturulan Defektlerde Titanyum Partikülleri Ve Değişik Graft Materyallerinin Kemik İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması. *Dişhekimliği Bilimleri Merkezi. Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programı Doktora Tezi, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 2007.*
38. [http://vimed.s.ktu.edu.tr/syayar/public\\_html/dersnotlari/kemik.pdf](http://vimed.s.ktu.edu.tr/syayar/public_html/dersnotlari/kemik.pdf).
39. Akay M.T. Genel Histoloji. In: Akay M.T. editor. *Kemik dokusu.* 5nd ed. Ankara: Palme yayıncılık; 2001: p.126–149.
40. <http://www.aof.edu.tr/kitap/EHSM/1219/unite07.pdf>.
41. Elçi A. Postmenapozal Kadınlarda Serum Total Osteokalsin Ve Gamma Karboksik Glutamat Kalıntısı Taşımayan Osteokalsin Oranı ile Kemik Mineral Dansitesi

Ölçümünün Karşılaştırılması. T.C.Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bölümü, Uzmanlık Tezi, İstanbul. 2004.

42. Bloom W, Fawcet DA. Textbook of Histology. Japan: W. B. Saunders Company; 1975: p. 244-82.

43. Ovalle WK, Nahirney PC. Netter's Essential Histology. Saunders Elsevier; 2009: p. 131-156

44. Doblare M, Garcia JM, Gomez MJ. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. Engineering Fracture Mechanics. 2004;71:1809–1840.

45. Şimşek A. Distraksiyon Osteogenezisi, Dişhekimliği Bilimleri Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Semineri, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 1998.

46. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. Science. 1993; 260: 920-926.

47. Garant P. Oral Cells And Tissues. Quintessence Publishing Co. Inc. Illinois: Chapter 7-8. 2003

48. Rubin E, Farber J.L. Pathology. Philadelphia: JB Lippencott, 1988.

49. Cormack D.H. Ham's Histology 9th Edition, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1987.

50. Junguiera LC, Carneiro, J., Kelley, R.O. Temel Histoloji. 8.Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi Ltd. Şti; 1998:p.132-151.

51. Ehrlich PJ and Lanyon LE. Mechanical strain and bone cell function: a review. Osteoporos Int. 2002;13(9):688-700.

52. Buckwalter JA, Cooper RR, Recker R. Bone biology. Part 1. Structure, blood supply, cells, matrix and mineralization. J Bone Joint Surg Am. 1995; 77:1256.

53. Erdoğan G. Temel ve Klinik Endokrinoloji. 2.baskı, Ankara, Özyurt matbaacılık;2005.

54. Ballı B. Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. Bitirme tezi. İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi. İstanbul. 2004.

55. Burchardt H EW. transplantation of bone. Urg Clin North Am. 1978:403–427.

56. DePalma AF, Lewinnek GE. Anterior interbody fusion for severe cervical disc degeneration. *Surg Gynecol Obstet.* 1972;755–758.
57. Yewle, Jivan N. University of Kentucky, Chemistry, Doktora tezi, 217 sayfa, Lexington,(Prof.Dr. Leonidas Bachas).
58. Mc Cormick RK. Osteoporosis: integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility. *Altern Med Rev.* 2007;12:113–145.
59. Moss DW. Diagnostic aspects of alkaline phosphatase and its isoenzymes. *Clin Biochem.* 1987;20(4):225-230.
60. Wechsel HW, Petri E and Bichler KH. Skeletal alkaline phosphatase: a marker for individual follow-up in patients with advanced prostatic cancer. *Urol Int.* 1997;58(2):80-83.
61. Kress BC MI, Armour KW, Marcus R, Emkey RD, Santora AC. Use of bone alkaline phosphatase to monitor alendronate therapy in individual postmenopausal osteoporotic women. *Clin Chem.* 1999;45:1009–1017.
62. Harris H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta.* 1990; 186:133–150.
63. Green S, Anstiss CL and Fishman WH. Automated differential isoenzyme analysis. II. The fractionation of serum alkaline phosphatases into "liver", "intestinal" and "other" components. *Enzymologia.* 1971;41(1):9-26.
64. Watts NB. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. *Clin Chem.* 1999;45:1359-1368.
65. Farley JR, Chesnut CH and Baylink DJ. Improved method for quantitative determination in serum of alkaline phosphatase of skeletal origin. *Clin Chem.* 1981;27(12):2002-2007.
66. Liu SH, Yang RS, al-Shaikh R and Lane JM. Collagen in tendon, ligament, and bone healing. A current review. *Clin Orthop Relat Res.* 1995(318):265-278.
67. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev.* 2005;26(4):97-122.

68. Luftner D, Jozereau D, Schildhauer S, Geppert R, Muller C, Fiolka G, Wernecke KD and Possinger K. PINP as serum marker of metastatic spread to the bone in breast cancer patients. *Anticancer Res.* 2005;25(3A):1491-1499.
69. Price PA. Vitamin K-dependent proteins. In: Cohn DV (ed) *Calcium regulation and bone metabolism basic and clinical aspects.* Amsterdam, Elsevier Science, The Netherlands. 1987:419–425.
70. Dickson IR. Bone. In: Royce PM, Steinmann B (eds). *Connective tissue and its heritable disorders.* New York: Wiley-Liss; 1993:p.249–285.
71. Price PA. Vitamin K-dependent formation of bone Gla protein (osteocalcin) and its function. *Vitam Horm.* 1985;42:65-108.
72. Riggs BL, Tsai KS and Mann KG. Effect of acute increases in bone matrix degradation on circulating levels of bone-Gla protein. *J Bone Miner Res.* 1986;1(6):539-542.
73. Cremers S and Garnero P. Biochemical markers of bone turnover in the clinical development of drugs for osteoporosis and metastatic bone disease: potential uses and pitfalls. *Drugs.* 2006;66(16):2031-2058.
74. Eyre DR. Collagen cross-linking amino acids. *Methods Enzymol.* 1987;144:115–139.
75. Biberoglu S. Primer Osteoporoz Tiplerinin Klinik Özellikleri, Laboratuar Testleri ve Tanısal Yaklaşım, Erkeklerde Osteoporoz. In: Koloğlu S. *Osteoporoz.* 1. Baskı, Ankara: Ajanstürk Gazetecilik ve matbaacılık; 1998:47–76.
76. Abe Y, Ishikawa H and Fukao A. Higher efficacy of urinary bone resorption marker measurements in assessing response to treatment for osteoporosis in postmenopausal women. *Tohoku J Exp Med.* 2008;214(1):51-59.
77. Clemens JD, Herrick MV, Singer FR. Evidence that serum NTx (collagen-type I N-telopeptides) can act as an immunochemical marker of bone resorption. *Clin Chem.* 1997; 43:2058–2063.
78. Fledelius C, Johnsen AH, Cloos PA, Bonde M and Qvist P. Characterization of urinary degradation products derived from type I collagen. Identification of a beta-

isomerized Asp-Gly sequence within the C-terminal telopeptide (alpha1) region. *J Biol Chem.* 1997;272(15):9755-9763.

79. Gunja-Smith Z and Boucek RJ. Collagen cross-linking compounds in human urine. *Biochem J.* 1981;197(3):759-762.

80. Halleen JM, Alatalo SL, Janckila AJ, Woitge HW, Seibel MJ and Vaananen HK. Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a specific and sensitive marker of bone resorption. *Clin Chem.* 2001;47(3):597-600.

81. Garnero P and Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998;27(2):303-323.

82. Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ and Stepan J. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int.* 2000;11 Suppl 6:S2-17.

83. Deacon AC, Hulme P, Hesp R, Green JR, Tellez M, Reeve J. Estimation of whole body bone resorption rate: a comparison of urinary total hydroxyproline excretion with two radioisotopic tracer methods in osteoporosis. *Clin Chim Acta.* 1997;166:297–306.

84. Wilson PS, Kleerekoper M, Bone H and Parfitt AM. Urinary total hydroxyproline measured by HPLC: comparison of spot and timed urine collections. *Clin Chem.* 1990;36(2):388-389.

85. Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev.* 1998;19(1):80-100.

86. Bassett CA, Donath A, Macagno F, Preisig R, Fleisch H and Francis MD. Diphosphonates in the treatment of myositis ossificans. *Lancet.* 1969;2(7625):845.

87. 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: Elsevier; 1995:p.111–124.

88. Fogelman I, Bessent RG, Turner JG, Citrin DL, Boyle IT and Greig WR. The use of whole-body retention of Tc-99m diphosphonate in the diagnosis of metabolic bone disease. *J Nucl Med.* 1978;19(3):270-275.



89. Owens G, Jackson R and Lewiecki EM. An integrated approach: bisphosphonate management for the treatment of osteoporosis. *Am J Manag Care.* 2007;13 Suppl 11:290-308.
90. Dunford JE, Thompson K, Coxon FP. 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.* 2001;296(2):235–242.
91. Russell RG. Bisphosphonates: from bench to bedside. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1068:367-401.
92. Rodan GA, Reszka AA. Bisphosphonate mechanism of action. *Curr Mol Med.* 2002;2(6):571-577.
93. Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest.* 1996;97(12):2692-2696.
94. Russell RG, Muhlbauer RC, Bisaz S, Williams DA and Fleisch H. The influence of pyrophosphate, condensed phosphates, phosphonates and other phosphate compounds on the dissolution of hydroxyapatite in vitro and on bone resorption induced by parathyroid hormone in tissue culture and in thyroparathyroidectomised rats. *Calcif Tissue Res.* 1970;6(3):183-196.
95. Frith JC, Monkkonen J, Blackburn GM, Russell RG and Rogers MJ. Clodronate and liposome-encapsulated clodronate are metabolized to a toxic ATP analog, adenosine 5'-(beta, gamma-dichloromethylene) triphosphate, by mammalian cells in vitro. *J Bone Miner Res.* 1997;12(9):1358-1367.
96. Russell RG, Rogers MJ, Frith JC, Luckman SP, Coxon FP, Benford HL, Croucher PI, Shipman C and Fleisch HA. The pharmacology of bisphosphonates and new insights into their mechanisms of action. *J Bone Miner Res.* 1999;14 Suppl 2:53-65.
97. Luckman SP, Coxon FP, Ebetino FH, Russell RG and Rogers MJ. Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J774 macrophages. *J Bone Miner Res.* 1998;13(11):1668-1678.

98. Oliff A. Farnesyltransferase inhibitors: targeting the molecular basis of cancer. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1423(3):C19-30.
99. Alakangas A, Selander K, Mulari M, Halleen J, Lehenkari P, Monkkonen J, Salo J and Vaananen K. Alendronate disturbs vesicular trafficking in osteoclasts. *Calcif Tissue Int*. 2002;70(1):40-47.
100. Gober HJ, Kistowska M, Angman L, Jenö P, Mori L and De Libero G. Human T cell receptor gamma delta cells recognize endogenous mevalonate metabolites in tumor cells. *J Exp Med*. 2003;197(2):163-168.
101. Mönkkönen H LP, Kellinsalmi M et al. A new mechanism of action for bisphosphonates: appi dedicated cytotoxicity of N-BPs. *Bone*. 2004;34:66-67.
102. Dunford JE TK, Coxon FP et al. 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*. 2001;296:235-242.
103. Green JR, Muller K and Jaeggi KA. Preclinical pharmacology of CGP 42'446, a new, potent, heterocyclic bisphosphonate compound. *J Bone Miner Res*. 1994;9(5):745-751.
104. Chesnut CH, 3rd, McClung MR, Ensrud KE, Bell NH, Genant HK, Harris ST, Singer FR, Stock JL, Yood RA and Delmas PD. Alendronate treatment of the postmenopausal osteoporotic woman: effect of multiple dosages on bone mass and bone remodeling. *Am J Med*. 1995;99(2):144-152.
105. Miller PD, McClung MR, Macovei L, Stakkestad JA, Luckey M, Bonvoisin B, Reginster JY, Recker RR, Hughes C, Lewiecki EM, Felsenberg D, Delmas PD, Kendler DL, Bolognese MA, Mairon N and Cooper C. Monthly oral ibandronate therapy in postmenopausal osteoporosis: 1-year results from the MOBILE study. *J Bone Miner Res*. 2005;20(8):1315-1322.
106. Harris ST, Watts NB, Genant HK, McKeever CD, Hangartner T, Keller M, Chesnut CH, 3rd, Brown J, Eriksen EF, Hoseney MS, Axelrod DW and Miller PD. Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with

postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *JAMA*. 1999;282(14):1344-1352.

107. McClung MR, Geusens P, Miller PD, Zippel H, Bensen WG, Roux C, Adami S, Fogelman I, Diamond T, Eastell R, Meunier PJ and Reginster JY. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. Hip Intervention Program Study Group. *N Engl J Med*. 2001;344(5):333-340.

108. Mellstrom DD, Sorensen OH, Goemaere S, Roux C, Johnson TD and Chines AA. Seven years of treatment with risedronate in women with postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int*. 2004;75(6):462-468.

109. Wasnich RD, Miller PD. Antifracture efficacy of antiresorptive agents are related to changes in bone density. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(1):231-236.

110. Watts NB, Cooper C, Lindsay R, Eastell R, Manhart MD, Barton IP, Van Staa TP and Adachi JD. Relationship between changes in bone mineral density and vertebral fracture risk associated with risedronate: greater increases in bone mineral density do not relate to greater decreases in fracture risk. *J Clin Densitom*. 2004;7(3):255-261.

111. Bauer DC, Garnero P, Hochberg MC, Santora A, Delmas P, Ewing SK and Black DM. Pretreatment levels of bone turnover and the antifracture efficacy of alendronate: the fracture intervention trial. *J Bone Miner Res*. 2006;21(2):292-299.

112. Green JR. Bisphosphonates: preclinical review. *Oncologist*. 2004;9 Suppl 4:3-13.

113. Tassone P, Tagliaferri P, Viscomi C, Palmieri C, Caraglia M, D'Alessandro A, Galea E, Goel A, Abbruzzese A, Boland CR and Venuta S. Zoledronic acid induces antiproliferative and apoptotic effects in human pancreatic cancer cells in vitro. *Br J Cancer*. 2003;88(12):1971-1978.

114. Benford HL, McGowan NW, Helfrich MH, Nuttall ME and Rogers MJ. Visualization of bisphosphonate-induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone*. 2001;28(5):465-473.

115. Senaratne SG, Mansi JL and Colston KW. The bisphosphonate zoledronic acid impairs Ras membrane [correction of impairs membrane] localisation and induces cytochrome c release in breast cancer cells. *Br J Cancer*. 2002;86(9):1479-1486.

116. Magonetto S, Boissier S, Delmas PD and Clezardin P. Additive antitumor activities of taxoids in combination with the bisphosphonate ibandronate against invasion and adhesion of human breast carcinoma cells to bone. *Int J Cancer*. 1999;83(2):263-269.
117. Boissier S, Ferreras M, Peyruchaud O. Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *Cancer Res*. 2000;60:2949-2954.
118. Heikkila P, Teronen O, Moilanen M, Konttinen YT, Hanemaaijer R, Laitinen M, Maisi P, van der Pluijm G, Bartlett JD, Salo T and Sorsa T. Bisphosphonates inhibit stromelysin-1 (MMP-3), matrix metalloelastase (MMP-12), collagenase-3 (MMP-13) and enamelysin (MMP-20), but not urokinase-type plasminogen activator, and diminish invasion and migration of human malignant and endothelial cell lines. *Anticancer Drugs*. 2002;13(3):245-254.
119. Corey E, Brown LG, Quinn JE, Poot M, Roudier MP, Higano CS and Vessella RL. Zoledronic acid exhibits inhibitory effects on osteoblastic and osteolytic metastases of prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2003;9(1):295-306.
120. Pickering LM, Mansi JL, Colston KW. Adhesion of breast cancer cells to extracellular matrices is inhibited by zoledronic acid and enhanced by aberrant Ras signalling. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2003;22:863.
121. Virtanen SS, Vaananen HK, Harkonen PL and Lakkakorpi PT. Alendronate inhibits invasion of PC-3 prostate cancer cells by affecting the mevalonate pathway. *Cancer Res*. 2002;62(9):2708-2714.
122. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, Bellahcene A, Devy L, Foidart JM, Castronovo V and Green JR. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302(3):1055-1061.
123. Croucher PI, De Hendrik R, Perry MJ, Hijzen A, Shipman CM, Lippitt J, Green J, Van Marck E, Van Camp B and Vanderkerken K. Zoledronic acid treatment of 5T2MM-bearing mice inhibits the development of myeloma bone disease: evidence for decreased osteolysis, tumor burden and angiogenesis, and increased survival. *J Bone Miner Res*. 2003;18(3):482-492.

124. Fournier P, Boissier S, Filleur S, Guglielmi J, Cabon F, Colombel M and Clezardin P. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res.* 2002;62(22):6538-6544.
125. Bezzi M, Hasmim M, Bieler G, Dormond O and Ruegg C. Zoledronate sensitizes endothelial cells to tumor necrosis factor-induced programmed cell death: evidence for the suppression of sustained activation of focal adhesion kinase and protein kinase B/Akt. *J Biol Chem.* 2003;278(44):43603-43614.
126. Pecheur I, Peyruchaud O, Serre CM, Guglielmi J, Voland C, Bourre F, Margue C, Cohen-Solal M, Buffet A, Kieffer N and Clezardin P. Integrin  $\alpha(v)\beta3$  expression confers on tumor cells a greater propensity to metastasize to bone. *FASEB J.* 2002;16(10):1266-1268.
127. Welch DR, Harms JF, Samant RS. The small molecule  $\alpha v \beta 3$  antagonist (S247) inhibits MDA-MB-435 breast cancer metastasis to bone. *Oncology* 2003;17:18.
128. Santini D, Vincenzi B, Dicuonzo G, Avvisati G, Massacesi C, Battistoni F, Gavasci M, Rocci L, Tirindelli MC, Altomare V, Tocchini M, Bonsignori M and Tonini G. Zoledronic acid induces significant and long-lasting modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2003;9(8):2893-2897.
129. Yood RA, Emani S, Reed JI, Lewis BE, Charpentier M and Lydick E. Compliance with pharmacologic therapy for osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2003;14(12):965-968.
130. Carr AJ, Thompson PW and Cooper C. Factors associated with adherence and persistence to bisphosphonate therapy in osteoporosis: a cross-sectional survey. *Osteoporos Int.* 2006;17(11):1638-1644.
131. Siris ES, Harris ST, Rosen CJ, Barr CE, Arvesen JN, Abbott TA and Silverman S. Adherence to bisphosphonate therapy and fracture rates in osteoporotic women: relationship to vertebral and nonvertebral fractures from 2 US claims databases. *Mayo Clin Proc.* 2006;81(8):1013-1022.
132. Boivin GY, Chavassieux PM, Santora AC, Yates J and Meunier PJ. Alendronate increases bone strength by increasing the mean degree of mineralization of bone tissue in osteoporotic women. *Bone.* 2000;27(5):687-694.

133. Rossouw JE AG, Prentice RL, et al. . Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women:principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2002;288(3):321–333.
134. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, Bauer DC, Genant HK, Haskell WL, Marcus R, Ott SM, Torner JC, Quandt SA, Reiss TF and Ensrud KE. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet*. 1996;348(9041):1535-1541.
135. Liberman UA, Weiss SR, Broll J, Minne HW, Quan H, Bell NH, Rodriguez-Portales J, Downs RW, Dequeker J and Favus M. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *N Engl J Med*. 1995;333(22):1437-1443.
136. Delmas PD, Recker RR, Chesnut CH, Skag A, Stakkestad JA, Emkey R, Gilbride J, Schimmer RC and Christiansen C. Daily and intermittent oral ibandronate normalize bone turnover and provide significant reduction in vertebral fracture risk: results from the BONE study. *Osteoporos Int*. 2004;15(10):792-798.
137. Riggs BL, Melton LJ. Bone turnover matters: the raloxifene treatment paradox of dramatic decreases in vertebral fractures without commensurate increases in bone density. *J Bone Miner Res*. 2002;17(1):11-14.
138. Bone HG HD, Devogelaer JP, et al. Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 2004;350(12):1189–1199.
139. Orwoll E, Ettinger M, Weiss S, Miller P, Kendler D, Graham J, Adami S, Weber K, Lorenc R, Pietschmann P, Vandormael K and Lombardi A. Alendronate for the treatment of osteoporosis in men. *N Engl J Med*. 2000;343(9):604-610.
140. Finkelstein JS LB, Burnett SM, et al. Effects of teriparatide, alendronate, or both on bone turnover in osteoporotic men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(8):2882–2887.

141. Kurland ES, Heller SL, Diamond B, McMahon DJ, Cosman F and Bilezikian JP. The importance of bisphosphonate therapy in maintaining bone mass in men after therapy with teriparatide [human parathyroid hormone(1-34)]. *Osteoporos Int.* 2004;15(12):992-997.
142. 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 and Cummings SR. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 2007;356(18):1809-1822.
143. Lyles KW, Colon-Emeric CS, Magaziner JS, Adachi JD, Pieper CF, Mautalen C, Hyldstrup L, Recknor C, Nordsletten L, Moore KA, Lavecchia C, Zhang J, Mesenbrink P, Hodgson PK, Abrams K, Orloff JJ, Horowitz Z, Eriksen EF and Boonen S. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture. *N Engl J Med.* 2007;357(18):1799-1809.
144. McClung M RR, Miller P, et al. . Intravenous zoledronic acid 5 mg in the treatment of postmenopausal women with low bone density previously treated with alendronate. *Bone* 2007;41 (1):122–128.
145. Whyte MP. Clinical practice. Paget's disease of bone. *N Engl J Med.* 2006;355(6):593-600.
146. Siris E, Weinstein RS, Altman R, Conte JM, Favus M, Lombardi A, Lyles K, McIlwain H, Murphy WA, Reda C, Rude R, Seton M, Tiegs R, Thompson D, Tucci JR, Yates AJ and Zimering M. Comparative study of alendronate versus etidronate for the treatment of Paget's disease of bone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(3):961-967.
147. Siris ES, Chines AA, Altman RD, Brown JP, Johnston CC, Lang R, McClung MR, Mallette LE, Miller PD, Ryan WG, Singer FR, Tucci JR, Eusebio RA and Bekker PJ. Risedronate in the treatment of Paget's disease of bone: an open label, multicenter study. *J Bone Miner Res.* 1998;13(6):1032-1038.
148. Siris ES. Perspectives: a practical guide to the use of pamidronate in the treatment of Paget's disease. *J Bone Miner Res.* 1994;9(3):303-304.

149. Reid IR, Miller P, Lyles K, Fraser W, Brown JP, Saidi Y, Mesenbrink P, Su G, Pak J, Zelenakas K, Luchi M, Richardson P and Hosking D. Comparison of a single infusion of zoledronic acid with risedronate for Paget's disease. *N Engl J Med.* 2005;353(9):898-908.
150. Body J. Treatment and prevention of bone metastases and myeloma in bone disease. In: Favus, MJ. (Eds.). *Primer on the Metabolic Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.* 2006; p.383-390.
151. Lipton A TR, Hortobagyi GN, et al. . Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer Lett.* 2000;88(5):1082–1090.
152. Clemons MJ, Dranitsaris G, Ooi WS, Yogendran G, Sukovic T, Wong BY, Verma S, Pritchard KI, Trudeau M and Cole DE. Phase II trial evaluating the palliative benefit of second-line zoledronic acid in breast cancer patients with either a skeletal-related event or progressive bone metastases despite first-line bisphosphonate therapy. *J Clin Oncol.* 2006;24(30):4895-4900.
153. Body JJ, Diel IJ, Lichinitser MR, Kreuser ED, Dornoff W, Gorbunova VA, Budde M and Bergstrom B. Intravenous ibandronate reduces the incidence of skeletal complications in patients with breast cancer and bone metastases. *Ann Oncol.* 2003;14(9):1399-1405.
154. Body JJ, Diel IJ, Bell R, Pecherstorfer M, Lichinitser MR, Lazarev AF, Tripathy D and Bergstrom B. Oral ibandronate improves bone pain and preserves quality of life in patients with skeletal metastases due to breast cancer. *Pain.* 2004;111(3):306-312.
155. Powles T, Paterson S, Kanis JA, McCloskey E, Ashley S, Tidy A, Rosenqvist K, Smith I, Ottestad L, Legault S, Pajunen M, Nevantaus A, Mannisto E, Suovuori A, Atula S, Nevalainen J and Pylkkanen L. Randomized, placebo-controlled trial of clodronate in patients with primary operable breast cancer. *J Clin Oncol.* 2002;20(15):3219-3224.
156. Khan MN and Khan AA. Cancer treatment-related bone loss: a review and synthesis of the literature. *Curr Oncol.* 2008;15(Suppl 1):S30-40.



157. Gnant MF MB, Luschin-Ebengreuth G, et al. Zoledronic acid prevents cancer treatment-induced bone loss in premenopausal women receiving adjuvant endocrine therapy for hormone-responsive breast cancer: a report from the Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group. *J Clin Oncol.* 2007 Mar; 1;25(7):820–828.
158. Confavreux CB, Fontana A, Guastalla JP, Munoz F, Brun J and Delmas PD. Estrogen-dependent increase in bone turnover and bone loss in postmenopausal women with breast cancer treated with anastrozole. Prevention with bisphosphonates. *Bone.* 2007;41(3):346-352.
159. Garnero P, Buchs N, Zekri J, Rizzoli R, Coleman RE and Delmas PD. Markers of bone turnover for the management of patients with bone metastases from prostate cancer. *Br J Cancer.* 2000;82(4):858-864.
160. Saad F, Gleason DM, Murray R, Tchekmedyian S, Venner P, Lacombe L, Chin JL, Vinholes JJ, Goas JA and Zheng M. Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(11):879-882.
161. Smith MR, McGovern FJ, Zietman AL, Fallon MA, Hayden DL, Schoenfeld DA, Kantoff PW and Finkelstein JS. Pamidronate to prevent bone loss during androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *N Engl J Med.* 2001;345(13):948-955.
162. Michaelson MD, Kaufman DS, Lee H, McGovern FJ, Kantoff PW, Fallon MA, Finkelstein JS and Smith MR. Randomized controlled trial of annual zoledronic acid to prevent gonadotropin-releasing hormone agonist-induced bone loss in men with prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25(9):1038-1042.
163. Ishizaka K, Machida T, Kobayashi S, Kanbe N, Kitahara S and Yoshida K. Preventive effect of risedronate on bone loss in men receiving androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *Int J Urol.* 2007;14(12):1071-1075.
164. Berenson JR, Lichtenstein A, Porter L, Dimopoulos MA, Bordoni R, George S, Lipton A, Keller A, Ballester O, Kovacs MJ, Blacklock HA, Bell R, Simeone J, Reitsma DJ, Heffernan M, Seaman J and Knight RD. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. Myeloma Aredia Study Group. *N Engl J Med.* 1996;334(8):488-493.

165. Rosen LS, Gordon D, Kaminski M, Howell A, Belch A, Mackey J, Apffelstaedt J, Hussein M, Coleman RE, Reitsma DJ, Seaman JJ, Chen BL and Ambros Y. Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial. *Cancer J*. 2001;7(5):377-387.
166. Lacy MQ DA, Gertz MA, et al. Mayo Clinic consensus statement for the use of bisphosphonates in multiple myeloma. . *Mayo Clin Proc*. 2006;81(8):1047–1053.
167. BGM. D. Use of bisphosphonates in multiple myeloma: IMWG response to Mayo Clinic consensus statement [letter]. *Mayo Clin Proc*. 2007;82(4):516–517.
168. Lipton A, Zheng M and Seaman J. Zoledronic acid delays the onset of skeletal-related events and progression of skeletal disease in patients with advanced renal cell carcinoma. *Cancer*. 2003;98(5):962-969.
169. Glorieux FH. Experience with bisphosphonates in osteogenesis imperfecta. *Pediatrics*. 2007;119 Suppl 2:S163-165.
170. Rauch F, Travers R, Plotkin H and Glorieux FH. The effects of intravenous pamidronate on the bone tissue of children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *J Clin Invest*. 2002;110(9):1293-1299.
171. Cho TJ, Choi IH, Chung CY, Yoo WJ, Park MS and Park YK. Efficacy of oral alendronate in children with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr Orthop*. 2005;25(5):607-612.
172. DiMeglio LA and Peacock M. Two-year clinical trial of oral alendronate versus intravenous pamidronate in children with osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Res*. 2006;21(1):132-140.
173. Akcay T, Turan S, Guran T and Bereket A. Alendronate treatment in children with osteogenesis imperfecta. *Indian Pediatr*. 2008;45(2):105-109.
174. Zeitlin L, Fassier F and Glorieux FH. Modern approach to children with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr Orthop B*. 2003;12(2):77-87.

175. Munns CF, Rauch F, Travers R and Glorieux FH. Effects of intravenous pamidronate treatment in infants with osteogenesis imperfecta: clinical and histomorphometric outcome. *J Bone Miner Res.* 2005;20(7):1235-1243.
176. Ward L, Tricco AC, Phuong P, Cranney A, Barrowman N, Gaboury I, Rauch F, Tugwell P and Moher D. Bisphosphonate therapy for children and adolescents with secondary osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007(4):CD005324.
177. Bachrach LK. Consensus and controversy regarding osteoporosis in the pediatric population. *Endocr Pract.* 2007;13(5):513–520.
178. Papapoulos SE and Cremers SC. Prolonged bisphosphonate release after treatment in children. *N Engl J Med.* 2007;356(10):1075-1076.
179. Munns CF, Rauch F, Ward L, Glorieux FH. Maternal and fetal outcome after long-term pamidronate treatment before conception: a report of two cases. *J Bone Miner Res.* 2004;19(10):1742–1745.
180. Woo SB, Hellstein JW and Kalmar JR. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med.* 2006;144(10):753-761.
181. Dimopoulos MA, Kastritis E, Anagnostopoulos A, Melakopoulos I, Gika D, Moulopoulos LA, Bamia C, Terpos E, Tsionos K and Bamias A. Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates: evidence of increased risk after treatment with zoledronic acid. *Haematologica.* 2006;91(7):968-971.
182. Corso A, Varettoni M, Zappasodi P. A different schedule of zoledronic acid can reduce the risk of the osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma. *Leukemia.* 2007;21(7):1545–1548.
183. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M and Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63(11):1567-1575.
184. Tosi P, Zamagni E, Cangini D, Tacchetti P, Di Raimondo F, Catalano L, D'Arco A, Ronconi S, Cellini C, Offidani M, Perrone G, Ceccolini M, Brioli A, Tura S, Baccarani M and Cavo M. Osteonecrosis of the jaws in newly diagnosed multiple myeloma

patients treated with zoledronic acid and thalidomide-dexamethasone. *Blood*. 2006;108(12):3951-3952.

185. Bilezikian JP. Osteonecrosis of the jaw-do bisphosphonates pose a risk? *N Engl J Med*. 2006;355(22):2278-2281.

186. Burr DB, Miller L, Grynpas M. Tissue mineralization is increased following 1-year treatment with high doses of bisphosphonates in dogs. *Bone*. 2003;33(6):960-969.

187. Chapurlat RD, Arlot M, Burt-Pichat B, Chavassieux P, Roux JP, Portero-Muzy N and Delmas PD. Microcrack frequency and bone remodeling in postmenopausal osteoporotic women on long-term bisphosphonates: a bone biopsy study. *J Bone Miner Res*. 2007;22(10):1502-1509.

188. Odvina CV, Zerwekh JE, Rao DS, Maalouf N, Gottschalk FA and Pak CY. Severely suppressed bone turnover: a potential complication of alendronate therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(3):1294-1301.

189. Whitson HE, Lobaugh B and Lyles KW. Severe hypocalcemia following bisphosphonate treatment in a patient with Paget's disease of bone. *Bone*. 2006;39(4):954-958.

190. Jones SG, Dolan G, Lengyel K and Myers B. Severe increase in creatinine with hypocalcaemia in thalidomide-treated myeloma patients receiving zoledronic acid infusions. *Br J Haematol*. 2002;119(2):576-577.

191. Mishra A, Wong L and Jonklaas J. Prolonged, symptomatic hypocalcemia with pamidronate administration and subclinical hypoparathyroidism. *Endocrine*. 2001;14(2):159-164.

192. Maalouf NM, Heller HJ, Odvina CV, Kim PJ and Sakhaee K. Bisphosphonate-induced hypocalcemia: report of 3 cases and review of literature. *Endocr Pract*. 2006;12(1):48-53.

193. Hewitt RE, Lissina A, Green AE, Slay ES, Price DA and Sewell AK. The bisphosphonate acute phase response: rapid and copious production of proinflammatory cytokines by peripheral blood gd T cells in response to aminobisphosphonates is inhibited by statins. *Clin Exp Immunol*. 2005;139(1):101-111.

194. Barrera BA, Wilton L, Harris S and Shakir SA. Prescription-event monitoring study on 13,164 patients prescribed risedronate in primary care in England. *Osteoporos Int.* 2005;16(12):1989-1998.
195. Jameson JL, Weetman AP. Tiroid bezi hastalıkları. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL.(Eds). Çeviri editörü: Sağlıkler Y. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (15. Edisyon). İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2004: p.2060-2075
196. Ası T. Tablolarla Biyokimya. 2.Cilt, 1999.
197. Armas LAG. Vitamin D2 is much less effective than Vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:5387–5391.
198. Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006;92(1):4-8.
199. Ersöz B. Kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen hormonlar. In: Onat T, Emerk K, Sözmén EY. (Editörler). İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık; 2002:p.467-472.
200. Hollick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancer and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:1678- 1688.
201. Bordelon P, Ghetu MV and Langan RC. Recognition and management of vitamin D deficiency. *Am Fam Physician.* 2009;80(8):841-846.
202. Holick MF. Kemik ve mineral metabolizmasına giriş. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL.(Eds). Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (Çeviri editörü: Sağlıkler Y). (15nd), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004:p.2192-2205.
203. Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(2):491-499.
204. Shihadeh Y. Güneşe maruz kalma şekillerinin D vitamini üretimindeki rolü. 1998, Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
205. Zempleni J. Handbook of vitamins. (4th ed). New York: CRC Press; 2008:608.

206. Whiting SJ. Dietary recommendations to meet both endocrine and autocrine needs of Vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;97: 7-12.
207. Holick MF, MacLaughlin JA, Clark M.B, Holick SA, Potts JT, Anderson RR, Blank IH, Parrish JA, and Elias P. Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences *Science.* 1980; 210:203-205.
208. MacLaughlin J, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest.* 1985;76(4):1536-1538.
209. Rucker RB. *Handbook of vitamins.* (3rd ed). New York: Marcel Dekker Inc; 2001: p. 616
210. Behzat Ö, Hakan D. D vitamininin iskelet sistemi dışı etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2011;54:99-119.
211. Holick MF. MrOs is D-ficient. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(4):1092-1093.
212. Holick MF. Vitamin D Deficiency Medical Progress. *The New England Journal Of Medicine.* 2007;357(3): 266.
213. Perkins BA, Ficociello LH, Ostrander BE, Silva KH, Weinberg J, Warram JH and Krolewski AS. Microalbuminuria and the risk for early progressive renal function decline in type 1 diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(4):1353-1361.
214. Mosekilde L. Vitamin D and the elderly. *Clin Endocrinol.* 2005;62(3):265-281.
215. *Klinik Biyokimya da Temel Ülkeler.* Tietz 5. baskı. 2005:809-812.
216. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest.* 2006;116(8):2062-2072.
217. Vieth R. Why the optimal requirement for Vitamin D3 is probably much higher than what is officially recommended for adults. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004;89-90(1-5):575-579.
218. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. *Vitamin D. Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride* Washington, DC: National Academy Press. 1999:250-287.

219. The ABC of vitamin D a primer for physicians Susie Langley. Medical post. 2007;43( 23):1.
220. Potts JT. Paratiroid bezinin hastalıkları ve diğer hiper ve hipokalsemik bozukluklar. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, LongoDL, Jameson JL.(Eds.). Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (Çeviri editörü: Sağlık Y). 15. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004;p.2205-2226.
221. Nagpal S, Na S and Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. Endocr Rev. 2005;26(5):662-687.
222. Nnoaham KE and Clarke A. Low serum vitamin D levels and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Int J Epidemiol. 2008;37(1):113-119.
223. Van Etten E and Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: basic concepts. J Steroid Biochem Mol Biol. 2005;97(1-2):93-101.
224. Telliöğlu A. Yashılarda Yüksek Doz İntromusküler Kolekalsiferol İle Oral Kolekalsiferolün Vitamin D Düzeyleri Ve Fiziksel Performans Üzerine Etkileri.2010 ÇÜ, Fiziksel Tıp Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, 69 sayfa, Adana, (Doç. Dr. Sibel Basaran).
225. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. Am J Clin Nutr. 2004;79(3):362-371.
226. Kulie T, Groff A, Redmer J, Hounshell J and Schragger S. Vitamin D: an evidence-based review. J Am Board Fam Med. 2009;22(6):698-706.
227. Pearce SH and Cheetham TD. Diagnosis and management of vitamin D deficiency. BMJ. 2010;340:b5664.
228. Ozkan B. Nutritional rickets. J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2010;2(4):137-143.
229. Holick MF. Vitamin D: extraskeletal health. Endocrinol Metab Clin North Am. 2010;39(2):381-400.
230. Artaza JN, Mehrotra R and Norris KC. Vitamin D and the cardiovascular system. Clin J Am Soc Nephrol. 2009;4(9):1515-1522.

231. Witham MD, Nadir MA and Struthers AD. Effect of vitamin D on blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *J Hypertens.* 2009;27(10):1948-1954.
232. Liu. University Medical Center, Groningen, Netherlands European Society of Cardiology's Congress Stockholm. 2010.
233. Oh J, Weng S, Felton SK, Bhandare S, Riek A, Butler B, Proctor BM, Petty M, Chen Z, Schechtman KB, Bernal-Mizrachi L and Bernal-Mizrachi C. 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin d inhibits foam cell formation and suppresses macrophage cholesterol uptake in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation.* 2009;120(8):687-698.
234. Parker J, Hashmi O, Dutton D, Mavrodaris A, Stranges S, Kandala NB, Clarke A and Franco OH. Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. *Maturitas.* 2010;65(3):225-236.
235. Zittermann A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006;92(1):39-48.
236. Ortlepp JR, Krantz C, Kimmel M, von Korff A, Vesper K, Schmitz F, Mevissen V, Janssens U, Franke A, Hanrath P, Zerres K and Hoffmann R. Additive effects of the chemokine receptor 2, vitamin D receptor, interleukin-6 polymorphisms and cardiovascular risk factors on the prevalence of myocardial infarction in patients below 65 years. *Int J Cardiol.* 2005;105(1):90-95.
237. Chiu KC, Chu A, Go VL and Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(5):820-825.
238. Boucher BJ, Mannan N, Noonan K, Hales CN and Evans SJ. Glucose intolerance and impairment of insulin secretion in relation to vitamin D deficiency in east London Asians. *Diabetologia.* 1995;38(10):1239-1245.
239. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE and Hu FB. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care.* 2006;29(3):650-656.
240. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR and Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet.* 2001;358(9292):1500-1503.



241. Colston KW. Vitamin D and breast cancer risk. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2008;22(4):587-599.
242. Rheem DS, Baylink DJ, Olafsson S, Jackson CS and Walter MH. Prevention of colorectal cancer with vitamin D. *Scand J Gastroenterol.* 2010;45(7-8):775-784.
243. Schwartz GG. Vitamin D and intervention trials in prostate cancer: from theory to therapy. *Ann Epidemiol.* 2009;19(2):96-102.
244. Jenab M, Bueno-de-Mesquita HB, Ferrari P, Van Duijnhoven FJ. Association between pre-diagnostic circulating vitamin D concentration and risk of colorectal cancer in European populations:a nested case-control study. *BMJ.* 2010;340:5500.
245. Garland CF and Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol.* 1980;9(3):227-231.
246. Gorham ED, Garland CF and Garland FC. Acid haze air pollution and breast and colon cancer mortality in 20 Canadian cities. *Can J Public Health.* 1989;80(2):96-100.
247. Lefkowitz ES and Garland CF. Sunlight, vitamin D, and ovarian cancer mortality rates in US women. *Int J Epidemiol.* 1994;23(6):1133-1136.
248. Schwartz GG, Hulka BS. Is vitamin D deficiency a risk factor for prostate cancer? (Hypothesis). *Anticancer Res.* 1990;10(5A):1307-1311.
249. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR and Heaney RP. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(6):1586-1591.
250. Khosla S and Melton LJ, 3rd. Clinical practice. Osteopenia. *N Engl J Med.* 2007;356(22):2293-2300.
251. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(4):1080-1086.
252. Swami S, Krishnan AV, Wang JY, Jensen K, Peng L, Albertelli MA and Feldman D. Inhibitory effects of calcitriol on the growth of MCF-7 breast cancer xenografts in nude mice: selective modulation of aromatase expression in vivo. *Horm Cancer.* 2011;2(3):190-202.

253. Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, Tavera-Mendoza L, Lin R, Hanrahan JW, Mader S and White JH. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol.* 2004;173(5):2909-2912.
254. Najada AS, Habashneh MS and Khader M. The frequency of nutritional rickets among hospitalized infants and its relation to respiratory diseases. *J Trop Pediatr.* 2004;50(6):364-368.
255. Muhe L, Lulseged S, Mason KE and Simoes EA. Case-control study of the role of nutritional rickets in the risk of developing pneumonia in Ethiopian children. *Lancet.* 1997;349(9068):1801-1804.
256. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo Jr Ca. Association between serum 25 hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition examination Survey. *Arch Intern Med* 2009;169:384-390.
257. Acheson ED, Bachrach CA and Wright FM. Some comments on the relationship of the distribution of multiple sclerosis to latitude, solar radiation, and other variables. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 1960;35(147):132-147.
258. Norman JE, Kurtzke JF and Beebe GW. Epidemiology of multiple sclerosis in U.S. veterans: 2. Latitude, climate and the risk of multiple sclerosis. *J Chronic Dis.* 1983;36(8):551-559.
259. Mahon BD, Gordon SA, Cruz J, Cosman F and Cantorna MT. Cytokine profile in patients with multiple sclerosis following vitamin D supplementation. *J Neuroimmunol.* 2003;134(1-2):128-132.
260. Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E, Hernan MA, Olek MJ, Willett WC and Ascherio A. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology.* 2004;62(1):60-65.
261. Evatt ML, DeLong MR, Khazai N, Rosen A, Triche S and Tangpricha V. Prevalence of vitamin d insufficiency in patients with Parkinson disease and Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2008;65(10):1348-1352.

262. Lansowne AT PS. Vitamin D3 enhances mood in healthy subjects during winter. *Psychopharmacology* 1998;135:319-323.
263. Buell JS and Dawson-Hughes B. Vitamin D and neurocognitive dysfunction: preventing "D"ecline? *Mol Aspects Med.* 2008;29(6):415-422.
264. Oudshoorn C, Mattace-Raso FU, van der Velde N, Colin EM and van der Cammen TJ. Higher serum vitamin D3 levels are associated with better cognitive test performance in patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2008;25(6):539-543.
265. Witte JG. Depression Is Associated With Decreased 25-Hydroxyvitamin D and Increased Parathyroid Hormone Levels in Older Adults. *Arch Gen Psychiatry.* 2008;65(5):508-512.
266. McGrath J. "Vitamin D supplementation during the first year of life and risk of schizophrenia: a Finnish birth cohort study". *Schizophrenia Research.* 2003; 67(2):237-245
267. Liel Y, Ulmer E, Shary J, Hollis BW, Bell NH. Low circulating vitamin D in obesity. *Calcif Tissue Int.* 1988; 43:199-201.
268. Stallman-Jorgensen YDI. American Heart Association's Joint 49th Conference on Cardiovascular Disease Epidemiology and Prevention and Nutrition, Physical Activity and Metabolism. 2009.
269. Ward KA, Das G, Berry JL, Roberts SA, Rawer R, Adams JE and Mughal Z. Vitamin D status and muscle function in post-menarchal adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(2):559-563.
270. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:690-693.
271. Arunabh S, Pollack S, Yeh J and Aloia JF. Body fat content and 25-hydroxyvitamin D levels in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(1):157-161.

272. Bell NH, Greene A, Epstein S, Oexmann MJ, Shaw S and Shary J. Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in blacks. *J Clin Invest.* 1985;76(2):470-473.
273. Brown J, Bianco JJ, McGrath JJ and Eyles DW. 1,25-dihydroxyvitamin D3 induces nerve growth factor, promotes neurite outgrowth and inhibits mitosis in embryonic rat hippocampal neurons. *Neurosci Lett.* 2003;343(2):139-143.
274. McCann JC, Ames BN. Is there convincing biological or behavioral evidence linking vitamin D deficiency to brain dysfunction. *FASEB J.* 2008;22:982-1001.
275. Eyles DW, Smith S, Kinobe R, Hewison M and McGrath JJ. Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. *J Chem Neuroanat.* 2005;29(1):21-30.
276. Eyles D, Brown J, Mackay-Sim A, McGrath J and Feron F. Vitamin D3 and brain development. *Neuroscience.* 2003;118(3):641-653.
277. McGrath JJ, Saha S, Lieberman DE and Buka S. Season of birth is associated with anthropometric and neurocognitive outcomes during infancy and childhood in a general population birth cohort. *Schizophr Res.* 2006;81(1):91-100.
278. Morris GS, Zhou Q, Hegsted M and Keenan MJ. Maternal consumption of a low vitamin D diet retards metabolic and contractile development in the neonatal rat heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1995;27(6):1245-1250.
279. Vaidya A, Forman JP. Vitamin D and vascular disease: the current and future status of vitamin D therapy in hypertension and kidney disease. *Curr Hypertens Rep.* 2012;14(2):111-119.
280. Lishmanov A, Dorairajan S, Pak Y, Chaudhary K and Chockalingam A. Treatment of 25-OH Vitamin D Deficiency in Older Men With Chronic Kidney Disease Stages 3 and 4 Is Associated With Reduction in Cardiovascular Events. *Am J Ther.* 2011.
281. Stumpf WE, Sar M, Reid FA, Tanaka Y and DeLuca HF. Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D3 in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary, and parathyroid. *Science.* 1979;206(4423):1188-1190.

282. Hosomi J, Hosoi J, Abe E, Suda T and Kuroki T. Regulation of terminal differentiation of cultured mouse epidermal cells by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *Endocrinology*. 1983;113(6):1950-1957.
283. Abe E, Miyaura C, Sakagami H, Takeda M, Konno K, Yamazaki T, Yoshiki S and Suda T. Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78(8):4990-4994.
284. Holick MF. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and the skin: a unique application for the treatment of psoriasis. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1989;191(3):246-257.
285. Bhalla AK, Amento EP, Clemens TL, Holick MF and Krane SM. Specific high-affinity receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D3 in human peripheral blood mononuclear cells: presence in monocytes and induction in T lymphocytes following activation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1983;57(6):1308-1310.
286. Adorini L and Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008;4(8):404-412.
287. Yang S, Smith C and DeLuca HF. 1 alpha, 25-Dihydroxyvitamin D3 and 19-nor-1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D2 suppress immunoglobulin production and thymic lymphocyte proliferation in vivo. *Biochim Biophys Acta*. 1993;1158(3):279-286.
288. Schoindre Y, Terrier B, Kahn JE, Saadoun D, Souberbielle JC, Benveniste O, Amoura Z, Piette JC, Cacoub P and Costedoat-Chalumeau N. [Vitamin D and autoimmunity. Second part: Clinical aspects]. *Rev Med Interne*. 2012;33(2):87-93.
289. Munger KLM, Zhang SM, O'Reilly E. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology*. 2004;62:60-65.
290. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA and Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum*. 2004;50(1):72-77.
291. Finklea JD, Grossmann RE and Tangpricha V. Vitamin D and chronic lung disease: a review of molecular mechanisms and clinical studies. *Adv Nutr*. 2011;2(3):244-253.

292. Lehouck A, Mathieu C, Carremans C, Baeke F, Verhaegen J, Van Eldere J, Decallonne B, Bouillon R, Decramer M and Janssens W. High doses of vitamin D to reduce exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2012;156(2):105-114.
293. Kumar R. Prenatal factors and the development of asthma. *Curr Opin Pediatr.* 2008;20(6):682-687.
294. Rhee Y, Song K, Park S, Park HS, Lim SK and Park BW. Efficacy of a combined alendronate and calcitriol agent (Maxmarvil(R)) in Korean postmenopausal women with early breast cancer receiving aromatase inhibitor: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Endocr J.* 2013;60(2):167-172.
295. Reid IR. Osteonecrosis of the jaw: who gets it, and why? *Bone.* 2009;44(1):4-10.
296. Badros A, Goloubeva O, Terpos E, Milliron T, Baer MR and Streeten E. Prevalence and significance of vitamin D deficiency in multiple myeloma patients. *Br J Haematol.* 2008;142(3):492-494.
297. Ardine M, Generali D, Donadio M, Bonardi S, Scoletta M, Vandone AM, Mozzati M, Bertetto O, Bottini A, Dogliotti L and Berruti A. Could the long-term persistence of low serum calcium levels and high serum parathyroid hormone levels during bisphosphonate treatment predispose metastatic breast cancer patients to undergo osteonecrosis of the jaw? *Ann Oncol.* 2006;17(8):1336-1337.
298. Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG and Kogan R. Normal serum bone markers in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(3):389-391.
299. Hokugo A, Christensen R, Chung EM, Sung EC, Felsenfeld AL, Sayre JW, Garrett N, Adams JS and Nishimura I. Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res.* 2010;25(6):1337-1349.
300. Ritchie CS, Joshipura K, Hung HC and Douglass CW. Nutrition as a mediator in the relation between oral and systemic disease: associations between specific measures of adult oral health and nutrition outcomes. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(3):291-300.

301. Jeffcoat MK, Chesnut CH. Systemic osteoporosis and oral bone loss: evidence shows increased risk factors. *J Am Dent Assoc.* 1993;124(11):49-56.
302. Krall EA, Wehler C, Garcia RI, Harris SS and Dawson-Hughes B. Calcium and vitamin D supplements reduce tooth loss in the elderly. *Am J Med.* 2001;111(6):452-456.
303. Andresen C OE, Nduaka C, Pero R, Bagi CM. Action of calciotropic hormones on bone metabolism – Role of Vitamin D3 in bone remodeling events. *Am J Immunol.* 2006;2:40–51.
304. Garcia MN, Hildebolt CF, Miley DD, Dixon DA, Couture RA, Spearie CL, Langenwalter EM, Shannon WD, Deych E, Mueller C and Civitelli R. One-year effects of vitamin D and calcium supplementation on chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2011;82(1):25-32.
305. Anand N, Chandrasekaran SC and Rajput NS. Vitamin D and periodontal health: Current concepts. *J Indian Soc Periodontol.* 2013;17(3):302-308.
306. Jabbar S, Drury J, Fordham J, Datta HK, Francis RM and Tuck SP. Plasma vitamin D and cytokines in periodontal disease and postmenopausal osteoporosis. *J Periodontal Res.* 2011;46(1):97-104.
307. Aguirre JI, Altman MK, Vanegas SM, Franz SE, Bassit AC and Wronski TJ. Effects of alendronate on bone healing after tooth extraction in rats. *Oral Dis.* 2010;16(7):674-685.
308. Hellstein JW and Marek CL. Bis-phosphy jaw, phosphy jaw, and the 21st century: bisphosphonate-associated complications of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(12):1563-1565.
309. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ and Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(5):527-534.
310. NIH Consensus Development Panel. Osteoporosis prevention, diagnosis and treatment. *JAMA.* 2001;285:785-789.

311. Kashyap AS and Kashyap S. Hypoparathyroidism unmasked by alendronate. *Postgrad Med J.* 2000;76(897):417-418.
312. Altundag O, Altundag K, Selim Silay Y, Gunduz M, Demircan K and Gullu I. Calcium and vitamin D supplementation during bisphosphonate administration may increase osteoclastic activity in patients with bone metastasis. *Med Hypotheses.* 2004;63(6):1010-1013.
313. Silvina R, Mastaglia GGP, Patricia M, Mandalunis, Macarena M, Gonzales Chaves, Silvia M, Friedman, Susana N, Zeni. Vitamin D insufficiency reduces the protective effect of bisphosphonate on ovariectomy-induced bone loss in rats. *Bone.* 2006;39:837–844.
314. Burr DB, Allen MR. Mandibular necrosis in beagle dogs treated with bisphosphonates. *Orthod Craniofac Res.* 2009;12(3):221-228.
315. Matthew RA, Tien-Min G, Salvatore LR. Absence of Exposed Bone Following Dental Extraction in Beagle Dogs Treated With 9 Months of High-Dose Zoledronic Acid Combined With Dexamethasone. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013;71:1017-1026.
316. Pautke C, Kreutzer K, Weitz J, Knodler M, Munzel D, Wexel G, Otto S, Hapfelmeier A, Sturzenbaum S and Tischer T. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw: A minipig large animal model. *Bone.* 2012;51(3):592-599.
317. Kikuri T, Kim I, Yamaza T, Akiyama K, Zhang Q, Li Y, Chen C, Chen W, Wang S, Le AD and Shi S. Cell-based immunotherapy with mesenchymal stem cells cures bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *J Bone Miner Res.* 2010;25(7):1668-1679.
318. Giuliani N, Pedrazzoni M, Negri G, Passeri G, Impicciatore M and Girasole G. Bisphosphonates stimulate formation of osteoblast precursors and mineralized nodules in murine and human bone marrow cultures in vitro and promote early osteoblastogenesis in young and aged mice in vivo. *Bone.* 1998;22(5):455-461.
319. Kang B, Cheong S, Chaichanasakul T, Bezouglaia O, Atti E, Dry SM, Pirih FQ, Aghaloo TL and Tetradis S. Periapical disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in mice. *J Bone Miner Res.* 2013;28(7):1631-1640.



320. Abtahi J, Agholme F and Aspenberg P. Prevention of osteonecrosis of the jaw by mucoperiosteal coverage in a rat model. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2013;42(5):632-636.
321. Maahs MP, Azambuja AA, Campos MM, Salum FG, Cherubini K. Association Between Bisphosphonates And Jaw Osteonecrosis: A Study In Wistar Rats. *Head Neck.* 2010;33:199–207.
322. Conte Neto N, Spolidorio LC, Andrade CR, Alliny SB, Guimaraes M and Marcantonio E Jr. Experimental development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in rodents. *Int J Exp Pathol.* 2013;94(1):65-73.
323. Aguirre JI, Akhter MP, Kimmel DB, Pingel JE, Williams A, Jorgensen M, Kesavalu L and Wronski TJ. Oncologic doses of zoledronic acid induce osteonecrosis of the jaw-like lesions in rice rats (*Oryzomys palustris*) with periodontitis. *J Bone Miner Res.* 2012;27(10):2130-2143.
324. Ali-Erdem M, Cankaya AB, Isler SC, Demircan S, Soluk M, Kasapoglu C, Korhan-Oral C. Extraction socket healing in rats treated with bisphosphonate: Animal model for bisphosphonate related osteonecrosis of jaws in multiple myeloma patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011;16 (7):879-883.
325. Cankaya AB, Erdem MA, Isler SC, Demircan S, Soluk M, Kasapoglu C and Oral CK. Use of cone-beam computerized tomography for evaluation of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in an experimental rat model. *Int J Med Sci.* 2011;8(8):667-672.
326. Tsurushima H, Kokuryo S, Sakaguchi O, Tanaka J and Tominaga K. Bacterial promotion of bisphosphonate-induced osteonecrosis in Wistar rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2013;42(11):1481-1487.
327. Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, Moimas S, Dore F, Pozzato G, Cavalli F, Zanconati F, Contardo L, Giacca M and Di Lenarda R. A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *J Oral Pathol Med.* 2010;39(5):390-396.
328. Nussbaum SR, Younger J, Vandepol CJ, Gagel RF, Zubler MA, Chapman R, Henderson IC and Mallette LE. Single-dose intravenous therapy with pamidronate for

the treatment of hypercalcemia of malignancy: comparison of 30-, 60-, and 90-mg dosages. *Am J Med.* 1993;95(3):297-304.

329. Major P, Lortholary A, Hon J, Abdi E, Mills G, Menssen HD, Yunus F, Bell R, Body J, Quebe-Fehling E and Seaman J. Zoledronic acid is superior to pamidronate in the treatment of hypercalcemia of malignancy: a pooled analysis of two randomized, controlled clinical trials. *J Clin Oncol.* 2001;19(2):558-567.

330. Hillner BE, Ingle JN, Chlebowski RT, Gralow J, Yee GC, Janjan NA, Cauley JA, Blumenstein BA, Albain KS, Lipton A and Brown S. American Society of Clinical Oncology 2003 update on the role of bisphosphonates and bone health issues in women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2003;21(21):4042-4057.

331. Rosen LS, Gordon D, Tchekmedyian NS, Yanagihara R, Hirsh V, Krzakowski M, Pawlicki M, De Souza P, Zheng M, Urbanowitz G, Reitsma D and Seaman J. Long-term efficacy and safety of zoledronic acid in the treatment of skeletal metastases in patients with nonsmall cell lung carcinoma and other solid tumors: a randomized, Phase III, double-blind, placebo-controlled trial. *Cancer.* 2004;100(12):2613-2621.

332. Lipton A. Efficacy and safety of intravenous bisphosphonates in patients with bone metastases caused by metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer.* 2007;7 Suppl 1:S14-20.

333. Dhillon S and Lyseng-Williamson KA. Zoledronic acid: a review of its use in the management of bone metastases of malignancy. *Drugs.* 2008;68(4):507-534.

334. Hess LM, Jeter JM, Benham-Hutchins M and Alberts DS. Factors associated with osteonecrosis of the jaw among bisphosphonate users. *Am J Med.* 2008;121(6):475-483 e473.

335. Boonyapakorn T, Schirmer I, Reichart PA, Sturm I and Massenkeil G. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: prospective study of 80 patients with multiple myeloma and other malignancies. *Oral Oncol.* 2008;44(9):857-869.

336. Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y, Poveda R, Milian MA, Sanchis JM, Silvestre FJ and Scully C. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J Oral Pathol Med.* 2005;34(2):120-123.

337. Lipton A, Theriault RL, Hortobagyi GN, Simeone J, Knight RD, Mellars K, Reitsma DJ, Heffernan M and Seaman JJ. Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer*. 2000;88(5):1082-1090.
338. Ruggiero SL. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): initial discovery and subsequent development. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67(5 Suppl):13-18.
339. Ross JR, Saunders Y, Edmonds PM, Patel S, Broadley KE and Johnston SR. Systematic review of role of bisphosphonates on skeletal morbidity in metastatic cancer. *BMJ*. 2003;327(7413):469.
340. Sonis ST, Watkins BA, Lyng GD, Lerman MA and Anderson KC. Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients. *Oral Oncol*. 2009;45(2):164-172.
341. López-Jornet P, Camacho-Alonso F, Molina-Miñano F, Gómez-García F, Vicente-Ortega V. An experimental study of bisphosphonate-induced jaws osteonecrosis in Sprague-Dawley rats. *J Oral Pathol Med* 2010; 39: 697–702
342. Ruggiero SL, Mehrotra B. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: diagnosis, prevention, and management. *Annu Rev Med*. 2009;60:85-96.
343. Biberoglu S. Primer Osteoporoz Tiplerinin Klinik Özellikleri, Laboratuar Testleri ve Tanısal Yaklaşım, Erkeklerde Osteoporoz. In: Koloğlu S. Osteoporoz. 1. Baskı, Ankara: Ajanstürk Gazetecilik ve matbaacılık. 1998:47–76.
344. Tomat A, Gamba CA, Mandalunis P, De Grandi MC, Somoza J, Friedman S and Zeni S. Changes in bone volume and bone resorption by olpadronate treatment in an experimental model of uremic bone disease. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2005;5(2):174-181.
345. Cho DC, Kim KT, Jeon Y and Sung JK. A synergistic bone sparing effect of curcumin and alendronate in ovariectomized rat. *Acta Neurochir (Wien)*. 2012;154(12):2215-2223.

346. Lespessailles E, Jaffre C, Beaupied H, Nanyan P, Dolleans E, Benhamou CL and Courteix D. Does exercise modify the effects of zoledronic acid on bone mass, microarchitecture, biomechanics, and turnover in ovariectomized rats? *Calcif Tissue Int.* 2009;85(2):146-157.
347. Broulik PD, Rosenkrancova J, Ruzicka P and Sedlacek R. Effect of alendronate administration on bone mineral density and bone strength in castrated rats. *Horm Metab Res.* 2005;37(7):414-418.
348. Christopoulou GE, Stavropoulou A, Anastassopoulos G, Panteliou SD, Papadaki E, Karamanos NK and Panagiotopoulos E. Evaluation of modal damping factor as a diagnostic tool for osteoporosis and its relation with serum osteocalcin and collagen I N-telopeptide for monitoring the efficacy of alendronate in ovariectomized rats. *J Pharm Biomed Anal.* 2006;41(3):891-897.
349. Tamura Y, Miyakoshi N, Itoi E, Abe T, Kudo T, Tsuchida T, Kasukawa Y and Sato K. Long-term effects of withdrawal of bisphosphonate incadronate disodium (YM175) on bone mineral density, mass, structure, and turnover in the lumbar vertebrae of ovariectomized rats. *J Bone Miner Res.* 2001;16(3):541-549.
350. Body JJ, Lichinitser M, Tjulandin S, Garnero P and Bergstrom B. Oral ibandronate is as active as intravenous zoledronic acid for reducing bone turnover markers in women with breast cancer and bone metastases. *Ann Oncol.* 2007;18(7):1165-1171.
351. O'Connell JE, Ikeagwani O and Kearns GJ. A role for C-terminal cross-linking telopeptide (CTX) level to predict the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws (BRONJ) following oral surgery? *Ir J Med Sci.* 2012;181(2):237-242.
352. Zhao X, Xu X, Guo L, Ragaz J, Guo H, Wu J, Shao Z, Zhu J, Guo X, Chen J, Zhu B, Wang Z and Hu X. Biomarker alterations with metronomic use of low-dose zoledronic acid for breast cancer patients with bone metastases and potential clinical significance. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;124(3):733-743.
353. Zhao YY, Xue C, Hou X, Liao H, Li S, Zhao HY, Huang Y, Chen LK, Xu F, Liu JL and Zhang L. Changes of bone resorption marker (NTX) in chemotherapy plus

zoledronic acid versus chemotherapy alone for nasopharyngeal cancer patients with bone metastases. *Eur J Cancer*. 2011;47(6):848-853.

354. Generali D, Dovio A, Tampellini M, Tucci M, Tedoldi S, Torta M, Bonardi S, Allevi G, Aguggini S, Milani M, Harris AL, Bottini A, Dogliotti L, Angeli A and Berruti A. Changes of bone turnover markers and serum PTH after night or morning administration of zoledronic acid in breast cancer patients with bone metastases. *Br J Cancer*. 2008;98(11):1753-1758.

355. Fidan E, Yildiz B, Kavgaci H, Ozdemir F and Aydin F. Effects of zoledronic acid and ibandronic acid on renal functions and calcium, phosphorus and alkaline phosphatase levels in breast cancer patients with bone metastases: a retrospective analysis. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2012;16(2):176-178.

356. Kress BC, Mizrahi IA, Armour KW, Marcus R, Emkey RD and Santora AC, 2nd. Use of bone alkaline phosphatase to monitor alendronate therapy in individual postmenopausal osteoporotic women. *Clin Chem*. 1999;45(7):1009-1017.

357. Price PA. Vitamin K-dependent proteins. In: Cohn DV (Eds.). *Calcium regulation and bone metabolism basic and clinical aspects*. Amsterdam: Elsevier Science; The Netherlands. 1987:p.419–425.

358. Dickson IR. Bone. In: Royce PM, Steinmann B (Eds.). *Connective tissue and its heritable disorders*. New York: Wiley-Liss; 1993:p.249–285.

359. Tüzün Ş. Osteoporozun Tanısında Biyokimyasal Belirteçlerin Yeri. In: Göksoy T (Eds). *Osteoporozda Tanı ve Tedavi*. 1. Baskı, İstanbul: Özlem Grafik Matbaacılık; 2000:p.263–268.

360. Francini F, Pascucci A, Bargagli G, Francini E, Conca R, Miano ST, Martellucci I, Migali C, Gotti G, Fiaschi AI, Cozzolino A and Petrioli R. Effects of intravenous zoledronic acid and oral ibandronate on early changes in markers of bone turnover in patients with bone metastases from non-small cell lung cancer. *Int J Clin Oncol*. 2011;16(3):264-269.

361. Coleman RE, Major P, Lipton A, Brown JE, Lee KA, Smith M, Saad F, Zheng M, Hei YJ, Seaman J and Cook R. Predictive value of bone resorption and formation

markers in cancer patients with bone metastases receiving the bisphosphonate zoledronic acid. *J Clin Oncol.* 2005;23(22):4925-4935.

362. Okabe R, Nakatsuka K, Inaba M, Miki T, Naka H, Masaki H, Moriguchi A and Nishizawa Y. Clinical evaluation of the Elecsys beta-CrossLaps serum assay, a new assay for degradation products of type I collagen C-telopeptides. *Clin Chem.* 2001;47(8):1410-1414.

363. Chul Cho D, Kim KT, Jeon Y, Sung JK. A synergistic bone sparing effect of curcumin and alendronate in ovariectomized rat. *Acta Neurochir* 2012;154:2215–2223.

364. Marx RE, Cillo JE, Jr. and Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(12):2397-2410.

365. Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporosis Int.* 2000;11(supp6): 2-17.

366. Ersöz B. Kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen hormonlar. In: Onat T, Emerk K, Sözmén EY(Eds). *İnsan Biyokimyası* Ankara: Palme Yayıncılık; 2002:p.467-472.

367. Koster JC, Hackeng WH and Mulder H. Diminished effect of etidronate in vitamin D deficient osteopenic postmenopausal women. *Eur J Clin Pharmacol.* 1996;51(2):145-147.

368. Yamanaka M, Tokita A, Kitahara K, Enomoto F, Sawa M. Importance of the understanding of the 25-hydroxyvitamin D status for the alendronate treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2004;19((Suppl 1)):463.

369. Baloch Z, Conte-Devolx B, Demers LM, Feldt-Ras-mussen U, Henry JF. Laboratory medicine practice guide-lines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thy-roid disease. *Thyroid.* 2003;13:3-126.

370. Karga H, Giagourta I, Papaioannou G, Katsichti P, Pardalakis A, Kassi G, Zagoreou A, Triantaphyllopoulou M and Zerva C. Transient changes in thyroid functions tests after zoledronic acid infusion. *Endocr J.* 2011;58(11):969-977.

371. Dicuonzo G, Vincenzi B, Santini D, Avvisati G, Rocci L, Battistoni F, Gavasci M, Borzomati D, Coppola R and Tonini G. Fever after zoledronic acid administration is due to increase in TNF-alpha and IL-6. *J Interferon Cytokine Res.* 2003;23(11):649-654.
372. De Groot LJ. Dangerous dogmas in medicine: The nonthyroidal illness syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84:151-164.
373. Adler SM, Wartofsky L. The nonthyroidal illness syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2007;36(3):657-672.
374. Reinholz GG, Getz B, Pederson L, Sanders ES, Subramaniam M, Ingle JN and Spelsberg TC. Bisphosphonates directly regulate cell proliferation, differentiation, and gene expression in human osteoblasts. *Cancer Res.* 2000;60(21):6001-6007.
375. Fromiguet O and Body JJ. Bisphosphonates influence the proliferation and the maturation of normal human osteoblasts. *J Endocrinol Invest.* 2002;25(6):539-546.
376. Von Knoch F, Jaquier C, Kowalsky M, Schaeren S, Alabre C, Martin I, Rubash HE and Shanbhag AS. Effects of bisphosphonates on proliferation and osteoblast differentiation of human bone marrow stromal cells. *Biomaterials.* 2005;26(34):6941-6949.
377. Khokher MA, Dandona P. Diphosphonates inhibit human osteoblast secretion and proliferation. *Metabolism.* 1989;38(2):184-187.
378. Iwata K, Li J, Follet H, Phipps RJ and Burr DB. Bisphosphonates suppress periosteal osteoblast activity independently of resorption in rat femur and tibia. *Bone.* 2006;39(5):1053-1058.
379. Bedogni A, Blandamura S, Lokmic Z, Palumbo C, Ragazzo M, Ferrari F, Tregnaghi A, Pietrogrande F, Procopio O, Saia G, Ferretti M, Bedogni G, Chiarini L, Ferronato G, Ninfo V, Lo Russo L, Lo Muzio L and Nocini PF. Bisphosphonate-associated jawbone osteonecrosis: a correlation between imaging techniques and histopathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105(3):358-364.

380. Fleisch H. Bisphosphonates--history and experimental basis. *Bone*. 1987;8 Suppl 1:S23-28.
381. Russell RG and Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone*. 1999;25(1):97-106.
382. Thompson K, Rogers MJ, Coxon FP and Crockett JC. Cytosolic entry of bisphosphonate drugs requires acidification of vesicles after fluid-phase endocytosis. *Mol Pharmacol*. 2006;69(5):1624-1632.
383. Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Graham R, Russell G and Rogers MJ. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res*. 1998;13(4):581-589.
384. Bertoldo F, Santini D and Lo Cascio V. Bisphosphonates and osteomyelitis of the jaw: a pathogenic puzzle. *Nat Clin Pract Oncol*. 2007;4(12):711-721.
385. Reszka AA, Rodan GA. Mechanism of action of bisphosphonates. *Curr Osteoporos Rep*. 2003;1(2):45-52.
386. Sato M, Grasser W. Effects of bisphosphonates on isolated rat osteoclasts as examined by reflected light microscopy. *J Bone Miner Res*. 1990;5(1):31-40.
387. Hughes DE, MacDonald BR, Russell RG and Gowen M. Inhibition of osteoclast-like cell formation by bisphosphonates in long-term cultures of human bone marrow. *J Clin Invest*. 1989;83(6):1930-1935.
388. Boonekamp PM, van der Wee-Pals LJ, van Wijk-van Lennep MM, Thesing CW and Bijvoet OL. Two modes of action of bisphosphonates on osteoclastic resorption of mineralized matrix. *Bone Miner*. 1986;1(1):27-39.
389. Cho YA, Yoon HJ, Lee JI, Hong SP and Hong SD. Histopathological features of bisphosphonate-associated osteonecrosis: findings in patients treated with partial mandibulectomies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;114(6):785-791.



## **ÖZGEÇMİŞ**

1980 yılında Gaziantep'in Nizip ilçesinde doğdum. İlkokulu Ali Alkan ilkokulunda, orta ve lise öğrenimimi ise Hasan Çapan Anadolu Lisesinde tamamladım. 1999 yılında Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde öğrenimime başladım. 2004 yılında mezun olduktan sonra beş yıl serbest diş hekimi olarak çalıştım. 2010 yılında Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalında doktora eğitime başladım. Halen aynı ana bilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

**SaimYANIK**

## 8.KAYNAKLAR

1. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE and Mehrotra B. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--2009 update. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(5 Suppl):2-12.
2. Ruggiero SL, Carlson ER and Assael LA. Comprehensive review of bisphosphonate therapy: implications for the oral and maxillofacial surgery patient. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(5 Suppl):1.
3. Akarslan Z KS. Kemik Metastazi Yapmış Prostat

### Kanseri Tedavisinde Kullanılan Bifosfonata Bağlı Olarak Çene

Kemiklerinde Gelişen Osteonekroz: Vaka Raporu ve Literatür Derlemesi. *Atatürk Üniv Dis Hek Fak Derg.* 2008;18(3):105-110.

4. Lobato JV MA, Rodrigues JM et al. ., . Jaw avascular osteonecrosis after treatment of multiple myeloma with zoledronate. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008; 61(1):99-106.
5. Rubin CT and Lanyon LE. Regulation of bone mass by mechanical strain magnitude. *Calcif Tissue Int.* 1985;37(4):411-417.
6. Berenson JR, Rosen LS, Howell A, Porter L, Coleman RE, Morley W, Dreicer R, Kross SA, Lipton A and Seaman JJ. Zoledronic acid reduces skeletal-related events in patients with osteolytic metastases. *Cancer.* 2001;91(7):1191-1200.
7. . Lipton A, Theriault, RL., Hortobagyi, GN., . Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer J.* (2000).88:1082– 1090.
8. Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H, Thompson DD, Golub E and Rodan GA. Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest.* 1991;88(6):2095-2105.
9. Kimmel D, , . Mechanism of action, pharmacokinetic and pharmacodynamic profile, and clinical applications of nitrogen-containing bisphosphonates. *J Dent Res,* . 2009;86:1022–1033.
10. Bilezikian J. Osteonecrosis of the jaw – do bisphosphonates pose a risk? *N Engl J Med.* 2006; 355:2278–2281.
11. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61(9):1115-1117.
12. Rizzoli R, Burlet N, Cahall D, Delmas PD, Eriksen EF, Felsenberg D, Grbic J, Jontell M, Landesberg R, Laslop A, Wollenhaupt M, Papapoulos S, Sezer O, Sprafka M and Reginster JY. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonate treatment for osteoporosis. *Bone.* 2008;42(5):841-847.
13. 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 and Shane E. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res.* 2007;22(10):1479-1491.
14. Migliorati CA SM, Elting LS. . Bisphosphonate-associated osteonecrosis: a long-term complication of bisphosphonate treatment. *Lancet Oncol.* 2006:508–514.
15. Marx R, Sawatari, Y., Fortin, M., Broumand, V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis / osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005:1567–1575.
16. Lesclous P, Abi Najm S, Carrel JP, Baroukh B, Lombardi T, Willi JP, Rizzoli R, Saffar JL and Samson J. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a key role of inflammation? *Bone.* 2009;45(5):843-852.

17. Akintoye SO, Lam T, Shi S, Brahim J, Collins MT and Robey PG. Skeletal site-specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals. *Bone*. 2006;38(6):758-768.
  18. Pazianas M, Miller P, Blumentals WA, Bernal M and Kothawala P. A review of the literature on osteonecrosis of the jaw in patients with osteoporosis treated with oral bisphosphonates: prevalence, risk factors, and clinical characteristics. *Clin Ther*. 2007;29(8):1548-1558.
  19. Shimura K, Shimazaki, C., Taniguchi. Hyperbaric oxygen in addition to antibiotic therapy is effective for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw in a patient with multiple myeloma. *Int J Hematol*. 2006:343–345.
  20. Freiburger JJ, Padilla-Burgos R, Chhoeu AH, Kraft KH, Boneta O, Moon RE and Piantadosi CA. Hyperbaric oxygen treatment and bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw: a case series. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007;65(7):1321-1327.
  21. Nastro E, Musolino, C., Allegra, A. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma and breast cancer. *Acta Haematol*. 2007:181–187.
  22. O’Ryan F, Khoury, S., Liao, W. Intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: bone scintigraphy as an early indicator,. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009:1363–1372.
  23. Engroff S, Kim, DD. Treating bisphosphonate osteonecrosis of the jaws: is there a role for resection and vascularised reconstruction? *J Oral Maxillofac Surg*. 2007:2374–2385.
  24. Nocini PF, Saia G, Bettini G, Ragazzo M, Blandamura S, Chiarini L and Bedogni A. Vascularized fibula flap reconstruction of the mandible in bisphosphonate-related osteonecrosis. *Eur J Surg Oncol*. 2009;35(4):373-379.
  25. Atas A ÇA, Soran M.. . D Vitamin Metabolizması ve Rikets Hastalığı. *Bakırköy Tıp Dergisi*. 2008;4:1-7.
  26. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6 Suppl):1689S-1696S.
  27. Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M, Newmark HL, Giovannucci E, Wei M and Holick MF. Vitamin D and prevention of colorectal cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;97(1-2):179-194.
  28. Garland CF, Garland FC, Gorham ED, Lipkin M, Newmark H, Mohr SB and Holick MF. The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health*. 2006;96(2):252-261.
  29. Chesney RW. Vitamin D and The Magic Mountain: the anti-infectious role of the vitamin. *J Pediatr*. 2010;156(5):698-703.
  30. Jones G. Metabolism and biomarkers of vitamin D. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 2012;243:7-13.
  31. Brannon PM, Yetley EA, Bailey RL and Picciano MF. Overview of the conference "Vitamin D and Health in the 21st Century: an Update". *Am J Clin Nutr*. 2008;88(2):483S-490S.
  32. Armas LA, Hollis BW and Heaney RP. Vitamin D<sub>2</sub> is much less effective than vitamin D<sub>3</sub> in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(11):5387-5391.
  33. editor. *BMCCS. Bone Mechanics. The biology and composition of bone* Florida: CRC press. 1989:.2–13.
  34. Baron ReF, M.1., Ed. *Lippincottwilliams & Wilkins*, , chap.1. Anatomy and ultrastructure of bone, in *Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism*. . 1999.
  35. S. MRaR. Development of nanocomposites for bone grafting. . *Composites Science and Technology*,. 2005);65:2385-2406.
  36. J. JLC. *Basic Histology*. Tenth Edition: McGraw-Hill Companies. 2003:142-152.
  37. Özyiğit A. , Deneysel Olarak Oluşturulan Defektlerde Titanyum Partikülleri ve Değişik Greft Materyallerinin Kemik İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması. *Dışhekimliği Bilimleri Merkezi*
- Ağız Dış Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programı Doktora Tezi, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 2007.
38. [http://vimed.s.ktu.edu.tr/syarar/public\\_html/dersnotlari/kemik.pdf](http://vimed.s.ktu.edu.tr/syarar/public_html/dersnotlari/kemik.pdf).
  39. M.T A. Genel Histoloji. In: Akay M.T. editor. *Kemik dokusu*. 5nd ed. Ankara: Palme yayıncılık. 2001:126–149.

40. <http://www.aof.edu.tr/kitap/EHSM/1219/unite07.pdf>.
41. Elçi A. Postmenapozal Kadınlarda Serum Total Osteokalsin Ve Gamma Karboksi Glutamat Kalıntısı Taşımayan Osteokalsin Oranı ile Kemik Mineral Dansitesi Ölçümünün Karşılaştırılması. T.C.Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bölümü, Uzmanlık Tezi, İstanbul. 2004.
42. Bloom W FD. Textbook of Histology. Japan: W. B. Saunders Company. 1975:244-282.
43. Ovalle WK NP. Netter's Essential Histology.Saunders Elsevier. 2009:131-156.
44. M. Doblare JMG, M.J. Gomez. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. Engineering Fracture Mechanics 2004;71:1809–1840.
45. Şimşek A. Distraksiyon Osteogenezisi, Dişhekimliği Bilimleri Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Semineri, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 1998.
46. Langer R. VJP. Tissue engineering. Science. 1993:920-926.
47. Garant P. Oral Cells And Tissues. Quintessence Publishing Co. Inc. Illinois: Chapter 7-8. 2003
48. Rubin E FJL. Pathology. Philadelphia: JB Lippencott. 1988.
49. D.H. C. Ham's Histology 9th Edition, J.B. Lippincott Company, Philadelphia. 1987.
50. Janguiera LC, Carneiro, J., Kelley, R.O. . Temel Histoloji. 8.Baskı. İstanbul : Barış Kitabevi Ltd. Şti. . 1998:132-151.
51. Ehrlich PJ and Lanyon LE. Mechanical strain and bone cell function: a review. Osteoporos Int. 2002;13(9):688-700.
52. Buckwalter J.A. GMJ, Cooper R.R., Recker R. . Bone biology. Part 1. Structure, blood supply, cells, matrix and mineralization. J Bone Joint Surg Am. 1995; 77:1256.
53. Erdoğan G. Temel ve Klinik Endokrinoloji. Özyurt matbaacılık, 2.baskı, Ankara,. 2005.
54. Ballı B. Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. Bitirme tezi. İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi. İstanbul. 2004.
55. Burchardt H EW. transplantation of bone. urg Clin North Am 1978:403–427.
56. DePalma AF RR, Lewinnek GE, . Anterior interbody fusion for severe cervical disc degeneration. . Surg Gynecol Obstet. 1972:755–758.
57. Yewle JNBBFDBTB, University of Kentucky, Chemistry, Doktora tezi, 217 sayfa, Lexington,(Prof.Dr. Leonidas Bachas).
58. Mc Cormick RK. Altern Med Rev. Osteoporosis: integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility. 2007;12:113–145.
59. Moss DW. Diagnostic aspects of alkaline phosphatase and its isoenzymes. Clin Biochem. 1987;20(4):225-230.
60. Wechsel HW, Petri E and Bichler KH. Skeletal alkaline phosphatase: a marker for individual follow-up in patients with advanced prostatic cancer. Urol Int. 1997;58(2):80-83.
61. Kress BC MI, Armour KW, Marcus R, Emkey RD, Santora AC. . Use of bone alkaline phosphatase to monitor alendronate therapy in individual postmenopausal osteoporotic women. Clin Chem. 1999;45:1009–1017.
62. H H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. Clin Chim Acta. 1990;86:133–150.
63. Green S, Anstiss CL and Fishman WH. Automated differential isoenzyme analysis. II. The fractionation of serum alkaline phosphatases into "liver", "intestinal" and "other" components. Enzymologia. 1971;41(1):9-26.
64. Watts NB. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. Clin Chem. 1999;45(8 Pt 2):1359-1368.

65. Farley JR, Chesnut CH, 3rd and Baylink DJ. Improved method for quantitative determination in serum of alkaline phosphatase of skeletal origin. *Clin Chem.* 1981;27(12):2002-2007.
66. Liu SH, Yang RS, al-Shaikh R and Lane JM. Collagen in tendon, ligament, and bone healing. A current review. *Clin Orthop Relat Res.* 1995(318):265-278.
67. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev.* 2005;26(4):97-122.
68. Luftner D, Jozereau D, Schildhauer S, Geppert R, Muller C, Fiolka G, Wernecke KD and Possinger K. PINP as serum marker of metastatic spread to the bone in breast cancer patients. *Anticancer Res.* 2005;25(3A):1491-1499.
69. PA P. Vitamin K-dependent proteins. In: Cohn DV (ed) *Calcium regulation and bone metabolism basic and clinical aspects.* Amsterdam, Elsevier Science, The Netherlands. 1987:419-425.
70. IR D. Bone. In: Royce PM, Steinmann B (eds) *Connective tissue and its heritable disorders.* Wiley-Liss, New York. 1993:249-285.
71. Price PA. Vitamin K-dependent formation of bone Gla protein (osteocalcin) and its function. *Vitam Horm.* 1985;42:65-108.
72. Riggs BL, Tsai KS and Mann KG. Effect of acute increases in bone matrix degradation on circulating levels of bone-Gla protein. *J Bone Miner Res.* 1986;1(6):539-542.
73. Cremers S and Garnero P. Biochemical markers of bone turnover in the clinical development of drugs for osteoporosis and metastatic bone disease: potential uses and pitfalls. *Drugs.* 2006;66(16):2031-2058.
74. DR. E. Collagen cross-linking amino acids. *Methods Enzymol.* 1987;144:115-139.
75. S. B. Primer Osteoporoz Tiplerinin Klinik Özellikleri, Laboratuar Testleri ve Tanısal Yaklaşım, Erkeklerde Osteoporoz. In: Koloğlu S. *Osteoporoz. 1. Baskı,* Ankara: Ajanstürk Gazetecilik ve matbaacılık. 1998:47-76.
76. Abe Y, Ishikawa H and Fukao A. Higher efficacy of urinary bone resorption marker measurements in assessing response to treatment for osteoporosis in postmenopausal women. *Tohoku J Exp Med.* 2008;214(1):51-59.
77. Clemens JD HM, Singer FR Evidence that serum NTx (collagen-type I N-telopeptides) can act as an immunochemical marker of bone resorption. *Clin Chem.* 1997; 43:2058-2063.
78. Fledelius C, Johnsen AH, Cloos PA, Bonde M and Qvist P. Characterization of urinary degradation products derived from type I collagen. Identification of a beta-isomerized Asp-Gly sequence within the C-terminal telopeptide (alpha1) region. *J Biol Chem.* 1997;272(15):9755-9763.
79. Gunja-Smith Z and Boucek RJ. Collagen cross-linking compounds in human urine. *Biochem J.* 1981;197(3):759-762.
80. Halleen JM, Alatalo SL, Janckila AJ, Woitge HW, Seibel MJ and Vaananen HK. Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a specific and sensitive marker of bone resorption. *Clin Chem.* 2001;47(3):597-600.
81. Garnero P and Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998;27(2):303-323.
82. Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ and Stepan J. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int.* 2000;11 Suppl 6:S2-17.
83. Deacon AC HP, Hesp R, Green JR, Tellez M, Reeve J. Estimation of whole body bone resorption rate: a comparison of urinary total hydroxyproline excretion with two radioisotopic tracer methods in osteoporosis. *Clin Chim Acta.* 1997;166:297-306.
84. Wilson PS, Kleerekoper M, Bone H and Parfitt AM. Urinary total hydroxyproline measured by HPLC: comparison of spot and timed urine collections. *Clin Chem.* 1990;36(2):388-389.
85. Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev.* 1998;19(1):80-100.
86. Bassett CA, Donath A, Macagno F, Preisig R, Fleisch H and Francis MD. Diphosphonates in the treatment of myositis ossificans. *Lancet.* 1969;2(7625):845.
87. KR. W. The Bisphosphonate story: From detergents to bone disease. *Journal of Chemical Education.* 2004;81(10):1406-1407.

88. Fogelman I, Bessent RG, Turner JG, Citrin DL, Boyle IT and Greig WR. The use of whole-body retention of Tc-99m diphosphonate in the diagnosis of metabolic bone disease. *J Nucl Med.* 1978;19(3):270-275.
89. Owens G, Jackson R and Lewiecki EM. An integrated approach: bisphosphonate management for the treatment of osteoporosis. *Am J Manag Care.* 2007;13 Suppl 11:S290-308; quiz S309-212.
90. H. N. Morphology, Function, and Differentiation of Bone Cells. *Journal of Hard Tissue Biology.* 2007; 16(1):15-22.
91. Russell RG. Bisphosphonates: from bench to bedside. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1068:367-401.
92. Rodan GA and Reszka AA. Bisphosphonate mechanism of action. *Curr Mol Med.* 2002;2(6):571-577.
93. Rodan GA and Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest.* 1996;97(12):2692-2696.
94. Russell RG, Muhlbauer RC, Bisaz S, Williams DA and Fleisch H. The influence of pyrophosphate, condensed phosphates, phosphonates and other phosphate compounds on the dissolution of hydroxyapatite in vitro and on bone resorption induced by parathyroid hormone in tissue culture and in thyroparathyroidectomised rats. *Calcif Tissue Res.* 1970;6(3):183-196.
95. Frith JC, Monkkonen J, Blackburn GM, Russell RG and Rogers MJ. Clodronate and liposome-encapsulated clodronate are metabolized to a toxic ATP analog, adenosine 5'-(beta, gamma-dichloromethylene) triphosphate, by mammalian cells in vitro. *J Bone Miner Res.* 1997;12(9):1358-1367.
96. Russell RG, Rogers MJ, Frith JC, Luckman SP, Coxon FP, Benford HL, Croucher PI, Shipman C and Fleisch HA. The pharmacology of bisphosphonates and new insights into their mechanisms of action. *J Bone Miner Res.* 1999;14 Suppl 2:53-65.
97. Luckman SP, Coxon FP, Ebetino FH, Russell RG and Rogers MJ. Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J774 macrophages. *J Bone Miner Res.* 1998;13(11):1668-1678.
98. Oliff A. Farnesyltransferase inhibitors: targeting the molecular basis of cancer. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1423(3):C19-30.
99. Alakangas A, Selander K, Mulari M, Halleen J, Lehenkari P, Monkkonen J, Salo J and Vaananen K. Alendronate disturbs vesicular trafficking in osteoclasts. *Calcif Tissue Int.* 2002;70(1):40-47.
100. Gober HJ, Kistowska M, Angman L, Jenö P, Mori L and De Libero G. Human T cell receptor gamma/delta cells recognize endogenous mevalonate metabolites in tumor cells. *J Exp Med.* 2003;197(2):163-168.
101. Mönkkönen H LP, Kellinsalmi M et al. A new mechanism of action for bisphosphonates: appi dedicated cytotoxicity of N-BPs. *Bone.* 2004;34:66-67.
102. Dunford JE TK, Coxon FP et al. 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* 2001;296:235-242.
103. Green JR, Muller K and Jaeggi KA. Preclinical pharmacology of CGP 42'446, a new, potent, heterocyclic bisphosphonate compound. *J Bone Miner Res.* 1994;9(5):745-751.
104. Chesnut CH, 3rd, McClung MR, Ensrud KE, Bell NH, Genant HK, Harris ST, Singer FR, Stock JL, Yood RA, Delmas PD and et al. Alendronate treatment of the postmenopausal osteoporotic woman: effect of multiple dosages on bone mass and bone remodeling. *Am J Med.* 1995;99(2):144-152.
105. Miller PD, McClung MR, Macovei L, Stakkestad JA, Luckey M, Bonvoisin B, Reginster JY, Recker RR, Hughes C, Lewiecki EM, Felsenberg D, Delmas PD, Kendler DL, Bolognese MA, Mairon N and

- Cooper C. Monthly oral ibandronate therapy in postmenopausal osteoporosis: 1-year results from the MOBILE study. *J Bone Miner Res.* 2005;20(8):1315-1322.
106. Harris ST, Watts NB, Genant HK, McKeever CD, Hangartner T, Keller M, Chesnut CH, 3rd, Brown J, Eriksen EF, Hoesly MS, Axelrod DW and Miller PD. Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *JAMA.* 1999;282(14):1344-1352.
107. McClung MR, Geusens P, Miller PD, Zippel H, Bensen WG, Roux C, Adami S, Fogelman I, Diamond T, Eastell R, Meunier PJ and Reginster JY. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. Hip Intervention Program Study Group. *N Engl J Med.* 2001;344(5):333-340.
108. Mellstrom DD, Sorensen OH, Goemaere S, Roux C, Johnson TD and Chines AA. Seven years of treatment with risedronate in women with postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int.* 2004;75(6):462-468.
109. Wasnich RD and Miller PD. Antifracture efficacy of antiresorptive agents are related to changes in bone density. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(1):231-236.
110. Watts NB, Cooper C, Lindsay R, Eastell R, Manhart MD, Barton IP, van Staa TP and Adachi JD. Relationship between changes in bone mineral density and vertebral fracture risk associated with risedronate: greater increases in bone mineral density do not relate to greater decreases in fracture risk. *J Clin Densitom.* 2004;7(3):255-261.
111. Bauer DC, Garnero P, Hochberg MC, Santora A, Delmas P, Ewing SK and Black DM. Pretreatment levels of bone turnover and the antifracture efficacy of alendronate: the fracture intervention trial. *J Bone Miner Res.* 2006;21(2):292-299.
112. Green JR. Bisphosphonates: preclinical review. *Oncologist.* 2004;9 Suppl 4:3-13.
113. Tassone P, Tagliaferri P, Viscomi C, Palmieri C, Caraglia M, D'Alessandro A, Galea E, Goel A, Abbruzzese A, Boland CR and Venuta S. Zoledronic acid induces antiproliferative and apoptotic effects in human pancreatic cancer cells in vitro. *Br J Cancer.* 2003;88(12):1971-1978.
114. Benford HL, McGowan NW, Helfrich MH, Nuttall ME and Rogers MJ. Visualization of bisphosphonate-induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone.* 2001;28(5):465-473.
115. Senaratne SG, Mansi JL and Colston KW. The bisphosphonate zoledronic acid impairs Ras membrane [correction of impairs membrane] localisation and induces cytochrome c release in breast cancer cells. *Br J Cancer.* 2002;86(9):1479-1486.
116. Magnetto S, Boissier S, Delmas PD and Clezardin P. Additive antitumor activities of taxoids in combination with the bisphosphonate ibandronate against invasion and adhesion of human breast carcinoma cells to bone. *Int J Cancer.* 1999;83(2):263-269.
117. Boissier S, Peyruchaud O et al. Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *Cancer Res.* 2000;60:2949-2954.
118. Heikkila P, Teronen O, Moilanen M, Konttinen YT, Hanemaaijer R, Laitinen M, Maisi P, van der Pluijm G, Bartlett JD, Salo T and Sorsa T. Bisphosphonates inhibit stromelysin-1 (MMP-3), matrix metalloelastase (MMP-12), collagenase-3 (MMP-13) and enamelysin (MMP-20), but not urokinase-type plasminogen activator, and diminish invasion and migration of human malignant and endothelial cell lines. *Anticancer Drugs.* 2002;13(3):245-254.
119. Corey E, Brown LG, Quinn JE, Poot M, Roudier MP, Higano CS and Vessella RL. Zoledronic acid exhibits inhibitory effects on osteoblastic and osteolytic metastases of prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2003;9(1):295-306.
120. Pickering LM, Colston KW. Adhesion of breast cancer cells to extracellular matrices is inhibited by zoledronic

acid and enhanced by aberrant Ras signalling.. Proc

Am Soc Clin Oncol. 2003;;22:863.

121. Virtanen SS, Vaananen HK, Harkonen PL and Lakkakorpi PT. Alendronate inhibits invasion of PC-3 prostate cancer cells by affecting the mevalonate pathway. *Cancer Res.* 2002;62(9):2708-2714.

122. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, Bellahcene A, Devy L, Foidart JM, Castronovo V and Green JR. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;302(3):1055-1061.

123. Croucher PI, De Hendrik R, Perry MJ, Hijzen A, Shipman CM, Lippitt J, Green J, Van Marck E, Van Camp B and Vanderkerken K. Zoledronic acid treatment of 5T2MM-bearing mice inhibits the development of myeloma bone disease: evidence for decreased osteolysis, tumor burden and angiogenesis, and increased survival. *J Bone Miner Res.* 2003;18(3):482-492.

124. Fournier P, Boissier S, Filleur S, Guglielmi J, Cabon F, Colombel M and Clezardin P. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res.* 2002;62(22):6538-6544.

125. Bezzi M, Hasmim M, Bieler G, Dormond O and Ruegg C. Zoledronate sensitizes endothelial cells to tumor necrosis factor-induced programmed cell death: evidence for the suppression of sustained activation of focal adhesion kinase and protein kinase B/Akt. *J Biol Chem.* 2003;278(44):43603-43614.

126. Pecheur I, Peyruchaud O, Serre CM, Guglielmi J, Voland C, Bourre F, Margue C, Cohen-Solal M, Buffet A, Kieffer N and Clezardin P. Integrin alpha(v)beta3 expression confers on tumor cells a greater propensity to metastasize to bone. *FASEB J.* 2002;16(10):1266-1268.

127. Welch DR HJ, Samant RS et al. .The small molecule

$\alpha v \beta 3$  antagonist (S247) inhibits MDA-MB-435 breast cancer

metastasis to bone. *Oncology* 2003;;17:18.

128. Santini D, Vincenzi B, Dicuonzo G, Avvisati G, Massacesi C, Battistoni F, Gavasci M, Rocci L, Tirindelli MC, Altomare V, Tocchini M, Bonsignori M and Tonini G. Zoledronic acid induces significant and long-lasting modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2003;9(8):2893-2897.

129. Yood RA, Emani S, Reed JI, Lewis BE, Charpentier M and Lydick E. Compliance with pharmacologic therapy for osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2003;14(12):965-968.

130. Carr AJ, Thompson PW and Cooper C. Factors associated with adherence and persistence to bisphosphonate therapy in osteoporosis: a cross-sectional survey. *Osteoporos Int.* 2006;17(11):1638-1644.

131. Siris ES, Harris ST, Rosen CJ, Barr CE, Arvesen JN, Abbott TA and Silverman S. Adherence to bisphosphonate therapy and fracture rates in osteoporotic women: relationship to vertebral and nonvertebral fractures from 2 US claims databases. *Mayo Clin Proc.* 2006;81(8):1013-1022.

132. Boivin GY, Chavassieux PM, Santora AC, Yates J and Meunier PJ. Alendronate increases bone strength by increasing the mean degree of mineralization of bone tissue in osteoporotic women. *Bone.* 2000;27(5):687-694.

133. Rossouw JE AG, Prentice RL, et al. . Writing Group for the Women's Health Initiative

Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women:

principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. . *JAMA* 2002;;288

((3):):321-333.

134. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, Bauer DC, Genant HK, Haskell WL, Marcus R, Ott SM, Torner JC, Quandt SA, Reiss TF and Ensrud KE. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet.* 1996;348(9041):1535-1541.



135. Liberman UA, Weiss SR, Broll J, Minne HW, Quan H, Bell NH, Rodriguez-Portales J, Downs RW, Jr., Dequeker J and Favus M. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *N Engl J Med.* 1995;333(22):1437-1443.
136. Delmas PD, Recker RR, Chesnut CH, 3rd, Skag A, Stakkestad JA, Emkey R, Gilbride J, Schimmer RC and Christiansen C. Daily and intermittent oral ibandronate normalize bone turnover and provide significant reduction in vertebral fracture risk: results from the BONE study. *Osteoporos Int.* 2004;15(10):792-798.
137. Riggs BL and Melton LJ, 3rd. Bone turnover matters: the raloxifene treatment paradox of dramatic decreases in vertebral fractures without commensurate increases in bone density. *J Bone Miner Res.* 2002;17(1):11-14.
138. Bone HG, Devogelaer JP, et al. Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2004;350((12)):1189-1199.
139. Orwoll E, Ettinger M, Weiss S, Miller P, Kendler D, Graham J, Adami S, Weber K, Lorenc R, Pietschmann P, Vandormael K and Lombardi A. Alendronate for the treatment of osteoporosis in men. *N Engl J Med.* 2000;343(9):604-610.
140. Finkelstein JS, Burnett SM, et al. Effects of teriparatide, alendronate, or both on bone turnover in osteoporotic men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 91(8):2882-2887.
141. Kurland ES, Heller SL, Diamond B, McMahon DJ, Cosman F and Bilezikian JP. The importance of bisphosphonate therapy in maintaining bone mass in men after therapy with teriparatide [human parathyroid hormone(1-34)]. *Osteoporos Int.* 2004;15(12):992-997.
142. 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 and Cummings SR. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 2007;356(18):1809-1822.
143. Lyles KW, Colon-Emeric CS, Magaziner JS, Adachi JD, Pieper CF, Mautalen C, Hyldstrup L, Recknor C, Nordsletten L, Moore KA, Laveccchia C, Zhang J, Mesenbrink P, Hodgson PK, Abrams K, Orloff JJ, Horowitz Z, Eriksen EF and Boonen S. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture. *N Engl J Med.* 2007;357(18):1799-1809.
144. McClung M, Miller P, et al. Intravenous zoledronic acid 5 mg in the treatment of postmenopausal women with low bone density previously treated with alendronate. *Bone* 2007 Jul; ;41 ((1)):122-128.
145. Whyte MP. Clinical practice. Paget's disease of bone. *N Engl J Med.* 2006;355(6):593-600.
146. Siris E, Weinstein RS, Altman R, Conte JM, Favus M, Lombardi A, Lyles K, McIlwain H, Murphy WA, Jr., Reda C, Rude R, Seton M, Tiegs R, Thompson D, Tucci JR, Yates AJ and Zimering M. Comparative study of alendronate versus etidronate for the treatment of Paget's disease of bone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(3):961-967.
147. Siris ES, Chines AA, Altman RD, Brown JP, Johnston CC, Jr., Lang R, McClung MR, Mallette LE, Miller PD, Ryan WG, Singer FR, Tucci JR, Eusebio RA and Bekker PJ. Risedronate in the treatment of Paget's disease of bone: an open label, multicenter study. *J Bone Miner Res.* 1998;13(6):1032-1038.
148. Siris ES. Perspectives: a practical guide to the use of pamidronate in the treatment of Paget's disease. *J Bone Miner Res.* 1994;9(3):303-304.
149. Reid IR, Miller P, Lyles K, Fraser W, Brown JP, Saidi Y, Mesenbrink P, Su G, Pak J, Zelenakas K, Luchi M, Richardson P and Hosking D. Comparison of a single infusion of zoledronic acid with risedronate for Paget's disease. *N Engl J Med.* 2005;353(9):898-908.

150. Body J. Treatment and prevention of bone metastases and myeloma in bone disease. In: Favus, MJ., editor. *Primer on the Metabolic Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 2006; 6(383-390).
151. Lipton A TR, Hortobagyi GN, et al. . Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer Lett*. 2000;88(5):1082–1090.
152. Clemons MJ, Dranitsaris G, Ooi WS, Yogendran G, Sukovic T, Wong BY, Verma S, Pritchard KI, Trudeau M and Cole DE. Phase II trial evaluating the palliative benefit of second-line zoledronic acid in breast cancer patients with either a skeletal-related event or progressive bone metastases despite first-line bisphosphonate therapy. *J Clin Oncol*. 2006;24(30):4895-4900.
153. Body JJ, Diel IJ, Lichinitser MR, Kreuser ED, Dornoff W, Gorbunova VA, Budde M and Bergstrom B. Intravenous ibandronate reduces the incidence of skeletal complications in patients with breast cancer and bone metastases. *Ann Oncol*. 2003;14(9):1399-1405.
154. Body JJ, Diel IJ, Bell R, Pecherstorfer M, Lichinitser MR, Lazarev AF, Tripathy D and Bergstrom B. Oral ibandronate improves bone pain and preserves quality of life in patients with skeletal metastases due to breast cancer. *Pain*. 2004;111(3):306-312.
155. Powles T, Paterson S, Kanis JA, McCloskey E, Ashley S, Tidy A, Rosenqvist K, Smith I, Ottestad L, Legault S, Pajunen M, Nevantaus A, Mannisto E, Suovuori A, Atula S, Nevalainen J and Pylkkanen L. Randomized, placebo-controlled trial of clodronate in patients with primary operable breast cancer. *J Clin Oncol*. 2002;20(15):3219-3224.
156. Khan MN and Khan AA. Cancer treatment-related bone loss: a review and synthesis of the literature. *Curr Oncol*. 2008;15(Suppl 1):S30-40.
157. Gnant MF MB, Luschin-Ebengreuth G, et al. Zoledronic acid prevents cancer treatment-induced bone loss in premenopausal women receiving adjuvant endocrine therapy for hormone-responsive breast cancer: a report from the Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group. *J Clin Oncol*. 2007 Mar; 1;25(7):820–828.
158. Confavreux CB, Fontana A, Guastalla JP, Munoz F, Brun J and Delmas PD. Estrogen-dependent increase in bone turnover and bone loss in postmenopausal women with breast cancer treated with anastrozole. Prevention with bisphosphonates. *Bone*. 2007;41(3):346-352.
159. Garnerio P, Buchs N, Zekri J, Rizzoli R, Coleman RE and Delmas PD. Markers of bone turnover for the management of patients with bone metastases from prostate cancer. *Br J Cancer*. 2000;82(4):858-864.
160. Saad F, Gleason DM, Murray R, Tchekmedyian S, Venner P, Lacombe L, Chin JL, Vinholes JJ, Goas JA and Zheng M. Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(11):879-882.
161. Smith MR, McGovern FJ, Zietman AL, Fallon MA, Hayden DL, Schoenfeld DA, Kantoff PW and Finkelstein JS. Pamidronate to prevent bone loss during androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *N Engl J Med*. 2001;345(13):948-955.
162. Michaelson MD, Kaufman DS, Lee H, McGovern FJ, Kantoff PW, Fallon MA, Finkelstein JS and Smith MR. Randomized controlled trial of annual zoledronic acid to prevent gonadotropin-releasing hormone agonist-induced bone loss in men with prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(9):1038-1042.
163. Ishizaka K, Machida T, Kobayashi S, Kanbe N, Kitahara S and Yoshida K. Preventive effect of risedronate on bone loss in men receiving androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *Int J Urol*. 2007;14(12):1071-1075.
164. Berenson JR, Lichtenstein A, Porter L, Dimopoulos MA, Bordoni R, George S, Lipton A, Keller A, Ballester O, Kovacs MJ, Blacklock HA, Bell R, Simeone J, Reitsma DJ, Heffernan M, Seaman J and

- Knight RD. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. Myeloma Aredia Study Group. *N Engl J Med*. 1996;334(8):488-493.
165. Rosen LS, Gordon D, Kaminski M, Howell A, Belch A, Mackey J, Apffelstaedt J, Hussein M, Coleman RE, Reitsma DJ, Seaman JJ, Chen BL and Ambros Y. Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial. *Cancer J*. 2001;7(5):377-387.
166. Lacy MQ DA, Gertz MA, et al. Mayo Clinic consensus statement for the use of bisphosphonates in multiple myeloma. *Mayo Clin Proc*. 2006;81(8):1047–1053.
167. BGM. D. Use of bisphosphonates in multiple myeloma: IMWG response to Mayo Clinic consensus statement [letter]. *Mayo Clin Proc*. 2007;82(4):516–517.
168. Lipton A, Zheng M and Seaman J. Zoledronic acid delays the onset of skeletal-related events and progression of skeletal disease in patients with advanced renal cell carcinoma. *Cancer*. 2003;98(5):962-969.
169. Glorieux FH. Experience with bisphosphonates in osteogenesis imperfecta. *Pediatrics*. 2007;119 Suppl 2:S163-165.
170. Rauch F, Travers R, Plotkin H and Glorieux FH. The effects of intravenous pamidronate on the bone tissue of children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *J Clin Invest*. 2002;110(9):1293-1299.
171. Cho TJ, Choi IH, Chung CY, Yoo WJ, Park MS and Park YK. Efficacy of oral alendronate in children with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr Orthop*. 2005;25(5):607-612.
172. DiMeglio LA and Peacock M. Two-year clinical trial of oral alendronate versus intravenous pamidronate in children with osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Res*. 2006;21(1):132-140.
173. Akcay T, Turan S, Guran T and Bereket A. Alendronate treatment in children with osteogenesis imperfecta. *Indian Pediatr*. 2008;45(2):105-109.
174. Zeitlin L, Fassier F and Glorieux FH. Modern approach to children with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr Orthop B*. 2003;12(2):77-87.
175. Munns CF, Rauch F, Travers R and Glorieux FH. Effects of intravenous pamidronate treatment in infants with osteogenesis imperfecta: clinical and histomorphometric outcome. *J Bone Miner Res*. 2005;20(7):1235-1243.
176. Ward L, Tricco AC, Phuong P, Cranney A, Barrowman N, Gaboury I, Rauch F, Tugwell P and Moher D. Bisphosphonate therapy for children and adolescents with secondary osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007(4):CD005324.
177. LK. B. Consensus and controversy regarding osteoporosis in the pediatric population. *Endocr Pract* 2007;13(5):513–520.
178. Papapoulos SE and Cremers SC. Prolonged bisphosphonate release after treatment in children. *N Engl J Med*. 2007;356(10):1075-1076.
179. Munns CF RF, Ward L, Glorieux FH. . Maternal and fetal outcome after long-term pamidronate treatment before conception: a report of two cases. *J Bone Miner Res*. 2004;19(10):1742–1745.
180. Woo SB, Hellstein JW and Kalmar JR. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med*. 2006;144(10):753-761.
181. Dimopoulos MA, Kastiris E, Anagnostopoulos A, Melakopoulos I, Gika D, Moulopoulos LA, Bamia C, Terpos E, Tsionos K and Bamias A. Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates: evidence of increased risk after treatment with zoledronic acid. *Haematologica*. 2006;91(7):968-971.
182. Corso A VM, Zappasodi P, et al. A different schedule of zoledronic acid can reduce the risk of the osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma. *Leukemia*. 2007 Jul;21(7):1545–1548.

183. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M and Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63(11):1567-1575.
184. Tosi P, Zamagni E, Cangini D, Tacchetti P, Di Raimondo F, Catalano L, D'Arco A, Ronconi S, Cellini C, Offidani M, Perrone G, Ceccolini M, Brioli A, Tura S, Baccarani M and Cavo M. Osteonecrosis of the jaws in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with zoledronic acid and thalidomide-dexamethasone. *Blood.* 2006;108(12):3951-3952.
185. Bilezikian JP. Osteonecrosis of the jaw--do bisphosphonates pose a risk? *N Engl J Med.* 2006;355(22):2278-2281.
186. Burr DB ML, Grynpas M, et al. Tissue mineralization is increased following 1-year treatment with high doses of bisphosphonates in dogs. *Bone.* 2003;33(6):960-969.
187. Chapurlat RD, Arlot M, Burt-Pichat B, Chavassieux P, Roux JP, Portero-Muzy N and Delmas PD. Microcrack frequency and bone remodeling in postmenopausal osteoporotic women on long-term bisphosphonates: a bone biopsy study. *J Bone Miner Res.* 2007;22(10):1502-1509.
188. Odvina CV, Zerwekh JE, Rao DS, Maalouf N, Gottschalk FA and Pak CY. Severely suppressed bone turnover: a potential complication of alendronate therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(3):1294-1301.
189. Whitson HE, Lobaugh B and Lyles KW. Severe hypocalcemia following bisphosphonate treatment in a patient with Paget's disease of bone. *Bone.* 2006;39(4):954-958.
190. Jones SG, Dolan G, Lengyel K and Myers B. Severe increase in creatinine with hypocalcaemia in thalidomide-treated myeloma patients receiving zoledronic acid infusions. *Br J Haematol.* 2002;119(2):576-577.
191. Mishra A, Wong L and Jonklaas J. Prolonged, symptomatic hypocalcemia with pamidronate administration and subclinical hypoparathyroidism. *Endocrine.* 2001;14(2):159-164.
192. Maalouf NM, Heller HJ, Odvina CV, Kim PJ and Sakhaee K. Bisphosphonate-induced hypocalcemia: report of 3 cases and review of literature. *Endocr Pract.* 2006;12(1):48-53.
193. Hewitt RE, Lissina A, Green AE, Slay ES, Price DA and Sewell AK. The bisphosphonate acute phase response: rapid and copious production of proinflammatory cytokines by peripheral blood gd T cells in response to aminobisphosphonates is inhibited by statins. *Clin Exp Immunol.* 2005;139(1):101-111.
194. Barrera BA, Wilton L, Harris S and Shakir SA. Prescription-event monitoring study on 13,164 patients prescribed risedronate in primary care in England. *Osteoporos Int.* 2005;16(12):1989-1998.
195. Jameson JL WA. Tiroid bezi hastalıkları. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, LongoDL, Jameson JL, editors. Çeviri editörü: Sağlıkler Y. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (15. Edisyon). İstanbul: Nobel Matbaacılık. 2004.:2060-2075.
196. Ası T. Tablolarla Biyokimya 2.Cilt A, 1999.
197. LAG A. Vitamin D2 is much less effective than Vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:5387-5391.
198. Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006;92(1):4-8.
199. B. E. Kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen hormonlar. In: Onat T, Emerk K, Sözmen EY, Eds. İnsan Biyokimyası Ankara: Palme Yayıncılık. 2002:467-472.
200. MF H. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancer and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:1678- 1688.
201. Bordelon P, Ghetu MV and Langan RC. Recognition and management of vitamin D deficiency. *Am Fam Physician.* 2009;80(8):841-846.
202. Holick MF KS. Kemik ve mineral metabolizmasına giriş. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, LongoDL, Jameson JL, Eds. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (Çeviri editörü: Sağlıkler Y). 15. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri,. 2004:2192-2205.
203. Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(2):491S-499S.
204. Y. S. Güneşe maruz kalma şekillerinin D vitamini üretimindeki rolü. Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul,. 1998.

205. Zempleni J. Handbook of vitamins. 4th ed. CRC Press. New York. 2008:608.
206. Whiting SJ. Dietary recommendations to meet both endocrine and autocrine needs of Vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;97: 7-12.
207. Holick MF, MacLaughlin, J.A., Clark, M.B., Holick, S .A., Potts, J .T. Jr, Anderson, R.R., Blank, I.H., Parrish, J.A., and Elias,P. . Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences *Science.* 1980; 210:203-205.
208. MacLaughlin J and Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest.* 1985;76(4):1536-1538.
209. al. RRe. Handbook of vitamins. 3rd ed. Marcel Dekker, Inc. New York. 2001. :616.
210. Behzat Özkan HD. D vitamininin iskelet sistemi dışı etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2011;54:99-119.
211. Holick MF. MrOs is D-ficient. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(4):1092-1093.
212. R. B. Vitamin D: from photosynthesis, metabolism, and action to clinical applications. In: DeGroot LJ, Jameson JL, eds. *Endocrinology.* Philadelphia: W.B. Saunders. 2001:1009-1028.
213. Perkins BA, Ficociello LH, Ostrander BE, Silva KH, Weinberg J, Warram JH and Krolewski AS. Microalbuminuria and the risk for early progressive renal function decline in type 1 diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(4):1353-1361.
214. Mosekilde L. Vitamin D and the elderly. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005;62(3):265-281.
215. Klinik Biyokimyada Temel Ülkeler Tietz 5. baskı,  
. 2005:809-812.
216. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest.* 2006;116(8):2062-2072.
217. Vieth R. Why the optimal requirement for Vitamin D3 is probably much higher than what is officially recommended for adults. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004;89-90(1-5):575-579.
218. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Vitamin D. Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride Washington, DC: National Academy Press. 1999:250-287.
219. The ABC of vitamin D a primer for physicians Susie Langley. Medical post. Toronto. 2007;43(23):1.
220. JT. P. Paratiroid bezinin hastalıkları ve diğer hiper ve hipokalsemik bozukluklar. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, LongoDL, Jameson JL, Eds. *Harrison İç Hastalıkları Prensipleri* (Çeviri editörü: Sağlıkler Y). 15. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2004:2205-2226.
221. Nagpal S, Na S and Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev.* 2005;26(5):662-687.
222. Nnoaham KE and Clarke A. Low serum vitamin D levels and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol.* 2008;37(1):113-119.
223. van Etten E and Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;97(1-2):93-101.
224. Tellioğlu A. Yaşlılarda Yüksek Doz İntramusküler Kolekalsiferol İle Oral Kolekalsiferolün Vitamin D Düzeyleri Ve Fiziksel Performans Üzerine Etkileri.2010 ÇÜ, Fiziksel Tıp Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, 69 sayfa, Adana, (Doç. Dr. Sibel Basaran).
225. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(3):362-371.
226. Kulie T, Groff A, Redmer J, Hounshell J and Schragger S. Vitamin D: an evidence-based review. *J Am Board Fam Med.* 2009;22(6):698-706.
227. Pearce SH and Cheetham TD. Diagnosis and management of vitamin D deficiency. *BMJ.* 2010;340:b5664.
228. Ozkan B. Nutritional rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2010;2(4):137-143.
229. Holick MF. Vitamin D: extraskeletal health. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(2):381-400, table of contents.

230. Artaza JN, Mehrotra R and Norris KC. Vitamin D and the cardiovascular system. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(9):1515-1522.
231. Witham MD, Nadir MA and Struthers AD. Effect of vitamin D on blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *J Hypertens.* 2009;27(10):1948-1954.
232. Liu. University Medical Center, Groningen, Netherlands European Society of Cardiology's Congress Stockholm. . 2010.
233. Oh J, Weng S, Felton SK, Bhandare S, Riek A, Butler B, Proctor BM, Petty M, Chen Z, Schechtman KB, Bernal-Mizrachi L and Bernal-Mizrachi C. 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin d inhibits foam cell formation and suppresses macrophage cholesterol uptake in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation.* 2009;120(8):687-698.
234. Parker J, Hashmi O, Dutton D, Mavrodaris A, Stranges S, Kandala NB, Clarke A and Franco OH. Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. *Maturitas.* 2010;65(3):225-236.
235. Zittermann A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006;92(1):39-48.
236. Ortlepp JR, Krantz C, Kimmel M, von Korff A, Vesper K, Schmitz F, Mevissen V, Janssens U, Franke A, Hanrath P, Zerres K and Hoffmann R. Additive effects of the chemokine receptor 2, vitamin D receptor, interleukin-6 polymorphisms and cardiovascular risk factors on the prevalence of myocardial infarction in patients below 65 years. *Int J Cardiol.* 2005;105(1):90-95.
237. Chiu KC, Chu A, Go VL and Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(5):820-825.
238. Boucher BJ, Mannan N, Noonan K, Hales CN and Evans SJ. Glucose intolerance and impairment of insulin secretion in relation to vitamin D deficiency in east London Asians. *Diabetologia.* 1995;38(10):1239-1245.
239. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE and Hu FB. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care.* 2006;29(3):650-656.
240. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR and Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet.* 2001;358(9292):1500-1503.
241. Colston KW. Vitamin D and breast cancer risk. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2008;22(4):587-599.
242. Rheim DS, Baylink DJ, Olafsson S, Jackson CS and Walter MH. Prevention of colorectal cancer with vitamin D. *Scand J Gastroenterol.* 2010;45(7-8):775-784.
243. Schwartz GG. Vitamin D and intervention trials in prostate cancer: from theory to therapy. *Ann Epidemiol.* 2009;19(2):96-102.
244. Jenab M, Bueno-de-Mesquita HB, Ferrari P, van Duijnhoven FJ, Norat T, Pischon T, Jansen EH, Slimani N, Byrnes G, Rinaldi S, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Kaaks R, Linseisen J, Boeing H, Bergmann MM, Trichopoulou A, Misirli G, Trichopoulos D, Berrino F, Vineis P, Panico S, Palli D, Tumino R, Ros MM, van Gils CH, Peeters PH, Brustad M, Lund E, Tormo MJ, Ardanaz E, Rodriguez L, Sanchez MJ, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Hallmans G, Palmqvist R, Roddam A, Key TJ, Khaw KT, Autier P, Hainaut P and Riboli E. Association between pre-diagnostic circulating vitamin D concentration and risk of colorectal cancer in European populations: a nested case-control study. *BMJ.* 2010;340:b5500.
245. Garland CF and Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol.* 1980;9(3):227-231.
246. Gorham ED, Garland CF and Garland FC. Acid haze air pollution and breast and colon cancer mortality in 20 Canadian cities. *Can J Public Health.* 1989;80(2):96-100.
247. Lefkowitz ES and Garland CF. Sunlight, vitamin D, and ovarian cancer mortality rates in US women. *Int J Epidemiol.* 1994;23(6):1133-1136.
248. Schwartz GG and Hulka BS. Is vitamin D deficiency a risk factor for prostate cancer? (Hypothesis). *Anticancer Res.* 1990;10(5A):1307-1311.

249. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR and Heaney RP. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(6):1586-1591.
250. Khosla S and Melton LJ, 3rd. Clinical practice. Osteopenia. *N Engl J Med.* 2007;356(22):2293-2300.
251. Holick MF and Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(4):1080S-1086S.
252. Swami S, Krishnan AV, Wang JY, Jensen K, Peng L, Albertelli MA and Feldman D. Inhibitory effects of calcitriol on the growth of MCF-7 breast cancer xenografts in nude mice: selective modulation of aromatase expression in vivo. *Horm Cancer.* 2011;2(3):190-202.
253. Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, Tavera-Mendoza L, Lin R, Hanrahan JW, Mader S and White JH. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol.* 2004;173(5):2909-2912.
254. Najada AS, Habashneh MS and Khader M. The frequency of nutritional rickets among hospitalized infants and its relation to respiratory diseases. *J Trop Pediatr.* 2004;50(6):364-368.
255. Muhe L, Lulseged S, Mason KE and Simoes EA. Case-control study of the role of nutritional rickets in the risk of developing pneumonia in Ethiopian children. *Lancet.* 1997;349(9068):1801-1804.
256. Ginde AA MJ, Camargo Jr Ca. Association between serum 25 hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition examination Survey. *Arch Intern Med* 2009;169:384-390.
257. Acheson ED, Bachrach CA and Wright FM. Some comments on the relationship of the distribution of multiple sclerosis to latitude, solar radiation, and other variables. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 1960;35(147):132-147.
258. Norman JE, Jr., Kurtzke JF and Beebe GW. Epidemiology of multiple sclerosis in U.S. veterans: 2. Latitude, climate and the risk of multiple sclerosis. *J Chronic Dis.* 1983;36(8):551-559.
259. Mahon BD, Gordon SA, Cruz J, Cosman F and Cantorna MT. Cytokine profile in patients with multiple sclerosis following vitamin D supplementation. *J Neuroimmunol.* 2003;134(1-2):128-132.
260. Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E, Hernan MA, Olek MJ, Willett WC and Ascherio A. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology.* 2004;62(1):60-65.
261. Evatt ML, DeLong MR, Khazai N, Rosen A, Triche S and Tangpricha V. Prevalence of vitamin d insufficiency in patients with Parkinson disease and Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2008;65(10):1348-1352.
262. Lansowne AT PS. Vitamin D<sub>3</sub> enhances mood in healthy subjects during winter. *Psychopharmacology* 1998;135:319-323.
263. Buell JS and Dawson-Hughes B. Vitamin D and neurocognitive dysfunction: preventing "D"ecline? *Mol Aspects Med.* 2008;29(6):415-422.
264. Oudshoorn C, Mattace-Raso FU, van der Velde N, Colin EM and van der Cammen TJ. Higher serum vitamin D<sub>3</sub> levels are associated with better cognitive test performance in patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2008;25(6):539-543.
265. Witte JG. Depression Is Associated With Decreased 25-Hydroxyvitamin D and Increased Parathyroid Hormone Levels in Older Adults. *Arch Gen Psychiatry.* 2008;65(5):508-512.
266. McGrath J. "Vitamin D supplementation during the first year of life and risk of schizophrenia: a Finnish birth cohort study". *Schizophrenia Research.* 2003; 67 (2):237-245
267. Liel Y UE, Shary J, Hollis BW, Bell NH. Low circulating vitamin D in obesity. *Calcif Tissue Int.* 1988; 43:199-201.
268. Stallman-Jorgensen YDI. American Heart Association's Joint 49th Conference on Cardiovascular Disease Epidemiology and Prevention and Nutrition, Physical Activity and Metabolism. 2009.
269. Ward KA, Das G, Berry JL, Roberts SA, Rawer R, Adams JE and Mughal Z. Vitamin D status and muscle function in post-menarchal adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(2):559-563.

270. Wortsman J ML, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr.* 2000;72::690-693.
271. Arunabh S, Pollack S, Yeh J and Aloia JF. Body fat content and 25-hydroxyvitamin D levels in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(1):157-161.
272. Bell NH, Greene A, Epstein S, Oexmann MJ, Shaw S and Shary J. Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in blacks. *J Clin Invest.* 1985;76(2):470-473.
273. Brown J, Bianco JJ, McGrath JJ and Eyles DW. 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> induces nerve growth factor, promotes neurite outgrowth and inhibits mitosis in embryonic rat hippocampal neurons. *Neurosci Lett.* 2003;343(2):139-143.
274. McCann JC AB and . Is there convincing biological or behavioral evidence linking vitamin D deficiency to brain dysfunction. *FASEB J* 2008;22:982-1001.
275. Eyles DW, Smith S, Kinobe R, Hewison M and McGrath JJ. Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. *J Chem Neuroanat.* 2005;29(1):21-30.
276. Eyles D, Brown J, Mackay-Sim A, McGrath J and Feron F. Vitamin D<sub>3</sub> and brain development. *Neuroscience.* 2003;118(3):641-653.
277. McGrath JJ, Saha S, Lieberman DE and Buka S. Season of birth is associated with anthropometric and neurocognitive outcomes during infancy and childhood in a general population birth cohort. *Schizophr Res.* 2006;81(1):91-100.
278. Morris GS, Zhou Q, Hegsted M and Keenan MJ. Maternal consumption of a low vitamin D diet retards metabolic and contractile development in the neonatal rat heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1995;27(6):1245-1250.
279. Vaidya A and Forman JP. Vitamin D and vascular disease: the current and future status of vitamin D therapy in hypertension and kidney disease. *Curr Hypertens Rep.* 2012;14(2):111-119.
280. Lishmanov A, Dorairajan S, Pak Y, Chaudhary K and Chockalingam A. Treatment of 25-OH Vitamin D Deficiency in Older Men With Chronic Kidney Disease Stages 3 and 4 Is Associated With Reduction in Cardiovascular Events. *Am J Ther.* 2011.
281. Stumpf WE, Sar M, Reid FA, Tanaka Y and DeLuca HF. Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary, and parathyroid. *Science.* 1979;206(4423):1188-1190.
282. Hosomi J, Hosoi J, Abe E, Suda T and Kuroki T. Regulation of terminal differentiation of cultured mouse epidermal cells by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Endocrinology.* 1983;113(6):1950-1957.
283. Abe E, Miyaura C, Sakagami H, Takeda M, Konno K, Yamazaki T, Yoshiki S and Suda T. Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981;78(8):4990-4994.
284. Holick MF. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and the skin: a unique application for the treatment of psoriasis. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1989;191(3):246-257.
285. Bhalla AK, Amento EP, Clemens TL, Holick MF and Krane SM. Specific high-affinity receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in human peripheral blood mononuclear cells: presence in monocytes and induction in T lymphocytes following activation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;57(6):1308-1310.
286. Adorini L and Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2008;4(8):404-412.
287. Yang S, Smith C and DeLuca HF. 1 alpha, 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 19-nor-1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D<sub>2</sub> suppress immunoglobulin production and thymic lymphocyte proliferation in vivo. *Biochim Biophys Acta.* 1993;1158(3):279-286.
288. Schoindre Y, Terrier B, Kahn JE, Saadoun D, Souberbielle JC, Benveniste O, Amoura Z, Piette JC, Cacoub P and Costedoat-Chalumeau N. [Vitamin D and autoimmunity. Second part: Clinical aspects]. *Rev Med Interne.* 2012;33(2):87-93.
289. Munger KLM ZSM, O'Reilly E. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology.* 2004;62:60-65.
290. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA and Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum.* 2004;50(1):72-77.



291. Finklea JD, Grossmann RE and Tangpricha V. Vitamin D and chronic lung disease: a review of molecular mechanisms and clinical studies. *Adv Nutr.* 2011;2(3):244-253.
292. Lehouck A, Mathieu C, Carremans C, Baeke F, Verhaegen J, Van Eldere J, Decallonne B, Bouillon R, Decramer M and Janssens W. High doses of vitamin D to reduce exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2012;156(2):105-114.
293. Kumar R. Prenatal factors and the development of asthma. *Curr Opin Pediatr.* 2008;20(6):682-687.
294. Rhee Y, Song K, Park S, Park HS, Lim SK and Park BW. Efficacy of a combined alendronate and calcitriol agent (Maxmarvil(R)) in Korean postmenopausal women with early breast cancer receiving aromatase inhibitor: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Endocr J.* 2013;60(2):167-172.
295. Reid IR. Osteonecrosis of the jaw: who gets it, and why? *Bone.* 2009;44(1):4-10.
296. Badros A, Goloubeva O, Terpos E, Milliron T, Baer MR and Streefen E. Prevalence and significance of vitamin D deficiency in multiple myeloma patients. *Br J Haematol.* 2008;142(3):492-494.
297. Ardine M, Generali D, Donadio M, Bonardi S, Scoletta M, Vandone AM, Mozzati M, Bertetto O, Bottini A, Dogliotti L and Berruti A. Could the long-term persistence of low serum calcium levels and high serum parathyroid hormone levels during bisphosphonate treatment predispose metastatic breast cancer patients to undergo osteonecrosis of the jaw? *Ann Oncol.* 2006;17(8):1336-1337.
298. Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG and Kogan R. Normal serum bone markers in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(3):389-391.
299. Hokugo A, Christensen R, Chung EM, Sung EC, Felsenfeld AL, Sayre JW, Garrett N, Adams JS and Nishimura I. Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res.* 2010;25(6):1337-1349.
300. Ritchie CS, Joshipura K, Hung HC and Douglass CW. Nutrition as a mediator in the relation between oral and systemic disease: associations between specific measures of adult oral health and nutrition outcomes. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(3):291-300.
301. Jeffcoat MK and Chesnut CH, 3rd. Systemic osteoporosis and oral bone loss: evidence shows increased risk factors. *J Am Dent Assoc.* 1993;124(11):49-56.
302. Krall EA, Wehler C, Garcia RI, Harris SS and Dawson-Hughes B. Calcium and vitamin D supplements reduce tooth loss in the elderly. *Am J Med.* 2001;111(6):452-456.
303. Andresen C OE, Nduaka C, Pero R, Bagi CM. Action of calciotropic hormones on bone metabolism – Role of Vitamin D3 in bone remodeling events. *Am J Immunol.* 2006;2:40–51.
304. Garcia MN, Hildebolt CF, Miley DD, Dixon DA, Couture RA, Spearie CL, Langenwalter EM, Shannon WD, Deych E, Mueller C and Civitelli R. One-year effects of vitamin D and calcium supplementation on chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2011;82(1):25-32.
305. Anand N, Chandrasekaran SC and Rajput NS. Vitamin D and periodontal health: Current concepts. *J Indian Soc Periodontol.* 2013;17(3):302-308.
306. Jabbar S, Drury J, Fordham J, Datta HK, Francis RM and Tuck SP. Plasma vitamin D and cytokines in periodontal disease and postmenopausal osteoporosis. *J Periodontol Res.* 2011;46(1):97-104.
307. Aguirre JI, Altman MK, Vanegas SM, Franz SE, Bassit AC and Wronski TJ. Effects of alendronate on bone healing after tooth extraction in rats. *Oral Dis.* 2010;16(7):674-685.
308. Hellstein JW and Marek CL. Bis-phosphy jaw, phosphy jaw, and the 21st century: bisphosphonate-associated complications of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(12):1563-1565.
309. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ and Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(5):527-534.
310. NIH Consensus Development Panel. Osteoporosis prevention, diagnosis and treatment. *JAMA* 2001;285:785-789.
311. Kashyap AS and Kashyap S. Hypoparathyroidism unmasked by alendronate. *Postgrad Med J.* 2000;76(897):417-418.

312. Altundag O, Altundag K, Selim Silay Y, Gunduz M, Demircan K and Gullu I. Calcium and vitamin D supplementation during bisphosphonate administration may increase osteoclastic activity in patients with bone metastasis. *Med Hypotheses*. 2004;63(6):1010-1013.
313. Silvina R, Mastaglia GGP, Patricia M, Mandalunis M, Macarena M, Gonzales Chaves S, Silvia M, Friedman S, Susana N, Zeni. Vitamin D insufficiency reduces the protective effect of bisphosphonate on ovariectomy-induced bone loss in rats. *Bone* 2006;39:837-844.
314. Burr DB and Allen MR. Mandibular necrosis in beagle dogs treated with bisphosphonates. *Orthod Craniofac Res*. 2009;12(3):221-228.
315. Matthew RA, Tien-Min, G.C., Salvatore, L. R. . Absence of Exposed Bone Following Dental Extraction in Beagle Dogs Treated With 9 Months of High-Dose Zoledronic Acid Combined With Dexamethasone. *J Oral Maxillofac Surg*. 2013;71,:1017-1026.
316. Pautke C, Kreutzer K, Weitz J, Knodler M, Munzel D, Wexel G, Otto S, Hapfelmeier A, Sturzenbaum S and Tischer T. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw: A minipig large animal model. *Bone*. 2012;51(3):592-599.
317. Kikuri T, Kim I, Yamaza T, Akiyama K, Zhang Q, Li Y, Chen C, Chen W, Wang S, Le AD and Shi S. Cell-based immunotherapy with mesenchymal stem cells cures bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *J Bone Miner Res*. 2010;25(7):1668-1679.
318. Giuliani N, Pedrazzoni M, Negri G, Passeri G, Impicciatore M and Girasole G. Bisphosphonates stimulate formation of osteoblast precursors and mineralized nodules in murine and human bone marrow cultures in vitro and promote early osteoblastogenesis in young and aged mice in vivo. *Bone*. 1998;22(5):455-461.
319. Kang B, Cheong S, Chaichanasakul T, Bezouglaia O, Atti E, Dry SM, Pirih FQ, Aghaloo TL and Tetradis S. Periapical disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in mice. *J Bone Miner Res*. 2013;28(7):1631-1640.
320. Abtahi J, Agholme F and Aspenberg P. Prevention of osteonecrosis of the jaw by mucoperiosteal coverage in a rat model. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2013;42(5):632-636.
321. Maahs MP, Azambuja, A.A., Campos, M.M., Salum, F.G., Cherubini, K. . Association Between Bisphosphonates And Jaw Osteonecrosis: A Study In Wistar Rats. *Head Neck*. 2010;33:199-207.
322. Conte Neto N, Spolidorio LC, Andrade CR, A SB, Guimaraes M and Marcantonio E, Jr. Experimental development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in rodents. *Int J Exp Pathol*. 2013;94(1):65-73.
323. Aguirre JI, Akhter MP, Kimmel DB, Pingel JE, Williams A, Jorgensen M, Kesavalu L and Wronski TJ. Oncologic doses of zoledronic acid induce osteonecrosis of the jaw-like lesions in rice rats (*Oryzomys palustris*) with periodontitis. *J Bone Miner Res*. 2012;27(10):2130-2143.
324. Ali-Erdem M B-CA, Cemil-Isler S, Demircan S, Soluk M, Kasapoglu C, Korhan-Oral C. . Extraction socket healing in rats treated with bisphosphonate: Animal model for bisphosphonate related osteonecrosis of jaws in multiple myeloma patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16 (7):879-883.
325. Cankaya AB, Erdem MA, Isler SC, Demircan S, Soluk M, Kasapoglu C and Oral CK. Use of cone-beam computerized tomography for evaluation of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in an experimental rat model. *Int J Med Sci*. 2011;8(8):667-672.
326. Tsurushima H, Kokuryo S, Sakaguchi O, Tanaka J and Tominaga K. Bacterial promotion of bisphosphonate-induced osteonecrosis in Wistar rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2013;42(11):1481-1487.
327. Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, Moimas S, Dore F, Pozzato G, Cavalli F, Zanconati F, Contardo L, Giacca M and Di Lenarda R. A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *J Oral Pathol Med*. 2010;39(5):390-396.
328. Nussbaum SR, Younger J, Vandepol CJ, Gagel RF, Zubler MA, Chapman R, Henderson IC and Mallette LE. Single-dose intravenous therapy with pamidronate for the treatment of hypercalcemia of malignancy: comparison of 30-, 60-, and 90-mg dosages. *Am J Med*. 1993;95(3):297-304.
329. Major P, Lortholary A, Hon J, Abdi E, Mills G, Menssen HD, Yunus F, Bell R, Body J, Quebe-Fehling E and Seaman J. Zoledronic acid is superior to pamidronate in the treatment of hypercalcemia of

- malignancy: a pooled analysis of two randomized, controlled clinical trials. *J Clin Oncol*. 2001;19(2):558-567.
330. Hillner BE, Ingle JN, Chlebowski RT, Gralow J, Yee GC, Janjan NA, Cauley JA, Blumenstein BA, Albain KS, Lipton A and Brown S. American Society of Clinical Oncology 2003 update on the role of bisphosphonates and bone health issues in women with breast cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21(21):4042-4057.
331. Rosen LS, Gordon D, Tchekmedyan NS, Yanagihara R, Hirsh V, Krzakowski M, Pawlicki M, De Souza P, Zheng M, Urbanowitz G, Reitsma D and Seaman J. Long-term efficacy and safety of zoledronic acid in the treatment of skeletal metastases in patients with nonsmall cell lung carcinoma and other solid tumors: a randomized, Phase III, double-blind, placebo-controlled trial. *Cancer*. 2004;100(12):2613-2621.
332. Lipton A. Efficacy and safety of intravenous bisphosphonates in patients with bone metastases caused by metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2007;7 Suppl 1:S14-20.
333. Dhillon S and Lyseng-Williamson KA. Zoledronic acid : a review of its use in the management of bone metastases of malignancy. *Drugs*. 2008;68(4):507-534.
334. Hess LM, Jeter JM, Benham-Hutchins M and Alberts DS. Factors associated with osteonecrosis of the jaw among bisphosphonate users. *Am J Med*. 2008;121(6):475-483 e473.
335. Boonyapakorn T, Schirmer I, Reichart PA, Sturm I and Massenkeil G. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: prospective study of 80 patients with multiple myeloma and other malignancies. *Oral Oncol*. 2008;44(9):857-869.
336. Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y, Poveda R, Milian MA, Sanchis JM, Silvestre FJ and Scully C. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J Oral Pathol Med*. 2005;34(2):120-123.
337. Lipton A, Theriault RL, Hortobagyi GN, Simeone J, Knight RD, Mellars K, Reitsma DJ, Heffernan M and Seaman JJ. Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer*. 2000;88(5):1082-1090.
338. Ruggiero SL. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): initial discovery and subsequent development. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67(5 Suppl):13-18.
339. Ross JR, Saunders Y, Edmonds PM, Patel S, Broadley KE and Johnston SR. Systematic review of role of bisphosphonates on skeletal morbidity in metastatic cancer. *BMJ*. 2003;327(7413):469.
340. Sonis ST, Watkins BA, Lyng GD, Lerman MA and Anderson KC. Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients. *Oral Oncol*. 2009;45(2):164-172.
341. Pia Lopez-Jornet FC-A, Francisco Molina-Minano, Francisco Gomez-Garcia, Vicente Vicente-Ortega. An experimental study of bisphosphonate-induced jaws osteonecrosis in Sprague–Dawley rats. *J Oral Pathol Med* 2010; 39: 697–702.
342. Ruggiero SL and Mehrotra B. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: diagnosis, prevention, and management. *Annu Rev Med*. 2009;60:85-96.
343. S. B. Primer Osteoporoz Tiplerinin Klinik Özellikleri, Laboratuar Testleri ve Tanısal Yaklaşım, Erkeklerde Osteoporoz. In: Koloğlu S. Osteoporoz. 1. Baskı, Ankara: Ajanstürk Gazetecilik ve matbaacılık. 1998:47–76.
344. Tomat A, Gamba CA, Mandalunis P, De Grandi MC, Somoza J, Friedman S and Zeni S. Changes in bone volume and bone resorption by olpadronate treatment in an experimental model of uremic bone disease. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2005;5(2):174-181.
345. Cho DC, Kim KT, Jeon Y and Sung JK. A synergistic bone sparing effect of curcumin and alendronate in ovariectomized rat. *Acta Neurochir (Wien)*. 2012;154(12):2215-2223.
346. Lespessailles E, Jaffre C, Beaupied H, Nanyan P, Dolleans E, Benhamou CL and Courteix D. Does exercise modify the effects of zoledronic acid on bone mass, microarchitecture, biomechanics, and turnover in ovariectomized rats? *Calcif Tissue Int*. 2009;85(2):146-157.
347. Broulik PD, Rosenkrancova J, Ruzicka P and Sedlacek R. Effect of alendronate administration on bone mineral density and bone strength in castrated rats. *Horm Metab Res*. 2005;37(7):414-418.

348. Christopoulou GE, Stavropoulou A, Anastassopoulos G, Panteliou SD, Papadaki E, Karamanos NK and Panagiotopoulos E. Evaluation of modal damping factor as a diagnostic tool for osteoporosis and its relation with serum osteocalcin and collagen I N-telopeptide for monitoring the efficacy of alendronate in ovariectomized rats. *J Pharm Biomed Anal.* 2006;41(3):891-897.
349. Tamura Y, Miyakoshi N, Itoi E, Abe T, Kudo T, Tsuchida T, Kasukawa Y and Sato K. Long-term effects of withdrawal of bisphosphonate incadronate disodium (YM175) on bone mineral density, mass, structure, and turnover in the lumbar vertebrae of ovariectomized rats. *J Bone Miner Res.* 2001;16(3):541-549.
350. Body JJ, Lichinitser M, Tjulandin S, Garnero P and Bergstrom B. Oral ibandronate is as active as intravenous zoledronic acid for reducing bone turnover markers in women with breast cancer and bone metastases. *Ann Oncol.* 2007;18(7):1165-1171.
351. O'Connell JE, Ikeagwani O and Kearns GJ. A role for C-terminal cross-linking telopeptide (CTX) level to predict the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws (BRONJ) following oral surgery? *Ir J Med Sci.* 2012;181(2):237-242.
352. Zhao X, Xu X, Guo L, Ragaz J, Guo H, Wu J, Shao Z, Zhu J, Guo X, Chen J, Zhu B, Wang Z and Hu X. Biomarker alterations with metronomic use of low-dose zoledronic acid for breast cancer patients with bone metastases and potential clinical significance. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;124(3):733-743.
353. Zhao YY, Xue C, Hou X, Liao H, Li S, Zhao HY, Huang Y, Chen LK, Xu F, Liu JL and Zhang L. Changes of bone resorption marker (NTX) in chemotherapy plus zoledronic acid versus chemotherapy alone for nasopharyngeal cancer patients with bone metastases. *Eur J Cancer.* 2011;47(6):848-853.
354. Generali D, Dovic A, Tampellini M, Tucci M, Tedoldi S, Torta M, Bonardi S, Allevi G, Aguggini S, Milani M, Harris AL, Bottini A, Dogliotti L, Angeli A and Berruti A. Changes of bone turnover markers and serum PTH after night or morning administration of zoledronic acid in breast cancer patients with bone metastases. *Br J Cancer.* 2008;98(11):1753-1758.
355. Fidan E, Yildiz B, Kavgaci H, Ozdemir F and Aydin F. Effects of zoledronic acid and ibandronic acid on renal functions and calcium, phosphorus and alkaline phosphatase levels in breast cancer patients with bone metastases: a retrospective analysis. *Contemp Oncol (Pozn).* 2012;16(2):176-178.
356. Kress BC, Mizrahi IA, Armour KW, Marcus R, Emkey RD and Santora AC, 2nd. Use of bone alkaline phosphatase to monitor alendronate therapy in individual postmenopausal osteoporotic women. *Clin Chem.* 1999;45(7):1009-1017.
357. PA P. Vitamin K-dependent proteins. In: Cohn DV (ed) *Calcium regulation and bone metabolism basic and clinical aspects.* Amsterdam, Elsevier Science, The Netherlands. 1987:419-425.
358. IR D. Bone. In: Royce PM, Steinmann B (eds) *Connective tissue and its heritable disorders.* Wiley-Liss, NewYork. 1993:249-285.
359. Ş. T. Osteoporozun Tanısında Biyokimyasal Belirteçlerin Yeri. In: Göksoy T. *Osteoporozda Tanı ve Tedavi.* 1. Baskı, İstanbul: Özlem Grafik Matbaacılık,. 2000:263-268.
360. Francini F, Pascucci A, Bargagli G, Francini E, Conca R, Miano ST, Martellucci I, Migali C, Gotti G, Fiaschi AI, Cozzolino A and Petrioli R. Effects of intravenous zoledronic acid and oral ibandronate on early changes in markers of bone turnover in patients with bone metastases from non-small cell lung cancer. *Int J Clin Oncol.* 2011;16(3):264-269.
361. Coleman RE, Major P, Lipton A, Brown JE, Lee KA, Smith M, Saad F, Zheng M, Hei YJ, Seaman J and Cook R. Predictive value of bone resorption and formation markers in cancer patients with bone metastases receiving the bisphosphonate zoledronic acid. *J Clin Oncol.* 2005;23(22):4925-4935.
362. Okabe R, Nakatsuka K, Inaba M, Miki T, Naka H, Masaki H, Moriguchi A and Nishizawa Y. Clinical evaluation of the Elecsys beta-CrossLaps serum assay, a new assay for degradation products of type I collagen C-telopeptides. *Clin Chem.* 2001;47(8):1410-1414.
363. Sung D-CCK-TKYJJ-K. A synergistic bone sparing effect of curcumin and alendronate in ovariectomized rat. *Acta Neurochir* 2012;154:2215-2223.
364. Marx RE, Cillo JE, Jr. and Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(12):2397-2410.

365. Delmas PD, Eastell R., Garnero P., Seibel M.J., Stepan J. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporosis Int.* 2000;11(supp6): 2-17.
366. B. E. Kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen hormonlar. In: Onat T, Emerk K, Sözmen EY, Eds. *İnsan Biyokimyası* Ankara: Palme Yayıncılık. 2002::467-472.
367. Koster JC, Hackeng WH and Mulder H. Diminished effect of etidronate in vitamin D deficient osteopenic postmenopausal women. *Eur J Clin Pharmacol.* 1996;51(2):145-147.
368. Yamanaka M IM, Tokita A, Kitahara K, Enomoto F, Sawa M, . Importance of the understanding of the 25-hydroxyvitamin D status for the alendronate treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2004;;19((Suppl 1)):463.
369. Baloch Z CP, Conte-Devolx B, Demers LM, Feldt-Ras-mussen U, Henry JF. Laboratory medicine practice guide-lines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thy-roid disease. *Thyroid.* 2003;13:3-126.
370. Karga H, Giagourta I, Papaioannou G, Katsichti P, Pardalakis A, Kassi G, Zagoreou A, Triantaphyllopoulou M and Zerva C. Transient changes in thyroid functions tests after zoledronic acid infusion. *Endocr J.* 2011;58(11):969-977.
371. Dicuonzo G, Vincenzi B, Santini D, Avvisati G, Rocci L, Battistoni F, Gavasci M, Borzomati D, Coppola R and Tonini G. Fever after zoledronic acid administration is due to increase in TNF-alpha and IL-6. *J Interferon Cytokine Res.* 2003;23(11):649-654.
372. LJ D. Dangerous dogmas in medicine:The nonthyroidal illness syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:151-164.
373. Adler SM and Wartofsky L. The nonthyroidal illness syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2007;36(3):657-672, vi.
374. Reinholz GG, Getz B, Pederson L, Sanders ES, Subramaniam M, Ingle JN and Spelsberg TC. Bisphosphonates directly regulate cell proliferation, differentiation, and gene expression in human osteoblasts. *Cancer Res.* 2000;60(21):6001-6007.
375. Fromigue O and Body JJ. Bisphosphonates influence the proliferation and the maturation of normal human osteoblasts. *J Endocrinol Invest.* 2002;25(6):539-546.
376. von Knoch F, Jaquier C, Kowalsky M, Schaeren S, Alabre C, Martin I, Rubash HE and Shanbhag AS. Effects of bisphosphonates on proliferation and osteoblast differentiation of human bone marrow stromal cells. *Biomaterials.* 2005;26(34):6941-6949.
377. Khokher MA and Dandona P. Diphosphonates inhibit human osteoblast secretion and proliferation. *Metabolism.* 1989;38(2):184-187.
378. Iwata K, Li J, Follet H, Phipps RJ and Burr DB. Bisphosphonates suppress periosteal osteoblast activity independently of resorption in rat femur and tibia. *Bone.* 2006;39(5):1053-1058.
379. Bedogni A, Blandamura S, Lokmic Z, Palumbo C, Ragazzo M, Ferrari F, Tregnaighi A, Pietrogrande F, Procopio O, Saia G, Ferretti M, Bedogni G, Chiarini L, Ferronato G, Ninfo V, Lo Russo L, Lo Muzio L and Nocini PF. Bisphosphonate-associated jawbone osteonecrosis: a correlation between imaging techniques and histopathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105(3):358-364.
380. Fleisch H. Bisphosphonates--history and experimental basis. *Bone.* 1987;8 Suppl 1:S23-28.
381. Russell RG and Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone.* 1999;25(1):97-106.
382. Thompson K, Rogers MJ, Coxon FP and Crockett JC. Cytosolic entry of bisphosphonate drugs requires acidification of vesicles after fluid-phase endocytosis. *Mol Pharmacol.* 2006;69(5):1624-1632.
383. Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Graham R, Russell G and Rogers MJ. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res.* 1998;13(4):581-589.
384. Bertoldo F, Santini D and Lo Cascio V. Bisphosphonates and osteomyelitis of the jaw: a pathogenic puzzle. *Nat Clin Pract Oncol.* 2007;4(12):711-721.

385. Reszka AA and Rodan GA. Mechanism of action of bisphosphonates. *Curr Osteoporos Rep.* 2003;1(2):45-52.
386. Sato M and Grasser W. Effects of bisphosphonates on isolated rat osteoclasts as examined by reflected light microscopy. *J Bone Miner Res.* 1990;5(1):31-40.
387. Hughes DE, MacDonald BR, Russell RG and Gowen M. Inhibition of osteoclast-like cell formation by bisphosphonates in long-term cultures of human bone marrow. *J Clin Invest.* 1989;83(6):1930-1935.
388. Boonekamp PM, van der Wee-Pals LJ, van Wijk-van Lennep MM, Thesing CW and Bijvoet OL. Two modes of action of bisphosphonates on osteoclastic resorption of mineralized matrix. *Bone Miner.* 1986;1(1):27-39.
389. Cho YA, Yoon HJ, Lee JI, Hong SP and Hong SD. Histopathological features of bisphosphonate-associated osteonecrosis: findings in patients treated with partial mandibulectomies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;114(6):785-791.