



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**UZUN SÜRELİ BİFOSFONAT VERİLEN DENEKLERDE
OZONUN FARKLI DOZLARININ YARA İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Hasan Can AKGÜN

Samsun

Eylül-2019



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**UZUN SÜRELİ BİFOSFONAT VERİLEN DENEKLERDE
OZONUN FARKLI DOZLARININ YARA İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Hasan Can AKGÜN

**Danışman
Doç. Dr. Mehmet Cihan BEREKET**

**Samsun
Eylül-2019**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Hasan Can AKGÜN tarafından Doç. Dr. Cihan BERKET danışmanlığında hazırlanan “Uzun Süreli Bifosfonat Verilen Deneklerde Ozonun Farklı Dozlarının Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 05/09/2019 tarihinde yapılan sınav ile Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan:
Prof. Dr. Nilüfer ÖZKAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye:
Prof. Dr. Emel BULUT

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye:
Doç. Dr. M. Cihan BERKET

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye:
Doç. Dr. Nihat AKBULUT

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye:
Dr. Öğr. Üyesi Ezgi YÜCEER ÇETİNER

Bahçeşehir Üniversitesi

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

... / ... /

Prof. Dr. Ahmet Uzun
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitim sürecim boyunca klinik birikimini, bilgilerini ve yaşam tecrübelerini benimle paylaşan; tez süresince sabır ve hoşgörü ile desteğini eksik etmeyen; doktora süresince karşılaştığım tüm zorluklarda bana yardımcı olan; kıymetli danışman hocam Doç. Dr. M. Cihan BEREKET'e,

Doktora eğitimim boyunca kendilerinden teorik ve pratik anlamda birçok şey öğrendiğim Prof. Dr. Nilüfer ÖZKAN'a ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mehtap MUĞLALI'ya,

Tezimin histolojik aşamalarındaki katkılarıyla değerli bilgi ve tecrübelerini bana aktararak yardımını eksik etmeyen Doç. Dr. Mehmet Emin ÖNGER'e , tezimin radyoloji kısmının oluşmasındaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Veysel POLAT'a, tezimin yazım aşamasındaki desteklerinden dolayı Prof. Dr. Uğur İNAN' a

Bu çalışma; Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi tarafından PYO.DIS.1904.18.06 proje numarası ile desteklenmiştir.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi, karşılıksız sevgileriyle desteklerini her zaman yanımda hissettiren, benim için her türlü fedakarlığı yapan sevgili anneme ve kıymetli babama, canım kardeşlerim Zeyneb ve Yunus Emre AKGÜNE' e

Hayatıma girdiği günden beri yaşamıma renk katan, bir arada olmaktan büyük mutluluk duyduğum, sevgisiyle ve desteğiyle hep yanımda olan değerli hayat arkadaşım Dt. Hande AKGÜN'e ve aramıza katılarak hayatımıza bambaşka bir renk katan, hayatta alabileceğim en güzel ünvanı bana kazandıran, canım oğlum Tuğra Nezih AKGÜN'e

Tüm doktora sürecim boyunca hiçbir zaman yardımını ve desteğini eksik etmeyen kıdemlim, ablam Dr. Dt. Damla TORUL'a, ne zaman ihtiyacım olsa bir şekilde yanımda olmayı başaran değerli kardeşlerim Dt. Metehan KESKİN ve Dr. Dt. Cihan BAYLAN'a, onları tanımaktan ve birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım, bu yola beraber başladığımız Dr. Dt. Anar ABİLOV'a ve Dt. Fuat ALTUNCU'ya

Eğitim sürecim boyunca bütün bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, Dr. Dt. Eren YILMAZ'a, Uzm Dt. Hasan ÖZTÜRK'e ve Uzm. Dt. Kamber KAMBEROĞLU'na

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nın bütün çalışanlarına,
Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

UZUN SÜRELİ BİFOSFONAT VERİLEN DENEKLERDE OZONUN FARKLI DOZLARININ YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Amaç: Bu tez çalışmasının amacı, bifosfonat verilen deneklerde diş çekimi sonrası ozon tedavisinin farklı dozlarının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin histolojik ve radyolojik olarak incelenmesidir.

Materyal ve Metot: Bu çalışmaya 6 haftalık 48 adet Wistar Albino dişi rat dahil edildi. Ratlar rastgele 2 ana gruba ayrıldı. Ratların yarısına (n=24) 8 hafta boyunca haftada 3 kez olmak üzere zoledronik asit uygulandı. Ardından her iki grup da kendi içerisinde K, O120, O180 ve O300 (n=6) olacak şekilde 4 alt gruba ayrıldı. Tüm deneklerin sağ üst 1. molar dişleri çekildi. Deneklere diş çekiminin yapıldığı gün de dahil olmak üzere haftada 3 defa 2 hafta boyunca ozon uygulandı. Denekler diş çekimi sonrası 4. haftanın sonunda sakrifiye edildi. Yeni kemik, bağ doku ve damar oluşumu stereolojik incelemelerle, kemik yoğunluğu ise radyolojik incelemeler ile değerlendirildi.

Bulgular: Yaptığımız çalışmanın stereolojik incelemeleri sonucunda yeni kemik hacmi miktarı en fazla O300 grubunda bulundu (p=0,00). Zoledronik asit verilen gruplarda ozon uygulama süresi arttıkça yeni kemik oluşum miktarında azalma olduğu görüldü. Yeni bağ dokusu hacmi miktarı açısından kıyaslandığında ZK, ZO120, O180 grupları diğer gruplara göre en yüksek değere sahipti. Bu grupların aralarında oluşan fark istatistiksel olarak anlamlı değilken (p>0,05), diğer gruplarla kıyaslandığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,00). En fazla yeni damar hacmi miktarı ZO120 ve O180 gruplarında görüldü. Kendi aralarında oluşan fark istatistiksel olarak anlamlı değilken (p>0,05), diğer gruplarla kıyaslandığında oluşan fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,00).

Sonuçlar: Zoledronik asit verilmeyen deneklerde ozon uygulama süresi arttıkça yeni kemik hacmi miktarı artmıştır. Zoledronik asit verilen deneklerde ozon uygulama süresi arttıkça oluşan yeni kemik hacmi miktarı azalmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bifosfonat; BRONJ; Kemik iyileşmesi; Ozon tedavisi

Hasan Can AKGÜN, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun, Eylül-2019

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT DOSES OF OZONE ON WOUND HEALING IN LONG-TERM BISPHOSPHONATE ADMINISTERED SUBJECTS

Aim: The aim of this study is to investigate the effects of different doses of topical ozone treatment on bone healing after extraction using histological and radiological examinations in bisphosphonates administration.

Materials and Methods: Forty-eight Wistar Albino female rats (6 weeks old) were included in this study. Rats were randomly divided into two groups. Half of the rats (n = 24) received zoledronic acid three times a week for eight weeks. Then, both groups were divided into 4 subgroups as K, O120, O180 and O300. All subjects underwent right upper 1st molar tooth extraction. A total of 6 times topical ozone treatments were performed at two-day intervals, including the day of tooth extraction. Subjects were sacrificed at the end of the 4th week after tooth extraction. The volumes of new bone, connective tissue and new capillary were evaluated by stereological examinations, and bone density was evaluated by radiological examinations.

Results: Regarding the stereological examinations of our study, the new bone volume was found highest in O300 group ($p = 0.00$). It was seen that new bone formation decreased as the ozone application time increased in the zoledronic acid groups. The highest connective tissue volumes were estimated in ZK, ZO120 and O180 groups. While the differences among these groups were not statistically significant ($p > 0.05$), the difference were statistically significant when compared with the other groups ($p = 0.00$). The maximum amount of capillary volume was seen in the ZO120 and O180 groups respectively. The differences between them were not statistically significant ($p > 0.05$), but the differences were statistically significant when compared to the other groups ($p = 0.00$).

Conclusions: In subjects not given zoledronic acid, the new bone volume increased as the ozone application time increased. In subjects given zoledronic acid, the new bone volume decreased as the ozone application time increased.

Keywords: Bisphosphonate; Bone healing; BRONJ; Ozone therapy

Hasan Can AKGUN, Ph. D. Thesis
Ondokuz Mayıs University-Samsun, September-2019

SİMGELER VE KISATMALAR

%	: Yüzde
α	: Alfa
β	: Beta
μm	: Mikrometre
μm^3	: Mikrometre küp
AAOMS	: Amerikan Oral ve Maksillofasiyal Cerrahlar Birliği
ATP	: Adenozin trifosfat
BRONJ	: Bifosfonat ile ilişkili Çene kemiği nekrozu
CHX	: Klorheksidin Glukonat
CTX	: C Terminal Telopeptid
ECMOS	: Avrupa Medikal Ozon Topluluğu
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
ESM	: Ekstraselüler Matriks
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
FPP	: Fornesil Difosfat
GGPP	: Garengreanil Difosfat
GTP	: Geranil Trifosfat
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HU	: Haunsfield Unit
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL	: İnterlökin
IPP	: İzopentanil difosfat
kg	: Kilogram
kV	: Kilovat
mA	: Miliamper
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mm³	: Milimetre küp
MMP	: Matriks Metaloproteinaz

NaOCL	: Sodyum Hipoklorit
NH₂	: Amino Grubu
O₃	: Ozon
OH	: Hidroksil grubu
ONJ	: Çenelerin Avasküler Nekrozu
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PRF	: Trombositten Zengin Fibrin
PRGF	: Büyüme Faktöründen Zengin Plazma
RNA	: Ribonükleik asit
SH	: Standart Hata
sn	: Saniye
SS	: Standart Sapma
TGF	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
UV	: Ultra Viyole
VEGF	: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Bifosfonatlar.....	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı	3
2.1.3. Bifosfonat Çeşitleri.....	5
2.1.4. Bifosfonatların Uygulanması ve Biyoyararlanımı.....	5
2.1.5. Etki Mekanizması.....	6
2.1.6. Klinik Uygulama	10
2.1.7. Bifosfonatların Yan Etkileri	11
2.1.8. Bifosfonatlar ile İlişkili Çene Kemliği Osteonekrozu (BRONJ).....	12
2.1.9. BRONJ Risk Faktörleri	14
2.2. Ozon	17
2.2.1. Ozonun Tarihçesi.....	17
2.2.2. Ozonun Yapısı	18
2.2.3. Ozonun Etkileri	19
2.2.4. Ozon Uygulama Şekilleri	20
2.2.5. Topikal Ozon Tedavisinin Avantajları	20
2.2.6. Ozonun Biyouyumluluğu	21
2.2.7. Ozonun Diş Hekimliğinde Kullanım Alanları.....	21
2.3. Yara yeri iyileşmesi.....	24
2.3.1. İyileşme Süreci	25
2.3.2. Yara İyileşmesinin Evreleri	26
2.3.4. Diş Çekimi Yaraları.....	29
2.3.5. Yara İyileşmesi Komplikasyonları	30
3. MATERYAL VE METOT.....	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Deney Hayvanları.....	33
3.1.2. Deneklerin Gruplandırılması	33
3.2. Metot	34
3.2.1. Deney Protokolü.....	34
3.2.2. Postoperatif Bakım	35
3.2.3. Ozon Uygulama Protokolü	35

3.2.4. Deneklerin Sakrifikasyonu	35
3.2.5. Değerlendirme Yöntemleri	37
3.2.6. İstatistiksel Değerlendirme	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. Klinik Bulgular.....	40
4.1.1. Stereolojik Analiz Bulguları	40
4.1.2. Radyolojik Analiz Sonuçları	50
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
KAYNAKLAR	70
EKLER	96
EK 1- Etik Kurul Onayı	96
ÖZGEÇMİŞ	97

1. GİRİŞ

Bifosfonat içeren ilaçların kullanım endikasyonları arasında multiple myelom, Paget hastalığı, malign hiperkalsemi, kemik metastazı görülen veya kemik metastazı riski taşıyan hastalar gösterilebilir. Bu grup ilaçların temel etki mekanizması, osteoklast hücrelerinin fonksiyonlarında inhibisyon gerçekleştirerek veya osteoklast hücrelerinin apoptozisini sağlayarak kemik rezorpsiyonunu ortadan kaldırmak ve kemik dokuda mineral yoğunluğunun artmasını sağlamaktır (Silva ve ark., 2016).

Bifosfonatlar tedavi edici etkilerinden dolayı sıklıkla kullanılmaktadır. Kullanım alanları içerisinde etkin ve güvenilir ilaçlardır. Nitrojen içeren ve içermeyen olmak üzere 2 çeşidi olan bifosfonatların özellikle nitrojen içeren çeşitlerinde daha sık karşılaşılan bazı komplikasyonlar bulunmaktadır. Bunlar atriyal fibrilasyon, akut faz reaksiyonları, renal yetmezlik ve özellikle daha sık olarak çene kemiklerinde görülen osteonekrozlardır. Çenelerde görülen osteonekroz ile ilgili ilk vaka raporu Marx ve ark. (2003) tarafından yayınlanmıştır. İlk zamanlarda bu nekrozların kemoterapötik ve steroid ilaç kullanımına bağlı olduğu düşünülmüş fakat sonrasında sadece bifosfonat kullanımına bağlı olarak ortaya çıktığı anlaşılmıştır (Ruggiero ve ark., 2004; Migliorati ve ark., 2006).

Amerikan Oral ve Maksillofasial Cerrahlar Birliği (AAOMS) tarafından görülme sıklığı artan bu ilaç kullanımına bağlı gelişen komplikasyonun daha iyi değerlendirilmesi ve tedavi uygulamasında standart sağlamak amacıyla 2009 yılında bir bildiri yayınlanmıştır. Bu bildiri de, bifosfonat kullanımına bağlı görülen osteonekrozlar baş boyun bölgesinden radyoterapi almamış, bifosfonat ilaç kullanmış veya halen kullanmakta olan hastaların maksilla veya mandibulalarında ortaya çıkan 8 haftadan daha fazla süre ile mevcut olan nekrotik kemik ekspozları olarak tanımlanmıştır (Ruggiero ve ark., 2009)

Osteonekrozların ortaya çıkmasında birçok sistemik ve lokal etken mevcuttur. Sistemik risk faktörleri arasında diyabet ve geçirilen malign hastalıklar bulunurken lokal faktörler arasında diş çekimi, oral cerrahi girişimler, protez irritasyonları ve periodontal hastalık mevcudiyeti bulunmaktadır. Bunların dışında bifosfonat kullanımı ile ilgili ilacın türü, nitrojen içeriği, kullanım dozu, veriliş yolu ve ilaçlarla beraber steroid kullanımı da bu özgün osteonekrozların oluşma riskini arttıran faktörlerdir (Diel ve ark., 2007; Hoff ve ark., 2008).

Osteonekroz olguları klinik olarak asemptomatik olabileceği gibi alveolar kemiklerde ve çevresindeki yumuşak dokularda ağrı, ödem, pü akışı gibi enfeksiyon belirteçlerinin görüldüğü ekspoze kemik şeklinde de ortaya çıkabilir. Daha ileri olgularda ekstraoral fistüller ve patolojik kemik fraktürleri görülebilir (Ruggiero ve Mehrotro., 2009).

Tedavide yaklaşım genel olarak medikal, cerrahi ve bunlara yardımcı tedaviler olmak üzere üç temel şekildedir. Destekleyici tedaviler cerrahi işlemler öncesinde, sonrasında ve medikal ilaçlarla beraber uygulanabilir. Araştırmacılar osteonekrozların tedavisinde birçok alternatif protokol kullanmışlardır. Bu alternatifler arasında düşük doz lazer, paratiroid hormon, trombositten zengin fibrin (PRF), hiperbarik oksijen tedavisi ve ozon uygulamaları sayılabilir (Agrillo ve ark., 2006; Agrillo ve ark., 2007; Lee ve ark., 2010; Cella ve ark., 2011; Martins ve ark., 2011).

3 adet oksijen atomunun bir araya gelerek oluşturduğu ozon molekülü doğada serbest halde bulunan bir gaz çeşididir. Ozon tedavi amaçlı olarak sıvı ve gaz formunda kullanılır. Ozon uygulamalarının dokular üstünde başlıca iki ana etkisi mevcuttur (Gupta ve Mansi, 2012). Bunlar antimikrobiyal ve dolaşım sistemi üzerine etkileridir. Antifungal, antibakteriyel ve antiviral etkileri ile yara iyileşmesini olumlu yönde etkiler. Dolaşım sisteminde temel kan hücreleri ile etkileşime girerek mikrosirkülasyonu ve oksijen metabolizmasını olumlu yönde etkiler. Ozon gazı sağlık alanında, özellikle tıp ve diş hekimliğinin çeşitli branşlarında kullanılan bir tedavi yöntemidir (Patel ve ark., 2011; Dixit ve ark., 2013).

Literatürde bifosfonat kullanımı sonrası çeşitli tedavi yöntemlerinden bahsedilmektedir. Bu tedavi yöntemlerinden biri de topikal ozon uygulamasıdır. Literatürde bifosfonat kullanımına bağlı osteonekroz görülen hastalarda ozon uygulamaları ile ilgili olumlu sonuçlar elde ettiğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Ancak ozonun dozları ve uygulama şekli ile ilgili tanımlanan net bir protokol mevcut değildir. Bu çalışmanın amacı zoledronik asit verilen deneklerde topikal ozonun farklı dozlarının iyileşme üzerine etkilerini araştırmak ve iyileşmeye katkı sağlayan etkili dozu belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

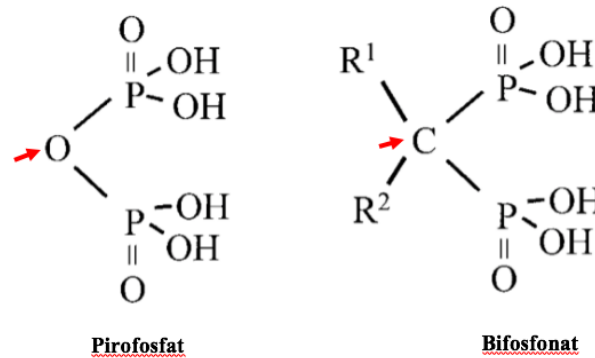
2.1. Bifosfonatlar

2.1.1. Tarihçe

Bifosfonatlar 1800'lerde tıbbi olmayan kullanım amacıyla geliştirilmiştir. İlk olarak tekstil, gübre ve yağ endüstrisi gibi alanlarda kullanılmıştır. Kalsiyum fosfat çökmesini önleme kabiliyetleri nedeniyle sonraki yıllarda bifosfonatlar su yumuşatıcıları olarak da kullanılmıştır. Bifosfonatların hidroksiapatit kristallerinin çözünmesini engellediğinin keşfedilmesi bifosfonatların klinik kullanımını gündeme getirmiştir (Fleisch, 1969; Francis ve ark., 1969; Russell, 1970). İlk olarak Etidronat, 1977'de Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylanmıştır. Ardından 1991'de Pamidronat, 1995'te Alendronat, 1998'de Risedronat, 2001'de Zoledronat ve 2005'te İbandronat klinik kullanıma dahil olmuştur. Son 40 yılda bifosfonatlar osteoporoz, Paget hastalığı, malign hiperkalsemi, multiple myelom ve metastatik tümörler gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılır hale gelmiştir (Russell, 2011).

2.1.2. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı

Bifosfonatlar, hidroksiapatit (kalsiyum fosfat) kristallerine yüksek afinite gösteren pirofosfat analoglarıdır (Jung ve ark., 1973; Fleisch, 1998; Russell ve ark., 1999). Kimyasal yapıları her ne kadar benzerlik gösterse de pirofosfatların fosfoanhidrid bağları (P-O-P yapısı) ile oksijen atomuna bağlanmış iki fosfat grubundan bifosfonatın ise fosfor-ester bağları ile karbon atomuna bağlanmış iki fosfat grubundan (P-C-P yapısı) oluşmaktadır (Şekil 1) (Rogers ve ark., 2000).

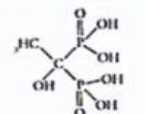
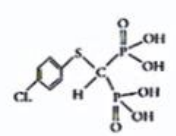
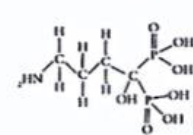
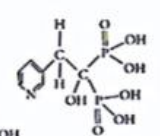
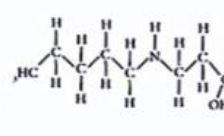
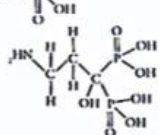
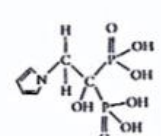


Şekil 1. İnorganik pirofosfat ile terminal bifosfonatın yapısının karşılaştırılması (Rogers ve ark., 2000'den)

P-O-P pirofosfat bağlarının aksine, bifosfonatların P-C-P yapısı ısıya ve çoğu kimyasal reaktife karşı kararlıdır ve asidik koşullar altında hidrolize karşıda oldukça dirençlidir. Bifosfonatların terminal karbon atomuna kovalent olarak bağlanan ve bifosfonatın etkinliğini belirleyen iki adet yan zinciri bulunur (R1 ve R2 zincirleri), (Şekil 1). Yan zincirlerden birinin (R1) bir hidroksil (-OH) veya primer amino grubu (-NH₂) olması ile bifosfonatın kalsiyuma olan afinitesi artmaktadır. Bu yapı kalsiyumu daha etkili şekilde bağlayabilen bir konfirmasyonun oluşumunu sağlar (Jung ve ark., 1973; Fleisch ve ark., 1968).

Tablo 1. Bifosfonat çeşitleri ve dozları (Woo ve ark., 2006'dan uyarlanmıştır)

Bifosfonat Çeşitleri				
Jenerik Adı	Marka Adı	Doz	Azot İçeriği	FDA Onayı
Etidronat Disodyum	Didronel	200-400mg tablet	Yok	01.09.1977
Klodronat Disodyum	Bonefos	400-800mg tablet; 60mg/ml ampul	Yok	Yok
Tiludronat Disodyum	Skelid	200mg tablet	Yok; kükürt içerir	07.03.1997
Alendronat Sodyum	Fosomax	5, 10, 35, 40, 75 mg tablet; 70mg/75/ml oral solüsyon	Var	29.09.1995
Alendronat Sodyum + kalsiyum	Fosomax + D	70mg ve 2800-U kolekalsiferol	Var	07.04.2005
Pamidronat Disodyum	Aredia	30, 60, 90 mg küçük şişe	Var	31.10.1991
Risedronat Sodyum	Actonel	5, 30, 35 mg tablet	Var	27.03.1998
Risedronat Sodyum + Kalsiyum	Kalsiyumlu Actonel	35mg + 500mg kalsiyum tablet	Var	12.08.2005
Zoledronik Asit	Zometa	4mg flakon	Var	20.08.2001
İbandronat Sodyum	Bonviva	2,5mg tablet 150mg tablet 3mg/3ml ampul	Var	16.03.2003 24.03.2005 06.01.2006

Bifosfonatların R ₂ grubu, yapısı ve nispi etki gücü			
Bifosfonat	R ₂ grubu	Kimyasal Yapı	Nispi Güç
Etidronat	Kısa alkil		1
Tiludronat	Siklik kloro		50
Alendronat	Aminterminal		1000
Residronat	Siklik azot		1000
İbandronat	Uzun-zincir azot		1000
Pamidronat	Amintermal		1000-5000
Zoledronat	Siklik azot		1000+

Şekil 2. Bifosfonatların yapısı ve nispi gücü (Marx., 2005'den uyarlanmıştır)

2.1.3. Bifosfonat Çeşitleri

Bifosfonatların kemik rezorpsiyonunu inhibe edebileceğinin keşfedilmesinden sonra, bir azot atomunun, molekülün yan zincirindeki kritik pozisyonlara yerleştirilmesinin ilacın etki seviyesini önemli ölçüde artırdığı belirlenmiştir. Bu şekilde kemik rezorpsiyonunu inhibe etmede 10.000 kat daha güçlü olan yeni bifosfonat tipleri üretilmiştir. Bu durum göz önünde bulundurularak bifosfonatlar azot atomu içermesine göre; azot içeren (pamidronat, alendronat, risedronat, ibandronat ve zoledronat) ve azot içermeyen (klodronat, etidronat, tiludronat) olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 1). Şekil 2, Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanan azot içeren ve azot içermeyen bifosfonat tiplerini göstermektedir (Woo ve ark., 2006).

2.1.4. Bifosfonatların Uygulanması ve Biyoyararlanımı

Uygulama şekline bağlı olarak, bifosfonatlar oral (etidronat, tiludronat, alendronat, risedronat, ibandronat) ve intravenöz (pamidronat, zoledronat) olarak sınıflandırılmaktadır. Oral uygulama için, hastaların ilaç alımından birkaç saat önce

yemek yememeleri, dik durmaları ve ilaç alımından sonra en az 30 dakika boyunca yemekten kaçınmaları gerekmektedir. Bifosfonatların iki değerli katyon içeren bir yiyecek ile alınması, emilimini tamamen engelleyebilmektedir. Bu nedenle, bifosfonatların süt, süt ürünleri veya demir takviyeleri ile birlikte kullanılmaması gerekmektedir. Henüz nedeni net olarak belirlenememekle birlikte portakal suyu ve kahvenin de bifosfonat emilimini azalttığı bildirilmiştir (Gertz ve ark., 1995). İdeal koşullar altında, oral yoldan verilen dozun yaklaşık % 1'i emilmektedir. Emilen dozun yaklaşık yarısı, çoğunlukla aktif remodelasyon bölgelerinde kemik yüzeyine bağlanmaktadır. Kemik dokusuna bifosfonatların bağlanması hastanın yaşı ve cinsiyeti ile ilacın doz ve yapısına göre değişiklik göstermektedir. Oral bifosfonatların biyoyararlanımı çok düşük olmasına rağmen, birkaç hafta içinde kemik rezorpsiyonunu inhibe edecek yeterli seviyelere ulaşılabilir (Ezra ve Golomb, 2000).

Bununla birlikte, absorbe edilen miktar, metastatik kemik hastalığında ve multiple myelomda meydana gelen güçlü resorptif etkiyi inhibe etmek için yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, böyle durumlarda pamidronat ve zoledronat gibi azot içeren bifosfonatların intravenöz infüzyonları tercih edilmektedir (Berenson ve ark., 2002; Hillner ve ark., 2003). İntravenöz bifosfonat infüzyonları, 24-48 saat içerisinde hızlı bir antirezorptif etki sağladığı bildirilmiştir (Lieberman ve ark., 1995; Black ve ark., 1996).

Uygulama şekline bakılmaksızın bifosfonatlar, böbreklerden hızlı bir şekilde metabolize olur. Böbrek yetmezliğinde idrarla atılım azalır. Bu nedenle böbrek hastalığı olan hastalarda bifosfonat grubu ilaçlar uygulanırken bu durumun göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bazen bifosfonatlar, özellikle de pamidronat, çoğunlukla karaciğer ve dalak gibi diğer organlarda da birikebilir. Yüksek dozlarda ilaç verildiğinde, birikim orantılı olarak daha fazla olmaktadır. Bifosfonatlar ayrıca burun içinden ve deriden verildiğinde bir dereceye kadar biyoyararlanıma sahiptir (Katsumi ve ark., 2010)

2.1.5. Etki Mekanizması

Kemik rezorpsiyonundan sorumlu olan osteoklast hücreleri bifosfonatların nihai hedefidir. Bifosfonatlar, hidroksiapatit kristallerine olan yüksek afinitelerinden dolayı, kemik yapım-yıkımının fazla olduğu bölgelerde yoğunlaşmıştır (Sato, 1991; Masarachia ve ark., 1996). Hidroksiapatit kristallerine bağlanan bifosfonatlar sirkülasyona minimum miktarda katılır (Lin, 1996). Kemik rezorpsiyonu sırasında ise

bifosfonatlar hidroksiapatit kristallerinden salınır ve osteoklast aktivitesini inhibe eder (Flanagan ve Chambers, 1991). Bifosfonatlar osteoklastik kemik rezorpsiyonunu 4 mekanizma yoluyla doğrudan azaltır. Bunlar osteoklast göçünün kemik yüzeyinde inhibe edilmesi (Boonekamp ve ark., 1986), osteoklast yapışmasının inhibisyonu (Colucci ve ark., 1998), kemik yüzeyinde osteoklast aktivitesinin inhibisyonu (Flanagan ve Chambers, 1991, Piper ve ark., 1994) ve apoptozisi teşvik ederek osteoklast ömrünün kısaltılmasıdır. (Hughes ve ark., 1995, Reszka ve ark., 1999). Ayrıca, bifosfonatlar anjiyogenezi azaltır ve osteoklastlarla osteoblastlar arasındaki sinyal iletimini değiştirir (Rogers ve ark., 1997; Fournier ve ark., 2002; Ledoux ve ark., 2006).

Bifosfonatların, osteoklastların veya prekürsörlerinin üzerinde etkileri doğrudan veya osteoklastları modüle eden hücrelerin etkilenmesi yoluyla dolaylı olarak gerçekleşebilir. Olgun osteoklastları etkileyen bifosfonatlar, osteoklast yapısında değişikliklere neden olarak bu hücrelerin kemiği rezorbe etme yeteneğini etkiler (Miller ve Jee, 1979; Sato ve Grasser, 1990; Murakami ve ark., 1995). Ayrıca, bifosfonatlar osteoklast hücre iskeletini bozabilir, polarizasyon ve kemik yüzeyinde sızdırmaz bir bölgenin oluşturulması için gerekli olan aktin halkalarının kaybına neden olabilir (Sato, 1991; Selander ve ark., 1994; Murakami ve ark., 1995; Hiroi-Furuya ve ark., 1999). Bununla birlikte hücrel metabolizmanın engellenmesi; lizozomal enzimlerin serbest bırakılması veya ATP'ye bağlı proton pompasının aktivitesi sonucu oluşan asit emilimi kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Lerner ve Larsson, 1987; Carano ve ark., 1990).

Önceki çalışmalar, bazı bifosfonatların osteoklast prekürsörlerini de inhibe edebileceğini ve böylece osteoklast oluşumunu önleyebileceğini göstermektedir (Boonekamp ve ark., 1986; Boonekamp ve ark., 1987). Yapılan bir çalışma düşük konsantrasyonlarda pamidronatın osteoklast prekürsörlerinin güçlendirilmesini, farklılaşmasını ve füzyonunu önlediği gösterilmiştir (Boonekamp ve ark., 1986). Bifosfonatların osteoklast inhibisyonunu sağlama nispi gücü sırası ile şöyledir: risedronat> pamidronat> neridronat> klodronat> etidronat (Hughes ve ark., 1989). Bifosfonatların osteoblast benzeri hücrelerin ve diğer bağ dokusu hücrelerinin (kalvariyal hücreler, fibroblastlar ve kondrositler) çoğalmasını inhibe ettiği de rapor edilmiştir (Fast ve ark., 1978; Guenther ve ark., 1979). Ayrıca bifosfonatlar osteoklast uyarıcı faktör salgılanmasını inhibe ederek veya osteoklast inhibe edici faktörlerin osteoblastlardan üretilmesini uyararak, osteoklastların aktivitesini dolaylı olarak da

düzenleyebilmektedir. Sahni ve ark. (1993), osteoblast benzeri CRP 10/30 hücrelerinin (osteoklast aktivitesinin güçlü uyarıcıları) ibandronat veya klodronat ile muamele edildikten sonra osteoklastlarla birlikte kültürlendiğinde kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiğini bulmuşlardır.

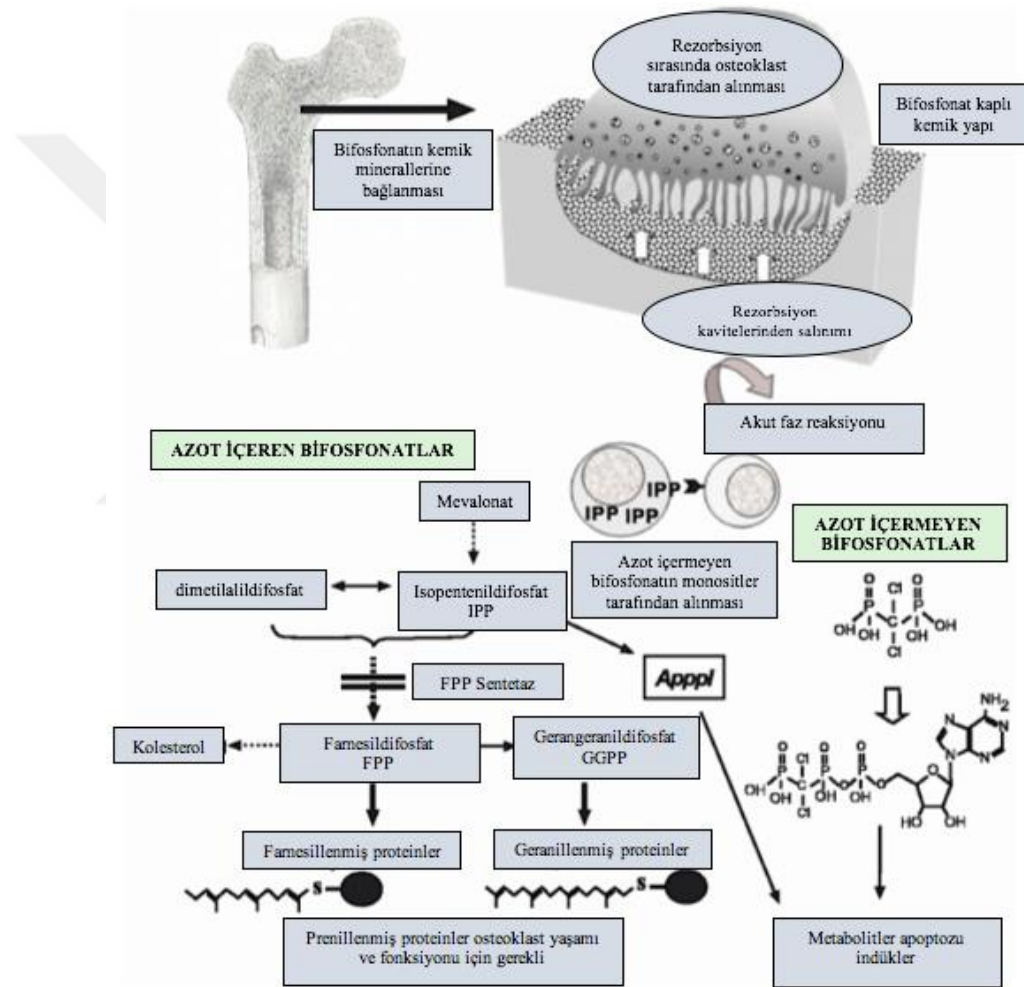
Azot içermeyen bifosfonatlar, öncelikle osteoklast apoptozisini indükleyerek kemik rezorpsiyonunu inhibe etmektedir (Frith ve ark., 2001). Buna karşılık, azot içeren daha güçlü olan bifosfonatlar, mevalonat yolunun bir anahtar enzimi olan farnesil difosfat (FPP) sentetazı, inhibe ederek işlev gösterir (Lin, 1996; Russell ve ark., 1999; Roelofs ve ark., 2006). Mevalonat yolu, izopentenil difosfat (IPP), farnesil difosfat (FPP) ve gerangeranil difosfat (GGPP) gibi kolesterol ve izoprenoid lipidlerin üretiminden sorumludur (Şekil 3) (Amin ve ark., 1992; Amin ve ark., 1996).

Azot içeren bifosfonat ile FPP sentetazının inhibisyonu, düşük FPP ve GGPP oluşumuna neden olur (Amin ve ark., 1992; Amin ve ark., 1996). FPP ve GGPP, geranil trifosfat (GTP) bağlayıcı proteinler dahil proteinlerin translasyon sonrası prenilasyonu (yağ asidi zincirlerinin transferi) için gereklidir (Amin ve ark., 1992; Amin ve ark., 1996; Gibbs ve Oliff, 1997). Bu proteinler, hücrel tutunma, membran iletimi ve hücre içi sinyal dahil olmak üzere osteoklast işlevi için önemlidir (Ridley ve Hall, 1992; Ridley ve ark., 1992; Clark ve ark., 1998). GTP bağlayıcı proteinlerin bozulması osteoklast aktivitesinin azalmasına ve apoptozun artmasına neden olur (Luckman ve ark., 1998).

Kemik mineraline bağlandıktan sonra, bifosfonatlar endositoz ile osteoklastlar tarafından alınır. Azot içermeyen bifosfonatlar (örneğin, klodronat, etidronat) osteoklast sitozolünde osteoklast apoptozisini indükleyen Adenozin tri fosfat (ATP) analoglarına metabolize edilir. Azot içeren bifosfonatlar ise FPP sentetazı inhibe ederek osteoklastların fonksiyonu ve hayatta kalması için gerekli olan küçük GTPaz proteinlerinin prenilasyonunu önler. Farnesil difosfat (FPP) sentetazın engellenmesi, APPPI içine dahil edilen İzopentenil difosfatın (IPP) birikmesine de neden olur (APPPI: osteoklast apoptozunu indükleyebilen bir ATP analogu) (Senaratne ve ark., 2000).

Bifosfonatların diğer bir farmakolojik etkisi anjiyogenezi inhibe etmesidir. Pamidronat veya zoledronat ile tedavinin vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir (Santini, 2002; Vincenzi ve ark., 2003). Bir deri altı murin büyüme faktörü implant modelinde, zoledronik asitin temel fibroblast büyüme

faktörü (bFGF) ve VEGF tarafından indüklenen anjiyogenik cevabı kuvvetle inhibe ettiği rapor edilmiştir (Wood ve ark., 2002). Yapılan bir çalışmada tek doz pamidronat almış, ilerlemiş solid kanserli ve kemik metastazı bulunan hastalarda dolaşımdaki VEGF seviyelerinde anlamlı bir azalma olduğunu göstermiştir (Santini ve ark., 2002). Kapitola ve Zak (1998) yaptıkları çalışmada pamidronatın sıçan femurunda ve tibiada kan akışını azalttığını bulmuşlar, bu durumun kalsiyum ve hidroksiapatit moleküllerinin kemikle olan inhibisyonları ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 3 Bifosfonatların osteoklastlar üzerindeki etkisi (Russell, 2008'dan uyarlanmıştır)

Bifosfonatların diğer bir farmakolojik etkisi anjiyogenezi inhibe etmesidir. Pamidronat veya zoledronat ile tedavinin vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir (Santini, 2002; Vincenzi ve ark., 2003). Bir deri altı

murin büyüme faktörü implant modelinde, zoledronik asitin temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve VEGF tarafından indüklenen anjiyogenik cevabı kuvvetle inhibe ettiği rapor edilmiştir (Wood ve ark., 2002). Yapılan bir çalışmada tek doz pamidronat almış, ilerlemiş solid kanserli ve kemik metastazı bulunan hastalarda dolaşımdaki VEGF seviyelerinde anlamlı bir azalma olduğunu göstermiştir (Santini ve ark., 2002). Kapitola ve Zak (1998) yaptıkları çalışmada pamidronatın sıçan femurunda ve tibiada kan akışını azalttığını bulmuşlar, bu durumun kalsiyum ve hidroksiapatit moleküllerinin kemikle olan inhibisyonları ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

DeneySEL kanıtlar, bifosfonatların aynı zamanda neoanjiogenezi de inhibe ettiğini göstermektedir. Fournier ve ark. (2002) bifosfonatların kapiller tüp oluşumunu ve damar oluşumunu azalttığını yaptıkları çalışmada göstermişlerdir. Wood ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada bifosfonatların kültürlenmiş insan umbilikal veninde ve sıçan aort halka hücrelerinde endotel proliferasyonunu doza bağımlı olarak inhibe ettiğini göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar, zoledronik asidin, tavuk yumurtası koryoallantoik membran analizinde germ oluşumunu azalttığını göstermiştir. Kemik anjiyogenezinde osteoklastların önemli olduğu bilinmektedir (Cackowski ve ark., 2010). Schoutens ve ark. (1984), yaptıkları çalışmada kemikte kan dolaşımında oluşan artışla birlikte osteoklast sayısında artış gözlenirken, kemik rezorpsiyonunun baskılanmasının kan akışının azalması ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir.

2.1.6. Klinik Uygulama

Büyük bir sağlık sorunu olan osteoporoz, 50 yaşın üzerindeki yaklaşık 10 milyon insanı etkilemektedir. Osteoporoz ileri yaştaki erişkinlerde en sık görülen kırık nedenidir. Her yıl osteoporoz veya osteopeni sonucu iki milyondan fazla kırık görülmektedir. Osteoporotik kalça kırıkları en yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Günümüzde, bifosfonat grubu ilaçlar, yılda 17 milyondan fazla reçete edilerek osteoporoz hastalarında kırıkların önlenmesinde ilk basamak tedaviyi oluşturmaktadır (Lieberman ve ark., 1995; Black ve ark., 1996; Hochberg ve ark., 2002; Bone ve ark., 2004) Bifosfonatların antirezorptif aktivitesi osteoporoz hastalarında kırık riskini % 40-70 oranında azaltmaktadır (Lieberman ve ark., 1995; Black, 1996; Black ve ark., 2007). Benzer şekilde, bifosfonatlar malign kemik hastalığı olan hastalar için de standart bir tedavi haline gelmiştir. Kemik metastazı, ciddi kemik ağrısı, patolojik kırıklar, omurilik sıkışması ve malign hiperkalsemi dahil olmak üzere önemli derecede

iskelet morbiditesi ile ilişkilidir. Bu iskelet komplikasyonları, aşırı kemik metabolizmasının bir sonucu olarak ortaya çıkar. Bifosfanatlar kemik rezorpsiyonunu inhibe ederek, iskelet sistemi komplikasyonlarını azaltmakta ve kanser hastalarında kemik metastazını önlemektedir. Ek olarak, bifosfonatların, kanser hücreleri üzerinde doğrudan antiproliferatif ve proapoptotik etkilere sahip olduğu ve bunun da kemik metastazlarının görülme sıklığını azaltabileceği bildirilmiştir (Diel ve ark., 2000; Senaratne ve ark., 2000; Tassone ve ark., 2000). Bifosfonatların ayrıca Paget hastalığı gibi diğer metabolik kemik bozukluklarında ve osteogenezis imperfekta gibi konjenital patolojilerde de faydalı olduğu kanıtlanmıştır (Reid, 2005).

2.1.7. Bifosfonatların Yan Etkileri

Bifosfonatlar genellikle iyi tolere edilir. Bununla birlikte, yüksek dozlar, uzun süreli kullanım ve bu ilaçların eliminasyonunun azalması, kemik ağrısı, osteomalazi, gastrik ülser, nefrotoksisite ve bifosfonat ile ilişkili çene kemiği osteonekrozu (BRONJ) gibi ciddi komplikasyonlar ile ilişkilidir (Conte ve Guarneri, 2004; Strampel ve ark., 2007; Adami ve Zamberlan, 1996).

Bir dizi gastrointestinal sistemdeki yan etkiler, gastrointestinal erozyonlar, ülserler, perforasyonlar ve darlıklar bifosfonatların oral kullanımı ile ilişkilendirilmiştir. Bu yan etkilerin görülme sıklığı doza ve doz sıklığına bağlıdır. Muhtemelen bu durumlar yüksek doz lokal bifosfonat konsantrasyonlarının komşu hücrelerde toksik seviyelere ulaşması sonucunda ortaya çıkar, ancak bu durum standart osteoporoz dozlarında da oluşabilmektedir. Bifosfonat tedavisi, özellikle intravenöz yoldan uygulandığında kemik ağrısına neden olur. Kemik ağrısı genellikle, interlökin-6 ve tümör nekroz faktörü- α gibi enflamatuvar sitokinlerin salınmasına cevaben ikincil bir akut faz reaksiyonunun bir parçası olarak ortaya çıkar (Conte ve Guarneri, 2004). Yüksek doz intravenöz pamidronat veya zoledronat alan hastalarda akut tübüler nekroz bildirilmiştir (Markowitz, 2003; Hewitt ve ark., 2005). Böbreklerde metabolize olduğundan, intravenöz infüzyonlar ile bifosfonatlar çok hızlı bir şekilde verilirse böbrek hasarı meydana gelebilir. Geri dönüşümsüz hasar bildirilmiş olmasına rağmen, ilaç kesildikten sonra böbrek fonksiyonu genellikle normale dönmektedir (Bounameaux ve ark., 1983). Son zamanlarda, bazı epidemiyolojik çalışmalar bifosfonatlar ile atriyal fibrilasyon arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Black, 2007; Cummings ve ark., 2007; Heckbert ve ark., 2008). Bu durumun ortaya çıkmasına neden olan

mekanizmanın, atriyal remodeling ve fibrozisi etkileyen hipokalsemi veya bifosfonat kaynaklı enflamasyon gibi elektrolit dengesizliği olduğu düşünülmektedir (Aviles ve ark., 2003; Boos ve ark., 2006; Dicuonzo ve ark., 2003). Diş hekimliğinde karşılaşılan bifosfonat ilaç kullanımına bağlı önemli bir komplikasyon da çenelerde görülen osteonekrozlardır.

2.1.8. Bifosfonatlar ile İlişkili Çene kemiği Osteonekrozu (BRONJ)

Fosforlu bileşiklerle ilişkili osteonekroz riski ilk olarak 19. yüzyılda açıklanmıştır (Marx, 2008). “Fosil Çene” veya “Çenenin Fosfor Nekrozu” olarak adlandırılan mesleki bir hastalık, beyaz fosforla çalışan kibrit endüstrisindeki işçiler arasında görülmüştür (Miles, 1972). İşçilerde ağrı, enfeksiyon ve çene kemiğinin açığa çıkması gibi semptomlar bildirilmiştir “Fosil çenesi” insidansı, sanayide beyaz fosfor kullanımının azalması ve çalışma koşullarının iyileşmesi ile yıllar içinde azalmıştır. Bununla birlikte, 1999'da oral bifosfonat tedavisinin bir komplikasyonu olarak oral mukoza ülserasyonları rapor edilmiştir (Demerjian ve ark., 1999). Ülserasyonun, alendronat tedavisinin bilinen diğer bir yan etkisi olan özofagus ülserasyonuna benzer doğrudan mukozal yaralanma sonucu olduğu düşünülmüştür (de Groen ve ark., 1996). 2001 yılına kadar oral ve intravenöz bifosfonat tedavisi yaygın olarak kullanılmıştır. Bunu takiben bilimsel toplantılarda vakaların rapor edilmesi ve 2003 yılında literatürde yayınlanması ile BRONJ tanımlanmıştır (Marx, 2003; Migliorati, 2003; Wang ve ark., 2003). O zamandan beri, literatürde 1000'den fazla BRONJ vakası bildirilmiştir (Dunstan ve ark., 2007).

AAOMS, BRONJ'u “baş ve boyun bölgesine radyoterapi almamış hastalarda meydana gelen ve bifosfonat tedavisi uygulanan hastalarda tespit edilen maksillofasiyal alanda açıkta kalan ve en az 8 hafta sonra iyileşme göstermeyen nekrotik kemik” olarak tanımlamaktadır (AAOMS, 2007).

Bugüne kadar BRONJ'un gerçek görülme sıklığı bilinmemektedir. Rapor edilen vakaların yüksek bir oranı (% 97), kanser hastalarında kullanılan ileri doz intravenöz bifosfonat ile ilişkilidir (Bamias ve ark., 2005; Dimopoulos ve ark., 2005; Hoff ve ark., 2006; Dunstan ve ark., 2007). Ancak osteoporoz ve Paget hastalığı gibi oral bifosfonat kullanan hastalarda düşük bir oran (% 3) bildirilmiştir (Felsenberg ve Hoffmeister, 2006; Mavrokki ve ark., 2007). Ayrıca, BRONJ sıklığının multiple myeloma (% 55,9) ve meme kanseri (% 33,4) hastalarında daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Dunstan ve

ark., 2007). Kanser hastalarında artmış risk kanserin, kemoterapinin ve kortikosteroidlerin, immünolojik durumu baskılayarak enfeksiyon riskini arttırması ve yara iyileşmesini azaltması ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, kanser hastaları osteoporoz hastalarından 12-50 kat daha yüksek bifosfonat dozları almaktadır. Oral bifosfonat alan osteoporoz hastalarında tahmini BRONJ insidansı 100.000 kişi / yıl yaklaşık 0,7'dir (Lo ve ark., 2010; Hellstein ve ark., 2011). İntravenöz bifosfonat alan kanser hastalarında ise BRONJ insidansı % 0,72 ile % 7,4 arasında değişmektedir (Bamias ve ark., 2005; Dimopoulos ve ark., 2006; Walter ve ark., 2008; Hoff ve ark., 2008; Vahtsevanos ve ark., 2009). Yayınlanan çalışmalar arasındaki insidans oranlarındaki geniş farkın, tedavi rejimleri (tip, doz, süre), çalışmaların tipi (kansere popülasyonunun alt kümesini değerlendiren tek merkezli çalışmalar), hastaların yaşı, hastalığın durumu ve kanser tedavisindeki değişikliklere bağlı olduğu düşünülmektedir.

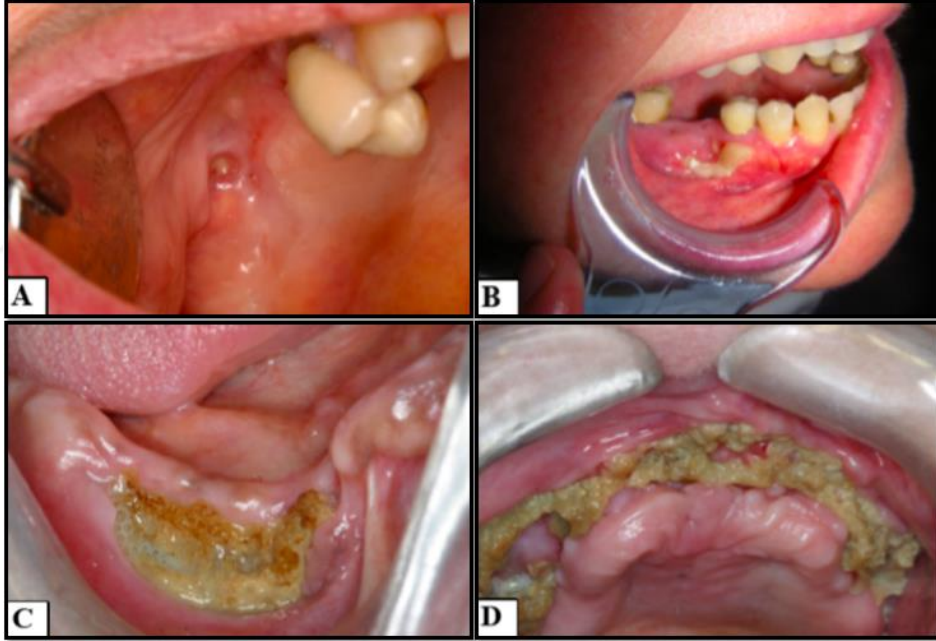
BRONJ, bifosfonat tedavisinin intraoral bir komplikasyonu olarak tanımlanmaktadır. Çenenin yapısal anatomisi ve fizyolojisinin, ağız boşluğunun mikroorganizma bakımından zengin olmasının ve çiğnemenin fizyolojik streslerinin BRONJ gelişiminde önemli ortak faktörler olabileceği öne sürülmektedir (Polizzotto ve ark., 2006). Ancak son zamanlarda, literatürde atipik femur kırığı ve bifosfonat tedavisi ile ilişkili dış kulak kanalının osteonekrozu vakaları da bildirilmiştir (Lenart ve ark., 2008; Lenart ve ark., 2009; Froelich ve ark., 2011).

BRONJ lezyonları asemptomatik olabilirken bazen ağrı, pürülan akıntı, şişme, diş mobilitesi ve parestezi ile birlikte görülebilmektedir (Şekil 4). Bu lezyonlar yemek yeme ve konuşma kabiliyetini azaltır (Roggiero ve ark., 2004; Marx ve ark., 2005). BRONJ mandibulada daha sık (% 65) görülür. Maksillada % 26 ve her iki çenede % 9 oranında görüldüğü bildirilmiştir (Woo ve ark., 2006). BRONJ görülme sıklığı çenenin posterior bölgesinde daha yüksektir. BRONJ lezyonlarının yaklaşık % 60'ı dental tedavilerden sonra meydana gelirken, % 40'ı spontan olarak gelişmektedir (Bamias ve ark., 2005; Woo ve ark., 2006).

BRONJ hastalarının farklı radyolojik, klinik semptomlara ve farklı sistemik hastalıklara sahip olmaları nedeniyle çeşitli cerrahi, medikal ve yardımcı tedavi seçenekleri uygulanmaktadır. Tedavi seçimine karar verme ihtiyacından dolayı literatürde birçok BRONJ sınıflandırma sistemi bulunmaktadır. Günümüzde en sık kullanılan 2004 yılında Ruggiero ve ark. (2004) tarafından ortaya çıkarılan daha sonra

2009 yılında revize edilen BRONJ evrelendirme sistemi kullanılmaktadır. Bu sınıflandırma 2014 yılında tekrar güncellenmiştir. Bu evrelendirme sistemine göre bifosfonat kullanan hastalar sahip oldukları semptomlara göre 4 evreye ayrılmış ve bu evrelere göre tedavi protokolleri oluşturulmuştur (Ruggerio ve ark., 2004, Ruggerio ve ark., 2014; Fusco ve ark., 2015), (Şekil 5).

Halen BRONJ için etkili bir tedavi protokolü geliştirilememiştir ve bifosfonatın kesilmesi, bu bileşiklerin kemikte uzun süre kalma eğiliminde olması nedeniyle etkili değildir (Lin, 1996; Ott, 2005). Radikal cerrahi müdahale genellikle durumu kötüleştirmektedir. BRONJ tedavisinde hiperbarik oksijen tedavisinin rolü de tam olarak anlaşılmamıştır. BRONJ hastalarında genellikle debridman yapılarak, antibiyotik ilaç kullandırarak ve klorheksidin içeren ağız gargaraları kullanarak konservatif tedavi ile hasarın derecesi sınırlandırılmaya çalışılmaktadır (Saad ve ark., 2012).



Şekil 4: BRONJ'un evrelerini gösteren klinik tablo (A, B, C, D) (Math, 2013'den alınmıştır)

2.1.9. BRONJ Risk Faktörleri

Literatürde BRONJ gelişimine neden olabilecek birçok risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Oral cerrahi sırasında oluşan travma, ileri kanser vakaları, kemoterapi alımı, dental enfeksiyon varlığı, diyabet hastalığı, kortikosteroid, tütün ve alkol kullanımı gibi faktörlerin BRONJ gelişimi riskini arttırdığı rapor edilmiştir (Ruggerio

ve ark., 2004; Bamias ve ark, 2005; Marx ve ark., 2005; Hoff ve ark., 2006; Woo ve ark., 2006; Dunstan ve ark., 2007; Mavrokokki ve ark., 2007).

Evreler	Bulgular	Tedavi Yöntemleri
Risk Altında	-Bifosfonat ilaç kullanımı, -Belirgin nekrotik kemik yok	-Oral hijyen eğitimi ve olası riskler bakımından hastanın bilgilendirilmesi
Evre-0	-Klinik olarak nekrotik ekspozite kemik yok, -Radyolojik değişiklikler mevcut, hafif ağrı semptomu var	-Ağrı kesici ilaçların kullanımı, -Sistemik antibiyotik tedavi
Evre-1	-Asemptomatik seyreden yada enfeksiyon belirtisi olmayan açığa çıkmış nekrotik kemik veya fistül varlığı	-Antibakteriyel ağız gargarası, -Üç ayda bir klinik takip, -Hasta eğitimi ve devam eden bifosfonat tedavisi için endikasyonların gözden geçirilmesi
Evre-2	-Şiddetli ağrı, eritem ve enfeksiyon belirtilerinin eşlik ettiği açığa çıkmış nekrotik kemik veya fistül varlığı	-Sistemik antibiyotik tedavi, -Antibakteriyel ağız gargarası, -Ağrı kesici ilaçların kullanımı, -Yumuşak doku tahribatını azaltmak ve enfeksiyon kontrolünü sağlamak için debridman
Evre-3	-Şiddetli ağrı ve inatçı enfeksiyonların eşlik ettiği patolojik fraktür, ekstraoral fistül, oro-antral yada oro-nazal bağlantı oluşumlarından en az birini görüldüğü ekspozite nekrotik kemik	-Sistemik antibiyotik tedavi, -Antibakteriyel ağız gargarası, -Ağrı kesici ilaçların kullanımı, -Enfeksiyon ve ağrının uzun süreli hafiflemesi için cerrahi debridman veya rezeksiyon

Şekil 5: Evrelerine göre BRONJ sınıflandırılması (Ruggerio ve ark. 2014' den uyarlanmıştır.)

Dental Travma

Diş çekimi ve periodontal cerrahi gibi dental işlemlerden kaynaklanan travmalar BRONJ gelişimine en sık neden olan faktörler arasında gösterilmektedir (Ruggerio ve ark., 2004). BRONJ vakalarının % 60'ının dentoalveolar cerrahi işlemler ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Woo ve ark., 2006). Ruggiero ve ark. (2004) yaptıkları çalışmalarında BRONJ hastalarının % 86'sının dentoalveolar cerrahi öyküsü olduğunu belirtmiştir. Karşılaştırılabilir bulgular diğer büyük klinik çalışmalarda da rapor edilmiştir (Marx ve ark., 2005; Badros, 2006). Badros ve ark. (2006) diş çekimi sonrası BRONJ gelişim riskinin 9 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Marx ve ark. (2005)

BRONJ vakalarının periodontal cerrahi (% 11,2), dental implant yerleştirme (% 3,4) ve cerrahi endodontik prosedürler (% 0,8) gibi diğer dental işlemlerle de ilişkili olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte cerrahi uygulama yapılmaksızın kök kanal tedavisi ile bağlantılı olarak da BRONJ gelişimi bildirilmiştir (Sarathy ve ark., 2005). Araştırmacılar spontan gelişen BRONJ vakalarının % 40'ının muhtemelen enfeksiyon, protez travması veya diğer fiziksel travma ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir (Woo ve ark., 2006).

BRONJ lezyonları en sık mandibula posteriorunda lingual bölgede görülmektedir. Bu durum sağlıklı yetişkinlerde görülen lingual mandibular sekestrasyona benzerlik gösterebilmektedir. Lingual mandibular sekestrasyon etiyojisinin, ince mukozada ve altta yatan periosteumda lokal hasara yol açan ve kemik nekrozuna yol açan küçük travma ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Peters ve ark., 1993; Niesler ve ark., 2001). Bu lezyonların kendiliğinden düzeldiği bilinmektedir. Diğer spontan BRONJ gelişebilen bölgeler, ekzostoz veya palatal torus gibi kolayca travmatize edilebilecek bölgeleri içermektedir (Marx ve ark., 2005). Ayrıca uygun olmayan protezler ile BRONJ gelişimi arasında güçlü bir ilişki kurulmuştur (Dunstan ve ark., 2007).

Periodontal hastalık

Marx ve ark. (2005) BRONJ vakalarının % 84'ünde periodontal hastalık, % 29'unda ilerlemiş periodontitis olduğunu bildirmiştir. Ficarra ve ark. (2005) periodontal olarak prognozu kötü olan dişlerin çekilmesinin ardından 9 BRONJ vakası bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar periodontal hastalıklar ve BRONJ arasında ilişki olabileceğini bildirmişlerdir. Fakat BRONJ görülen periodontal hastalıklı bireyler BRONJ seyri ve tedavi uygulamaları hakkında ayrıntılı bilgi vermemişlerdir (Badros, 2006; Van Poznak ve Estilo, 2006; Dunstan ve ark., 2007). BRONJ hastalarında periodontal hastalık prevalansını belirleyen bir çalışma henüz yapılmamıştır. Bu özellikle önemlidir, çünkü literatürde rapor edilen neredeyse tüm BRONJ hastaları periodontal hastalık için risk göstergeleri olan daha yaşlı ve immün sistemi baskılanmış hastalardır (Van Ponzak ve Estilo, 2006). Badros (2006) yaptığı çalışmada 17 hastanın 9'unda BRONJ lezyonlarından periodontal patojenleri (Prevotella ve Porphyromonas türleri), kalan 8 hastadaki lezyonlarda ise Actinomyces türlerini izole etmiştir. Bu mikroorganizmaların BRONJ gelişimine katkısı bilinmemektedir ve bakteriyel

kolonizasyonun BRONJ gelişimine katkıda bulunup bulunmadığını veya ikincil enfeksiyonu temsil edip etmediğini belirlemek oldukça önemlidir. BRONJ bölgelerinden kemik bölümlerinin, ağırlıklı olarak Fusobacterium, Actinomyces, Staphylococcus, Streptococcus, Salmonella ve Traponema gibi bakterilerden oluşan mikrobiyal biyofilmler içerdiğini göstermiştir (Lugassy, 2004; Migliorati ve ark., 2005; Sedghizadeh ve ark., 2008).

Diğer Potansiyel Risk Faktörleri

Kanser hastaları BRONJ gelişimi için risk altındaki ana popülasyonu temsil ettiğinden, kemoterapinin yan etkilerinin ana risk faktörü olduğu düşünülmelidir. Kemoterapötik ajanlar, hastaların bağışıklık durumunu değiştirerek enfeksiyon riskini artırabilir ve yara iyileşmesini azaltabilir (Bamias ve ark. 2005). Aslında, BRONJ tanımlanmadan çok önce, kanser kemoterapisi alan hastalarda 2 çene osteonekrozu vakası bildirilmiştir (Schwartz ve ark., 1982). Kanser hastalarının çoğunluğu, kanser tedavisinin bir parçası olarak kortikosteroid de kullanmaktadır. Osteoblastlar üzerindeki kortikosteroid etkileri yoğun olarak çalışılmıştır ve bu nedenle bunların BRONJ gelişimi için de potansiyel risk faktörü oluşturabileceği düşünülmektedir (Canalis, 2005). Ayrıca femur başı avasküler nekrozu uzun süreli kortikosteroid tedavisi alan hastalarda iyi tanınan bir klinik durumdur (Gebhard ve Maibach, 2001). Multiple miyelom hastalarına verilen talidomid gibi diğer ilaçlar da osteoklast prekürsör hücreleri üzerindeki inhibe edici etkileri nedeniyle potansiyel risk faktörleri olarak düşünülmelidir (Anderson ve ark., 2006). Khamiasi ve ark. (2007) yaptıkları araştırmada, diabetes mellitus ve osteonekroz arasında güçlü bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Yazarlar, çalışmalarındaki BRONJ hastalarının % 58'inde ya diabetes mellitus ya da bozulmuş açlık glikozunun bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu durum genel popülasyondaki diabetes mellitus ile karşılaştırıldığında, % 14 daha yüksek olduğu görülmüştür. Bifosfonat ilaç alan ancak BRONJ tanısı almayan kanser hastaları ile karşılaştırıldığında % 12 daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Khamiasi ve ark., 2007).

2.2. Ozon

2.2.1. Ozonun Tarihçesi

Ozon İsviçre'nin Basel Üniversitesindeki Alman kimyager Christian Friedrich Schonbein, tarafından 1840 yılında keşfedilmiştir. İlk ozon jeneratörünü, Almanya'da

Werner Von Siemens 1857'de geliştirilmiştir. 1870' de Dr. C. Lender ozonu test tüplerinde kanın saflaştırılması için kullanmıştır. Tıbbi alanda ozon 1936'ya kadar yaygın bir şekilde kullanılmamıştır (Fish, 1936). İsviçreli bir diş hekimi olan Dr. Fish, ozonun gaz ve sıvı formunu kullanmıştır. Tıbbi kullanım için ilk ozon jeneratörü 1957 yılında Alman fizikçi Joachim Hänsler ve Dr. Hans Wolff tarafından geliştirilmiştir. 1980'lerin sonrasında ozon dental alandaki araştırma ve uygulamalarda giderek artan sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (Gupta ve Deepa, 2016).

2.2.2. Ozonun Yapısı

Ozon (O_3) kelimesi, Yunanca ozein (odorant) kelimesinden türemiştir. Ozon, tıpta ve diş hekimliğinde kullanılabilen en güçlü antimikrobiyal ajanlardan biridir. 1920'lerde İsviçreli bir diş hekimi olan Dr. Edwin Parr, dezenfeksiyon sisteminin bir parçası olarak O_3 kullanmıştır (Bocci, 2006). Günümüzde O_3 tedavisi, Avrupa ülkelerinin çoğunda iyi bilinen alternatif ve tamamlayıcı bir tedavi yöntemidir.

O_3 , 3 oksijen atomundan oluşan yüksek enerjili bir atmosferik oksijen formu olan trioksijen veya tritomik oksijen olarak da bilinir. Atmosferde doğal olarak meydana geldiği ve dünyayı 15000 km ile 30500 km arasındaki bir yükseklikte çevrelediği için O_3 'ün dünyanın ekolojik düzeninin sağlanmasında önemli bir rolü vardır (McKetta, 1968). Bir oksijen molekülü, yüksek enerjili ultraviyole (UV) radyasyona maruz kaldığında stratosferde iki serbest oksijen atomuna parçalanır. Bu serbest oksijen atomları ozon üretimine yol açan oksijen molekülleri ile çarpışır. Ozon genellikle gök gürültüsü ve şimşek çakması gibi olaylarla ortaya çıkar ve aynı zamanda yer seviyesindeki endüstriyel kirleticilerle etkileşimi de olduğu bilinmektedir (Gupta ve Deepa, 2016).

O_3 , 16-20 mg /ml konsantrasyonla stratosferde bol miktarda bulunan mavi bir gazdır. Kararsız kimyasal bağa sahip olan O_3 molekülü oksijen gazını oluşturmak için hızlı bir şekilde bulunduğu ortama serbest oksijen molekülü bırakır. Bu kararsızlığa bağlı olarak antimikrobiyal amaçla kullanıldığında, serbest klor atomuna göre yaklaşık % 150 daha etkin oksidasyon potansiyeline sahiptir. Bu güçlü oksidan özelliği tıp ve diş hekimliği alanlarında ozon kullanılmasına neden olmuştur (Gupta ve Deepa, 2016).

2.2.3. Ozonun Etkileri

Ozonun Mikroorganizmalar Üzerindeki Etkileri

Ozon bakterilerin hücre zarlarına lipid ve lipoprotein bileşenlerinin oksidasyonu yoluyla etki eder. Proteinlerle etkileşimine dair kanıtlar da vardır (Mudd ve ark., 1969; Sawadaishi ve ark., 1985). Ozon, bakteri sporlarının iç zarında hasar meydana getirir. Böylelikle sporların üremesine engel olduğu düşünülmektedir (Young ve Setlow, 2004).

Tüm virüsler ozona hassastır; ancak duyarlılıkları değişiklik göstermektedir (Roy ve ark., 1981). Lipit zarflı virüslerin ozona daha fazla duyarlı olduğu bildirilmiştir (Burlison ve ark., 1975; Katzenelson ve ark., 1979). Yapılan çalışmalarda ozonun virüslerin tutunma kabiliyetini zayıflatan polipeptid zincirlerine ve zarf proteinlerine hasar verdiği görülmüştür. Ayrıca virüslerin RNA'larında hasarlara neden olduğu gösterilmiştir (Roy ve ark., 1981). Mantar ve protozoalarda ise ozon belirli miktarda hücre büyümesini inhibe etmektedir (Bocci, 2006).

Ozonun Kan Hücreleri Üzerindeki Etkisi

Ozon, kırmızı kan hücrelerinin pıhtılaşmasını azaltır veya tamamen ortadan kaldırır. Kırmızı kan hücrelerinin pıhtılaşması oksijen taşıma kabiliyeti ile birlikte tekrar geri döner. Serbest radikal temizleyiciler olarak işlev gören glutasyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz üretiminin uyarılmasını sağlar (Bocci, 2007). Ozonun lökositler üzerindeki etkisi, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interlökin-2, interlökin-6, interlökin-8, transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) gibi zayıf bir sitokin gibi davranmaktadır. (Arsalane ve ark., 1995; Van Hoff ve ark., 1997; Bayram ve ark., 2001; Cho ve ark., 2001). Ozon, hücrel membranlarda lipid tabakasının doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek, en önemli sitokin indükleyicilerinden biri olan hidrojen peroksiti (H_2O_2) oluşturur (Reth, 2002). Trombositler üzerinde ise ozon; H_2O_2 , fosfolipaz C, fosfolipaz A2, siklo-oksijenazlar, lipooksijenazları ve tromboksan sentezini aktive eder. Ayrıca ozon hücre içi kalsiyum, prostaglandin E2, prostaglandin F2a ve tromboksan A2'nin salgılanmasına neden olur (Maresca ve ark., 1992; Iuliano ve ark., 1997; Valacchi ve Bocci, 1999; Mudd ve ark., 1997).

2.2.4. Ozon Uygulama Şekilleri

Avrupa Medikal Ozon Topluluğu (ECMOS), olası hava embolisi riski nedeniyle doğrudan ozon veya oksijen gazının intravenöz enjeksiyonlarından kaçınılması konusunda dikkatli olunması gerektiğini bildirmiştir (Nogales ve ark., 2008).

Ozon Gazı Uygulaması

Ozon üreten ekipman, oksijeni ozona dönüştürür. Ozon daha sonra silikon kap ile donatılmış bir el parçasına yönlendirilir. Çeşitli diş formlarına ve yüzeylerine karşılık gelen farklı şekilli silikon kaplar mevcuttur. Bu, silikon kap ve dişin çeşitli alanları arasında yakın temas sağlar, böylece ozon kaçağı olmaz. Ozon, en az 10 saniye boyunca diş üzerinde bulunan silikon kabın içinden geçirilir. Silikon kabın içindeki ozon tekrar toplanır ve aparat tarafından oksijene dönüştürülür (Eroğlu ve ark., 2018)

Ozonun Sulu Çözeltisinin Kullanım Alanları

Bu formda aşağıdaki ozon özellikleri kullanılır (Onouchi ve ark., 1965):

- Dezenfektan ve sterilizasyon etkisi,
- Hemostatik etki, özellikle kanama durumlarında,
- Hızlandırılmış yara iyileşmesi,
- İyileştirilmiş oksijen arzı,
- Metabolik süreçlerin desteği

Ozon Yağı

Ozonlanmış yağlar, saf oksijen ve ozonun içinden geçtiği saf bitki özleridir. Bitki özleri, kalın, viskoz bir yağ veya bazı durumlarda bir jöle benzeri ürün oluşturmak için kimyasal bir reaksiyona girer. Nihai ürünler ozonitler içerir. Bu harici uygulama yöntemi zararsızdır (Patel ve ark., 2011).

2.2.5. Topikal Ozon Tedavisinin Avantajları

Antibiyotiğe karşı direnç gelişme olasılığı her zaman vardır. Ozonun antibiyotiklerin olumsuz etkilerini de ortadan kaldırdığına dair kanıtlar vardır. Öte yandan patojenler, ozonun oksidatif etkilerinin üstesinden gelememektedir. Bunun yanında ozonun bakteriyel toksinleri doğrudan etkisizleştirdiği görülmüştür. Bu

toksinlerin etkilerinin ortadan kaldırılması, bakterilerin dokular üzerindeki yıkıcı etkilerinin önlenmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Bocci, 1994; Stübinger ve ark., 2006).

2.2.6. Ozonun Biyouyumluluğu

Bir çalışmada ozonun farklı çeşitleri antiseptik % 2 klorheksidin diglukonat (CHX) ve % 5,25, % 2, 25 sodyum hipoklorit (NaOCI); % 3 hidrojen peroksit (H₂O₂) ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışma ozon gazının ve sıvı ozonun insan oral epitelyal hücreleri ve dişeti fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini araştırmıştır. Sulu ozonun, test edilen antiseptikler içinde biyouyumluluk seviyesi en yüksek olan grup olduğu bulunmuştur (Huth, 2006). Başka bir çalışmada L-929 fare fibroblastlarının metabolik aktivitesi, hücreler ozonlu su ile muamele edildiğinde yüksek, hücreler % 2,5'lik NaOCI ile muamele edildiğinde önemli derecede düşük bulunmuştur (Nagayoshi ve ark., 2004). Yapılan bir çalışmada avulse dişlerin kök yüzeyinin sıvı ozon ile temizlenmesinin periodontal ligament hücre proliferasyonu üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığını göstermiştir (Ebensberger ve ark., 2002). Başka bir çalışma, odontoblastik hücrelerin bakteriyel lipopolisakkaritlere (LPS) karşı enflamatuvar tepkiler gösterdiğini bildirilmiştir. Ozonlanmış su, LPS kaynaklı enflamatuvar yanıtları iyileştirmiştir (Noguchi ve ark., 2009).

2.2.7. Ozonun Diş Hekimliğinde Kullanım Alanları

Ağız Hastalıklarında Kullanım Alanları

Bazı araştırmacılar herpes lezyonları üzerinde topikal ozonun etkilerini araştırmıştır (Bassi ve ark., 1982; Olwin ve ark., 1997). Herpes labialis ve mandibular osteomyelit üzerine uygulanan ozonlu yağın, geleneksel protokollere göre iyileşmeyi hızlandırdığı bildirilmiştir (Nogales ve ark., 2008). Ozonun, herpes virüslerini doğrudan etki ile nötralize edebildiği, böylece virütik etkilerini inhibe ederek dolaşımı artırma yoluyla dokuların iyileşmesini uyardığı ve ozonun diş hekimliğinde kullanabileceğimiz en güçlü oksidanlardan biri olduğu bildirilmiştir. (Grootveld ve ark., 2006). Topikal ozon tedavisi farklı araştırmacılar tarafından liken planus tedavisinde kullanılmıştır. Liken planus tedavisinde steroid ilaçlarla beraber ozon uygulaması başarılı sonuçlar göstermiştir (Mostafa ve Zakaria, 2018). Bir çalışmada ozon tedavisi, düşük doz lazer tedavisi ve steroid ilaç kullanımının liken planus lezyonlarının iyileşmesi üzerine

etkileri araştırılmıştır. Topikal ozon uygulaması ve steroid ilaç kullanımının lazer uygulamasına göre daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir. (Kazancıoğlu ve Erişen., 2015). Oral mukozit tedavisinde ozon uygulamasının olumlu sonuçlar ortaya koyduğu bildirilmiştir (Bayer ve ark., 2017). Bazı araştırmacılar rekürrent aftöz stomatit tedavisinde topikal ozon uygulaması yapmışlardır. Ağrı seviyelerinde azalma ve ülser boyutlarında küçülme görmüşler, lezyonun iyileşme süresinin kısaldığını bildirmişlerdir (Al-Omiri ve ark., 2016; Kovach ve ark., 2017).

Oral Cerrahide Kullanımı

Ozonun, yara iyileşmesini teşvik ettiği ve fırsatçı enfeksiyonları engellediği bilinmektedir (Bocci ve ark., 1994). Ozonlanmış su ile günlük tedavinin fizyolojik iyileşme hızını arttırdığı gösterilmiştir. Alveolit tedavisi üzerine yapılan bir çalışmada bir gruba diş çekim soketine ozon yağı uygulanmış diğer gruba sistemik antibiyotik tedavisi uygulanmıştır. Ozon yağı ile tedavi edilen hastalarda daha hızlı iyileşme olduğu tespit edilmiştir (Nogales ve ark., 2008). Çenelerin avasküler osteonekrozunun (ONJ) tedavisinde ozon kullanılmıştır. Ozonun ONJ semptomlarının kaybolmasına ve lezyonlarda tam iyileşmeyi sağladığı bildirilmiştir (Agrillo ve ark., 2006; Agrillo ve ark., 2007a; Agrillo ve ark., 2007b; Petrucci ve ark., 2007).

Ozonun Periodontolojide Kullanımı

Ozonla muamele edilmiş suyun deneysel olarak dental plağın in vitro birikimini önlediği görülmüş ve ozonlu suyun, plak biyofilmindeki bakterilere karşı güçlü bakterisidal aktivitesi olduğu bulunmuştur (Sechi ve ark., 2001). Ayrıca, ozonlanmış suyun (0,5-4 mg / L), hem gram pozitif hem de gram negatif mikroorganizmaların öldürülmesinde oldukça etkili olduğu rapor edilmiştir. Porphyromonas Gingivalis, Porphyromonas Endodontalis gibi gram negatif bakteriler, saf kültürde gram pozitif oral streptokoklara ve Candida Albicanslara göre ozonlanmış suya karşı daha hassastırlar (Nagayoshi ve ark., 2004). Bir çalışma, farklı deneysel çözeltileri içeren ultrasonik temizleme sistemine ozon eklenmesinin Staphylococcus Aureus'a karşı antibakteriyel aktivite ile sonuçlandığını rapor etmiştir (Estrela ve ark., 2006). Ozonlanmış suyun mükemmel bir antiinflamatuvar kapasitesi vardır (Huth ve ark., 2006). Yapılan bir çalışmada, periodontal olarak hasar görmüş dişlerin kök yüzeylerinden izole edilen periodontal ligament hücreleri üzerinde NF-kappaB

aktivitesi incelenmiştir. Ozonlu ortamla temasından sonra aktivitesinin inhibe olduğu görülmüştür (Huth ve ark., 2007). Yayınlanmış araştırmalar ozonun implantların çevresinde kullanılmasının, ozonun hem implantın hem de kemiğin yüzeylerini etkili bir şekilde sterilize ettiği ve aynı zamanda implant yüzeyi çevresinde doku rejenerasyonuna katkı sağladığı bildirilmiştir. (Low ve ark., 2006; Low ve ark., 2010).

Ozonun Protetik Diş Tedavisi Alanında Kullanımı

Ozonla muamele edilmiş suyun oral mikroorganizmalar ve diş plağı üzerindeki etkili olduğu bildirilmiştir (Nagayoshi ve ark., 2004; Arita ve ark., 2005). Sıvı ozona (2 veya 4 mg / L) 1 dakika süreyle maruz bırakılan hareketli protezlerde hiç canlı *C. albicans* tespit edilmemiştir. Bu durum sıvı ozon uygulamasının protez kaidelerinde *C. albicans* sayısını azaltmada faydalı olabileceğini göstermektedir. Ozon gazı ve ozonlu suyun protezler üzerindeki mikrosidal etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ozon gazına doğrudan maruz kalmanın daha etkili olduğu bulunmuştur (Oizumi ve ark., 1998).

Ozonun Endodontide Kullanımı

Ozonun oksidatif potansiyeli yüksek olduğundan etkili bir antimikrobiyal olarak nitelendirilebilir. Yapılan bir çalışmada periapikal lezyona sahip dişlerin endodontik tedavisinde kullanılmak üzere ozonlanmış yağ ile paramonoklorofenol ve gliserin (HPG) içerikli kalsiyum hidroksit jelinin etkileri değerlendirilmiştir. Radyografik, histopatolojik ve mikrobiyolojik analizler sonucunda her iki grup ilacın periradiküler doku yanıtları arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Silveira ve ark., 2007). İn vitro çalışmalar, ozonun pulpa nekrozu vakalarında bulunan bakterilerin çoğunda etkili olduğunu göstermiştir (Valeno ve ark., 2001; Nagayoshi ve ark., 2004). Ozon en az organik kalıntı kaldığında etkin olabilmektedir. Bu nedenle kanal organik artıklardan temizlendikten sonra, ozonlu su veya ozon gazı kullanılması tavsiye edilmektedir. Ozon, yeterli konsantrasyonda, yeterli bir süre kullanıldığında etkilidir. Çok az miktarda ozon verilmesi veya uygun şekilde iletilmemesi durumunda, ozon etkili olmamaktadır (Huth ve ark., 2009).

Ozon Tedavisi ve Diş Çürüğü

Ozon tedavisi, diş hekimliğinde atravmatik bir tedavi yöntemi olarak da kullanılmaktadır. Yapılan in vitro çalışmalarda ozonun fissür çürüğü ve kök çürüğü üzerindeki mikrobiyal etkileri incelenmiştir. Takip süresi kısıtlı olan bu çalışmalarda ozonun çürük lezyonları üzerinde mikroorganizma sayısında önemli derecede azalma meydana getirdiği bildirilmiştir (Baysan ve ark., 2000; Baysan ve Lynch, 2005; Huth ve ark., 2006; Baysan ve ark., 2006; Polydorou ve ark., 2006). Küçük lezyonlarda, ozon uygulamasından sonra mikroorganizmaların sayısında daha büyük lezyonlardan daha fazla azalma ve diş eti kenarına yakın lezyonlarda da mikroorganizma sayısında daha az azalma olduğu görülmüştür (Huth ve ark., 2005). Bu, çürük lezyonların durdurulmasının büyüklüğüne ve lokalizasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir (Baysan ve ark., 2000). Sertlik değerleri, ozonla tedavi edilen test lezyonlarında 4, 6 ve 8 ay sonra bazal değere göre anlamlı olarak fazla iken, kontrol lezyonlarında sertlikte önemli bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (Dähnhardt ve ark., 2006; Baysan ve Lynch, 2007). Ozonun çürük olmayan dişlere uygulandıktan 4 hafta sonra *S. mutans* ve *L. acidophilus* sayısını azaltarak in vitro biyofilm oluşumunu önlediği gösterilmiştir (Knight ve ark., 2008).

Ozon dişin mine tabakasının fiziksel özelliklerini bozmadığı için tedavi sırasında mine dokusunun prepare edilen kısımlarına uygulanabilir (Schmidlin ve ark., 2005; Celiberti ve ark., 2006). Magni ve ark. (2008) gaz formunda ozon uygulamasının dentinin elastik modülü ve sertliği (Vicker' ın dentin sertliği) üzerinde değişiklik meydana getirmediğini göstermişlerdir. Araştırmacılar dentin üzerine ozon uygulamasının alt tabakalardaki mikromekanik bozulmalara neden olmayacağını da ortaya koymuştur.

2.3. Yara yeri iyileşmesi

Yara yeri iyileşmesi, doku bütünlüğünün bozulmasını takiben fonksiyonel kapasiteyi geri kazandırmaya yönelik olarak ortaya çıkan hücrel ve biyokimyasal olayları içeren karmaşık biyolojik bir süreçtir. İyileşme çoğu durumda sorunsuz bir şekilde gerçekleşse de çeşitli içsel ve dışsal faktörler bu süreci engelleyebilir veya kötüleştirebilir. Yara iyileşmesinin biyokimyasal, fizyolojik, hücrel ve moleküler sürecini anlamak cerrahi olarak iyileşme yanıtını optimize etmeyi amaçlayan klinik yaklaşımların yönlendirilmesi açısından önemlidir. Bu şekilde cerrahın yara mikro ortamını olumlu şekilde modüle ederek iyileşme sürecine katkıda bulunacak biyolojik

yaklaşımları seçici olarak kullanması sağlanabilir (Anstead ve ark., 1998; Ayello ve ark., 1999; Braun-Falco, 2002).

2.3.1. İyileşme Süreci

Travma veya cerrahi işlem sonrasında başlatılmış olan doku bütünlüğünün restorasyonu filogenetik olarak ilkel fakat temel bir savunma tepkisidir. Yaralanan organizmalar ancak kendilerini hızlı ve etkili bir şekilde onarabilirlerse hayatta kalırlar. İyileşme tepkisi öncelikle doku tipine ve doku bozulmasının şiddetine bağlıdır. Doğal dokulardan yapısal ve işlevsel olarak ayırt edilemeyen bir iyileşme gerçekleştiğinde, rejenerasyon gerçekleşmiş demektir. Bunun yanında doku bütünlüğü fibrotik skar dokusu oluşumu ile sağlanırsa bu duruma doku onarımı adı verilir. Skarla iyileşme, vücudun bir savunma şeklidir. Bu doku daha az vitaldir ve doğal dokudan daha düşük bir hücresel içeriğe sahiptir. Kemik ve karaciğer hariç, doku bozulması her zaman rejenerasyondan ziyade onarımla sonuçlanır (Singer ve Clark, 1999; Cartwright, 2002; Badwal ve Bennet, 2003; Burns ve ark., 2003).

Hücresel düzeyde doku iyileşmesinin hızı ve kalitesi, yapıcı hücrelerin değişkenliğinde, kararsız mı yoksa kalıcı mı olduğuna bağlıdır. Epidermin keratinositleri ve oral mukozanın epitel hücreleri de dahil olmak üzere labil hücreler yaşam süreleri boyunca bölünürler. Fibroblastlar gibi stabil hücreler düşük bir çoğalma oranına sahiptir, ancak yaralanmaya yanıt olarak hızlı bir şekilde çoğalabilirler. Örneğin, kemik hasarı mezenkimal hücrelerin hızla osteoblastlara ve osteoklastlara farklılaşmasına neden olur. Öte yandan, özelleşmiş sinir ve kalp kası hücreleri gibi kalıcı hücreler, doğum sonrası yaşamda bölünemez. Cerrahin “normal iyileşme” beklentisi, buna bağlı olarak gerçekçi olmalı ve yaralanan dokunun doğal yeteneklerine dayanmalıdır. Fibröz skar cilt yaraları için normalden kemik iyileşmesi bağlamında yetersizdir (Clark, 1993).

Makro seviyede, iyileşme tepkisinin kalitesi doku bozulmasının doğasından ve yarayı çevreleyen koşullardan etkilenir. Primer iyileşmede, cerrahi insizyon veya düzgün kenarlı bir laserasyon olduğunda yara yeri öncelikle süturla ya da farklı yollarla kapatılırsa meydana gelecek iyileşmede skar dokusu oluşumu gözlenmez. Yara bölgesine gerekli uygulamalar yapılmaz ise iyileşme mekanizması daha karmaşık bir hal alır. Yara bölgesinde granülasyon dokusu oluşarak uzun süreli bir onarım süreci ortaya çıkar. Bu işlem sekonder iyileşme olarak adlandırılır (Clark, 1993). Avülsif

yaralanma, lokal enfeksiyon veya yetersiz kapamada sekonder iyileşme görülür. Daha karmaşık yaralar için, cerrah sekonder iyileşmeyi gecikmiş primer kapatma ile birleştiren aşamalı bir prosedürle üçüncü bir girişimde bulunabilir. Avulsif veya kontamine olmuş yaralarda 5 ila 7 gün boyunca sekonder yara iyileşmesi amacıyla granülasyon dokusu oluşumuna izin verilir. Yeterli granülasyon dokusu oluştuğunda ve enfeksiyon riski minimum görüldüğünde, yara primer iyileşmeye yakın dikilir (Hunt ve ark., 2000; Reed ve ark., 2003).

2.3.2. Yara İyileşmesinin Evreleri

Her türlü yaralanma, ilgili dokunun bütünlüğünü geri kazanmaya yönelik, yakın bir şekilde organize olmuş ve geçici olarak örtüşen işlemlerden oluşan karmaşık bir dizi olayı harekete geçirir. Onarıcı süreçler en sık ciltte görülür; bununla birlikte, benzer biyokimyasal ve hücrel olaylar hemen hemen diğer dokularda da meydana gelir (Singer ve Clark, 1999; Hackham ve Ford, 2002). Tanımlamayı kolaylaştırmak için yara iyileşme süreci pıhtılaşma, inflamasyon, reepitelizasyon, granülasyon dokusu oluşumu, matris oluşumu ve dokuların yeniden şekillenmesi şeklindedir. İyileşme süreci tipik olarak inflamasyon, proliferasyon ve remodeling olmak üzere üç faza ayrılır (Clark, 1993; Steed, 2003).

Enflamatuar Faz

Enflamatuar evre vücudun ilk onarıcı tepkisidir ve genellikle 3 ila 5 gün sürer. Yaralanan damarların vazokonstriksiyonu, kanamayı durduran spontan doku reaksiyonudur. Doku travması ve lokal kanamanın sonucunda faktör XII (Hageman faktörü) aktive olarak kompleman sistemini, plazminojen aktivasyonunu, kinin oluşumunu ve pıhtılaşma sistemlerini uyararak iyileşme sürecinin çeşitli etkilerini başlatır. Dolaşımdaki trombositler hızlı bir şekilde yaralanma bölgesinde toplanır. Fibrin matris içinde düzenlenmiş bir primer trombosit tıkaçı oluşturmak için birbirlerine ve açılmış olan vasküler subendotelial kollajene yapışır. Pıhtı hemostazı korur ve hücrelerin onarım sürecinde göç edebildiği geçici bir matris sağlar. Ek olarak, pıhtı sitokinlerin bir rezervuarı ve aktif trombositlerden salınan büyüme faktörlerinin de kaynağıdır. İnterlökinler, TGF- β , trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve VEGF dahil olmak üzere salgılanan proteinler, yara ortamını korur. Aynı zamanda iyileşme

sürecini düzenlerler (Steed, 1995; Singer ve Clark, 1999; Krishnamoorthy ve ark., 2001).

Hemostaz sağlandıktan sonra, reaktif vazokonstriksiyon; histamin, prostaglandinler, kininler ve lökotrienlerin aracılık ettiği daha kalıcı bir vazodilatasyon süreci ile yer değiştirir. Vasküler geçirgenliğin artırılması, kan plazması ve iyileşen damar hücrelerinin diapedez yoluyla damar duvarlarından ekstravasküler boşluğa geçmesine izin verir. İlgili klinik bulgular şişme, kızarıklık, sıcaklık ve ağrıdır. Yaraya salınan sitokinler, nötrofilleri ve monositleri bölgeye çeken kemotaktik özelliklere sahiptir. Nötrofiller normal olarak yara bölgesine birkaç dakika içinde ulaşmaya başlar ve hızlı bir şekilde baskın hale gelir. Fibrinle zenginleştirilmiş pıhtı tarafından sağlanan yapı iskelesi boyunca göç eden kısa ömürlü lökositler, bölgenin bakteri, yaralı doku ve parçalanmış matriks bileşenlerinden temizlenmesine yardımcı olmak için proteaz ile sitokinlerle yara bölgesini doldurur. Bir yara aşırı derecede enfekte değilse, nötrofil infiltrasyonu birkaç gün sonra durur. Bununla birlikte, TNF- α , IL-1a ve IL-1b de dahil olmak üzere nötrofillerin yok edilmesiyle salınan proinflamatuvar sitokinler, uzun süre boyunca enflamatuvar yanıtı uyarmaya devam eder (Collins, 2001; Werner ve Grose, 2003).

Kan kaynaklı monositlerin yaralanma bölgesine yayılması, nötrofillerin seviyeleri azaldıkça artmaya başlar. Makrofajlar olarak adlandırılan aktive edilmiş monositler, nötrofillerin başlattığı yara iyileşmesi ile devam eder. Yaralı doku, bakteri ve hücre kalıntılarını parçalamak için kolajenazlar ile elastazlar salgılar. Temizleyici rollerinin yanı sıra, makrofajlar aynı zamanda iyileştirici mediatörlerin birincil kaynağıdır. Makrofajlar aktive olduğunda yara bölgesinde birçok büyüme faktörü ile sitokinleri (TGF- α , TGF β 1, PDGF, insülin benzeri büyüme faktörlerini (IGF) -I ve -II, TNF- α ve IL-1) serbest bırakırlar. Bunun yanında hücrel ve kimyasal mediatörlerin ortamda sayısını arttırarak trombositlerle nötrofillerin ayrıştırılmasını sağlarlar (McCartney Francis ve Wahl, 2001). Makrofajların proteolitik enzimlerle (örneğin matriks metaloproteinler ile kollajenlerin) yeniden düzenlenmesi erken yara iyileşmesinin tüm aşamalarını etkiler. Makrofaj fonksiyonunun erken yara iyileşmesinde merkezi rolü vardır. Her ne kadar makrofajların sayıları ve aktiviteleri yaralanma sonrası beşinci güne kadar azalsa da, tamir tamamlanıncaya kadar yara iyileşme sürecini düzenlemeye devam eder (Ridley ve ark., 1992; Soler ve ark., 1998).

Proliferatif Faz

Enflamatuar faz sırasında salgılanan sitokinler ile büyüme faktörleri, proliferatif fazı uyarır. Yaralanma sonrası üçüncü gün gibi erken başlayan ve 3 haftaya kadar süren proliferatif faz, enflamatuar hücreler, fibroblastlar ve gevşek bir matriks içine alınmış tomurcuklanan damarları içeren pembe granülasyon dokusu oluşumu ile kendini gösterir. Amaç yenilenen dokuların artan metabolik ihtiyaçları için gerekli olan oksijen ve besin maddelerini sağlamak için yerel bir mikro sirkülasyonun oluşturulmasıdır. Kesilen damarlardan yeni kılcal kan damarlarının (anjyogenez) oluşumu, doğal hipoksinin yanı sıra doğal büyüme faktörleri, özellikle VEGF, fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2) ve TNF- β ile uyarılır. Aynı zamanda, matriks üreten fibroblastlar, enflamatuar hücreler ve yaralanan dokular tarafından salgılanan sitokinler ile büyüme faktörlerine cevap olarak yaraya göç eder. Fibroblastlar, yeni ekstraselüler matriks (ESM) ve olgunlaşmamış kollajen (Tip III) sentezlemeye başlar. Kollajen liflerinin iskelesi, yarayı besleyen yeni oluşturulmuş kan damarlarını desteklenmesini sağlar. Uyarılmış fibroblastlar ayrıca bir dizi büyüme faktörü salgılar, böylece bir geri besleme döngüsü oluşturur ve onarım işlemini sürdürürler. Kollajen birikimi, yaranın gerilme direncini hızla artırır ve yara kenarlarını bir arada tutmak için kapatma malzemesine dayanımı azaltır. Normal iyileşmenin kanıtı yeterli kollajen ve ESM oluşuktan sonra matriks sentezinin gerçekleşmesidir (Xia ve ark., 1999; Rumalla ve ark., 2001).

Dermal yara yüzeyinde, açılmış yara yüzeyini kapatmak için yeni epitel formları bulunur. Yara kenarlarından kaynaklanan epidermal hücreler proliferatif olarak yarayı bazal membranın üzerinde yeniden yüzeleştirmeye başlar. Reepitelizasyon süreci, ciltten farklı olarak oral mukozal yaralarda daha hızlı ilerler. Bir mukozal yarada epitel hücreleri, dermisin kuru eksüdası (kabuk) yerine doğrudan fibrin pıhtısının nemli yüzeyine göç eder. Epitel kenarları bir kez karşılaştığında, temas engelleme fazla proliferasyonu durdurur. Reepitelizasyon, yara kenarlarını birbirine doğru çekecek boyutta küçülen bağ dokunun altından uzaklaşarak kolaylaşır. Yara kasılması, miyofibroblastlara dönüşen ve kuvvetli kasılma üreten fibroblastların bir kısmı tarafından uyarılır. Yara kasılmasının derecesi yaranın derinliğine ve konumuna bağlıdır. Bazı durumlarda, yara kontraktürü kuvvetleri kemik yapılarını deforme edebilir (Wieman ve ark., 1998; Reed ve ark., 2003).

Remodelasyon Fazı

Proliferatif faz, aşamalı olarak, olgunlaşmamış skar dokusunun uzun süreçte yeniden şekillenmesi ve güçlendirilmesi ile değiştirilir. Remodelasyon, olgunlaşma aşaması birkaç yıl sürebilir ve matriks bozulması ile oluşumu arasında ince bir denge içerir. İyileşen yaranın metabolik talepleri azaldıkça, zengin kılcal damar ağları gerilemeye başlar. Sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin etkisi ile, kollajen matriks sürekli olarak parçalanır, yeniden sentezlenir ve yeniden düzenlenir. Yara içine moleküler çapraz bağlanma ile stabilize edilir. Fibroblastlar kaybolmaya başlar ve granülasyon fazı boyunca biriken kollajen Tip III yavaş yavaş daha güçlü Tip I kollajen ile yer değiştirilir. Buna bağlı olarak, skar dokusunun gerilme direnci kademeli olarak artar ve sonunda orijinal gücün yaklaşık % 80' ine yaklaşır. Sitokinler tarafından salınan serin proteazlar ve matriks metaloproteinazlar (MMP'ler) ile skar dokusundaki kollajen ve ESM'nin homeostazı sağlanır. Skar doku içerisindeki proteolitik dengenin kontrolü MMP' nin doku inhibitörleri tarafından sağlanır. Bu dengenin bozulması, fazla veya yetersiz matriks bozulmasına yol açabilir. Skar oluşumu veya dehisens gözlenmesi ile sonuçlanabilir (Yasko ve ark., 1992; Soler ve ark., 1999; Rumalla ve ark., 2001).

2.3.4. Dış Çekimi Yaraları

Ekstraksiyon soketinin iyileşmesi, sekonder iyileşmenin özel bir örneğidir (Huebsch ve Hansen, 1969). Dışın soketten çıkarılmasından hemen sonra kan, çekim bölgesini doldurur. Pıhtılaşma kaskadının hem iç hem de dış yolları aktive edilir. Elde edilen kırmızı kan hücrelerini içeren fibrin örgüsü, yırtılmış kan damarlarını kapatır ve çekim yarasının boyutunu azaltır. Pıhtılaşma organizasyonu, ilk 24 ila 48 saat içerisinde periodontal ligament kalıntıları içindeki kan damarlarının büyümesi ve genişlemesi ile başlar, ardından lökositik göç ve bir fibrin tabakası oluşur. İlk haftada pıhtı, enflamatuvar hücrelerin göç ettiği geçici bir iskelet oluşturur. Yara çevresindeki epitel organizasyonu pıhtı yüzeyinin üzerinde büyür. Osteoklastlar, aktif krestal rezorpsiyon aşamasını belirleyen alveoler kret boyunca toplanır. Anjiyogenez, periodontal ligamanların kalıntılarında ilerler. İkinci haftada pıhtı oluşumu ve pıhtı merkezine doğru girmeye başlayan yeni kan damarları organize olmaya devam eder. Osteoidin trabekülü yavaş yavaş alveolden pıhtıya uzanır ve alveol soketinin kortikal kenarının osteoklastik rezorpsiyonu daha belirginleşir. Üçüncü haftaya kadar, ekstraksiyon soketi, yara çevresindeki granülasyon dokusu ve zayıf mineralize kemik dokuları ile doldurulur.

Yaranın yüzeyi, minimal skar oluşumuyla veya hiç skar oluşumu olmadan tamamen re-epitelize edilir. Apozisyon ve rezorpsiyon ile aktif kemiğin yeniden şekillenmesi birkaç hafta daha devam eder. Kemik oluşumunun radyografik kanıtı, diş çekimi sonrası altıncı ila sekizinci haftalara kadar belirginleşmemektedir. Devam eden kemiğin yeniden yapılanma süreci nedeniyle, diş çekimi bölgesinin nihai iyileşmesi, 4 ila 6 ay sonra radyografilerde ayırt edilemeyebilir (Huebsch ve Hansen, 1969).

Nadiren, kan pıhtısı oluşmaz veya dağılabilir, lokalize alveoler osteoitise neden olabilir. Bu gibi durumlarda iyileşme önemli ölçüde ertelenir ve soket yavaş yavaş dolar. Sağlıklı bir granülasyon dokusu matriksi yokluğunda, rejenere kemiğin kalan alveolar kemiğe dönüşümü çok daha yavaş bir oranda gerçekleşir. Normal bir sokete kıyasla, enfekte olmuş soket uzun süre açık kalır veya kısmen hiperplastik epitel ile kaplanır (Toriumi ve ark., 1991; Frost, 1998; Frost, 1999; Lou ve ark., 1999).

2.3.5. Yara İyileşmesi Komplikasyonları

Orofasiyal bölgede iyileşme genellikle doğal ve sorunsuz bir süreç olarak kabul edilir. Bununla birlikte, komplikasyonlar ortaya çıktığında yara iyileşmesi sürekliliği engellenir. Çoğu yara iyileşmesi komplikasyonları cerrahi sonrası erken dönemde ortaya çıkar, ancak bazıları daha sonra da ortaya çıkabilir. Cerrahın en sık karşılaştığı iki problem yara enfeksiyonu ve dehisens iken proliferatif iyileşme daha az görülür (Davis ve ark., 1999; Bowler, 2002; Rahban ve Garner, 2003).

Yara Enfeksiyonu

Cerrahi sonuçları karmaşıklaştıran enfeksiyonlar genellikle yaraların bakteriyel kontaminasyonundan kaynaklanır. Bütün yaraların kontamine olduğu düşünülmelidir. Ancak bu durum yara bölgesindeki mikroorganizmaların artan bakteriyel yükü sonrası ortaya çıkan gerçek yara yeri enfeksiyonlarıyla karıştırılmamalıdır (Kingsley, 2003). Deneysel çalışmalar, mikroorganizma türüne bakılmaksızın, doku enfeksiyonunun gram başına 1×10^5 organizma olduğunda yara enfeksiyonunun meydana geldiğini göstermiştir (Robson ve ark., 1973; Bowler, 2003). Göreceli sayıların ötesinde, enfekte olan mikroorganizmaların patojenitesi ve konakçı yanıt faktörleri, yara iyileşmesinin bozulup bozulmadığını ayrıca belirler (Davis ve ark., 1999).

Sürekli bir bakteriyel enfeksiyon varlığı, prostaglandinler ve tromboksan gibi inflamatuvar mediatörlerin üretimine yol açan konakçı immün savunmasını uyarır.

Yaraya geçen nötrofiller sitotoksik enzimleri ile serbest oksijen radikallerini serbest bırakır. Tromboz ve vazokonstrüktif metabolitler yara hipoksisi aracılığı ile bakteriyel proliferasyona ve doku hasarının devam etmesine neden olur. Konak savunma mekanizmaları tarafından tahrip edilen bakteriler, nötrofil proteazları ve endotoksinleri serbest bırakarak çeşitli derecelerde inflamasyona neden olur. Yeni oluşturulan hücreler ve bunların kollajen matriksi, yara enfeksiyonunun bu parçalanma ürünlerine karşı hassastır. Ortaya çıkan hücre ve kollajen lizisi, iyileşmenin bozulmasına neden olur. Yara enfeksiyonunun klinik belirtileri arasında klasik lokal enfeksiyon belirtileri olan eritem, sıcaklık, şişme, ağrıya eşlik eden koku ve irin bulunur (Hunt ve ark., 1978; Jonsson ve ark., 1991).

Yetersiz doku perfüzyonu ile yaranın oksijenlenmemesi, bakterilerin çoğalmasını ve enfeksiyon oluşmasını sağlayarak iyileşmeyi tehlikeye atar. Aseptik tekniğin izlenmemesi, virülen mikroorganizmaların yara girmesi için sık bir nedendir. İleri derecede doku travması, nekrotik doku varlığı, yabancı cisim mevcudiyeti veya konak savunması yetersizliği kontamine yaraların enfekte yaralara dönüşümünü kolaylaştırır. Enfeksiyon riskini en aza indirmedeki en önemli faktör, titizlikle çözülme, yeterli hemostaz ve ölü alanın ortadan kaldırılması dahil olmak üzere titiz cerrahi tekniktir. Dikkatli teknik, postoperatif uygun bakımla artırılmalı, yara bölgesini temiz tutmaya ve travmaya karşı korumaya önem verilmelidir (Gottrup, 2002; Krueger ve Rohrich, 2001).

Yara Dehisensi

Yara kenarlarının kısmi veya tam olarak ayrılması, ameliyattan sonraki ilk hafta içinde ortaya çıkabilir. Yara ayrışmasının çoğu örneği yanlış sütur teknikleri yerine doku yetersizliğinden kaynaklanmaktadır. Parçalanmış yara tekrar kapanabilir veya kesilme derecesine ve cerrahın klinik durumu değerlendirmesine bağlı olarak sekonder iyileşmeye bırakılabilir (Scholl ve Langkamp-Henken, 2001).

Proliferatif Skar

Bazı hastalar cilt yaralanmaları bölgesinde anormal skar dokusu geliştirmeye devam edebilir. Hiperproliferatif iyileşmenin iki yaygın şekli hipertrofik skarlar ve keloidlerdir. Bu oluşumlar hipervaskülarite ve hiperselülerite ile karakterizedir. Bu dokuların belirgin özellikleri aşırı skar ve kalıcı enflamasyon oluşumudur. Ayrıca hücre

dışı matrikslerinde glikozaminoglikanlar ve tip I kollajen bileşenlerinin aşırı üretimi görülmektedir (Rahban ve Garner, 2003). Açıkça benzerliklerine rağmen, hipertrofik skarlar ve keloidlerin bazı klinik farklılıkları vardır. Genel olarak, hipertrofik skarlar yaralanmadan kısa bir süre sonra ortaya çıkar, yaranın sınırları içinde sınırlanma eğilimindedir. Öte yandan keloidler, yaralanmadan aylar sonra ortaya çıkar, yara sınırlarının ötesinde büyür ve nadiren azalır. Keloid oluşumu için ailesel ve ırksal bir eğilim vardır. Duyarlı kişiler genellikle yüzlerinde, kulak loblarında ve ön göğüslerinde keloidler gelişmektedir (Goodsen ve Hunt, 1984; Tibbs, 1997).

Her ne kadar hipertrofik skar ve keloid oluşumuna yol açan süreçler henüz netleşmemiş olsa da, bu durumun gelişmesinde değişen apoptotik davranışın önemli bir faktör olduğuna inanılmaktadır. Normalde programlanmış hücre ölümü, iyileşme devam ederken iltihaplı hücrelerin çıkarılmasından ve granülasyon dokusunun skar dokusuna dönüşmesinden sorumludur (Lieberman ve ark., 1998). Apoptozda düzensizlik, aşırı skarlanma, iltihaplanma ve hücre dışı matriks bileşenlerinin aşırı üretimi ile sonuçlanır. Hem keloidler hem de hipertrofik skarlar TGF- β , trombosit kaynaklı büyüme faktörü, IL-1 ve IGF-I gibi büyüme faktörlerinin sürekli yükselişini göstermektedir (Urioste ve ark., 1999). Büyüme faktörleri, sırayla, lokal fibroblastların sayısını artırır ve aşırı kollajen ile hücre dışı matriks üretimini hızlandırır. Proliferatif skar dokusu mast hücrelerini ve neoanjiyogenezisi teşvik eden vazoaktif mediatörler ihtiva eder. Mast hücreleri histamin salgırlar ve fibröz doku büyümesini stimüle ederler. Keloidler için etkili bir tedavi yöntemi yoktur. Bu lezyonların gelişiminin önlenmesi ve tedavisi için daha yaygın yöntemler protein sentezinin inhibe edilmesine yönelik yöntemler yaygın olarak tercih edilmektedir. Keloid dokularla mücadelede genellikle kortikosterodler kullanılır. Bu ajanlar keloid dokudaki fibroblast proliferasyonunu azaltmak, anjiyogenezisi azaltmak, kollejen sentezini ve hücre dışı protein matriks sentezini inhibe etmek için skar dokusunun içine enjekte edilir (Anstead ve ark., 1998; Lieberman ve ark., 1998; Sefton ve Woodhouse, 1998).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu deneysel çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan 31.03.2017 tarihli 2017/01 proje numaralı 68489742-604.01.02-E.8230 sayılı onay ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma merkezinde, çalışmanın tüm deneysel aşamaları yerel etik kurulu yönergesinde ifade edilen koşullara uyularak gerçekleştirildi. Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında PYO.DIS.1904.18.06 nolu projesi olarak desteklendi. Çalışmanın radyolojik incelemeleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı'nda, histolojik incelemeleri ise Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.1.1. Deneysel Hayvanları

Bu çalışma için 6 haftalık, ağırlıkları 220-300 gr arasında değişen 48 adet Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Denekler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden tedarik edildi. Kullanılan denekler çalışma süresince ideal laboratuvar koşulları olan 12 saat gece-gündüz esasında, ± 22 °C ortam sıcaklığında, % 45-60 ortalama bağıl nemde, standart yem ve su ile beslendi. Uygun kafeslere altışar gruplar halinde yerleştirildiler. Kafeslerin temizliği gün aşırı yapıldı. Deneysel süresince günde bir kere olmak üzere veteriner hekim tarafından deneklerin kontrolleri gerçekleştirildi.

3.1.2. Deneklerin Gruplandırılması

Denekler zoledronik asit verilecek ve verilmeyecek olarak iki ana gruba ayrıldı. Sonrasında bu gruplar kendi içerisinde ozon uygulanacaklar uygulama sürelerine göre (O120, O180 ve O300) ve uygulanmayacaklar şeklinde alt gruplara ayrıldı. Her grupta 6 denek olacak şekilde toplam 8 grup oluşturuldu (Tablo 2).

Tablo 2: Deney grupları ve deneklerin gruplara göre dağılımı (n: denek sayısı)

	Zoledronik Asit		Zoledronik Asit	
	Verilmeyen	n	Verilen	n
Ozon Uygulanmayanlar	OK	6	ZK	6
120 sn Ozon Uygulananlar	O120	6	ZO120	6
180 sn Ozon Uygulananlar	O180	6	ZO180	6
300 sn Ozon Uygulananlar	O300	6	ZO300	6

3.2. Metot

3.2.1. Deney Protokolü

Bifosfonat Uygulama Protokolü

Zoledronik asit verilecek gruplardaki (ZK, ZO120, ZO180, ZO300) tüm ratlara 8 hafta boyunca haftada 3 kez olmak üzere, 0,1mg/kg doz ayarlamasıyla intraperitoneal olarak zoledronik asit (Zometa; Novartis, İstanbul, Türkiye) verildi.

Cerrahi Protokol

Zoledronik asit uygulaması bittikten sonraki 2. haftanın sonunda tüm gruplar için cerrahi aşamaya geçildi. İşlem öncesi genel anestezi sağlanmasında intramüsküler 100 mg/kg ketamin (Alfamine; Alfasan International B.V., Woerden, Hollanda) ve 10 mg/kg xylazine (Alfazyne; Alfasan International B.V., Woerden, Hollanda) intraperitoneal olarak uygulandı.

Deneklerin sağ yanak bölgeleri traş edildi. Bölgenin antisepsisi povidon-iyodin solüsyonu (Poviodex®, Kimpa, Türkiye) ile sağlandı. Cerrahi alana 0,5 ml 1:200,000 epinefrin içeren artikain (Ultracain-DS; Hoechst Marion Roussel, İstanbul, Türkiye) infiltrasyonu ile lokal anestezi ve hemostaz elde edildi. Sonrasında cerrahi bölge steril örtüler ile izole edildi. Anesteziyi takiben sağ üst 1. azı dişinin çekimine geçildi. İlgili dişe ulaşabilmek için sağ komisuradan sağ 2.molar diş hizasına kadar oklüzal düzleme paralel olacak şekilde ekstraoral inziyon yapıldı. Ardından mandibula ve maksilla ekarte edilerek 1. molar dişin gingival deataçmanı yapılarak sağ üst 1.molar dişleri çekildi. Çekim sonrasında soket 3 mm boyutlarında olacak şekilde steril su soğutması altında rond frezle standardize defekler haline getirildi. İntraoral dokular 4/0 glikolid esaslı

rezorbe olabilen süturla (Vicryl, Ethicon, Brüksel, Belçika) kapatılırken, cilt dokusu 4/0 ipek sütür (Doğsan, Türkiye) ile kapatıldı (Şekil 6 A, B, C, D, E, F, G, H).

3.2.2. Postoperatif Bakım

Cerrahi sonrası postoperatif analjezi kontrolü için 4 gün boyunca günde 2 sefer olmak üzere Tramadol, 1 mg/kg (Contramal, Abdi İbrahim, İstanbul, Türkiye) intramüsküler olarak uygulandı. Postoperatif enfeksiyon kontrolü için 4 gün boyunca günde 2 sefer olmak üzere cefazolin sodium, 500 mg/kg (Sefazol, Nevzat, İstanbul, Türkiye) uygulandı. Cilt bölgesinde lokal enfeksiyonu önlemek amacıyla 4 gün boyunca günde 1 sefer olmak üzere topikal olarak Neo-caf sprey (İntervet, Vet. İlal. Paz. ve Tic. Ltd. Őti., İstanbul, Türkiye) uygulandı.

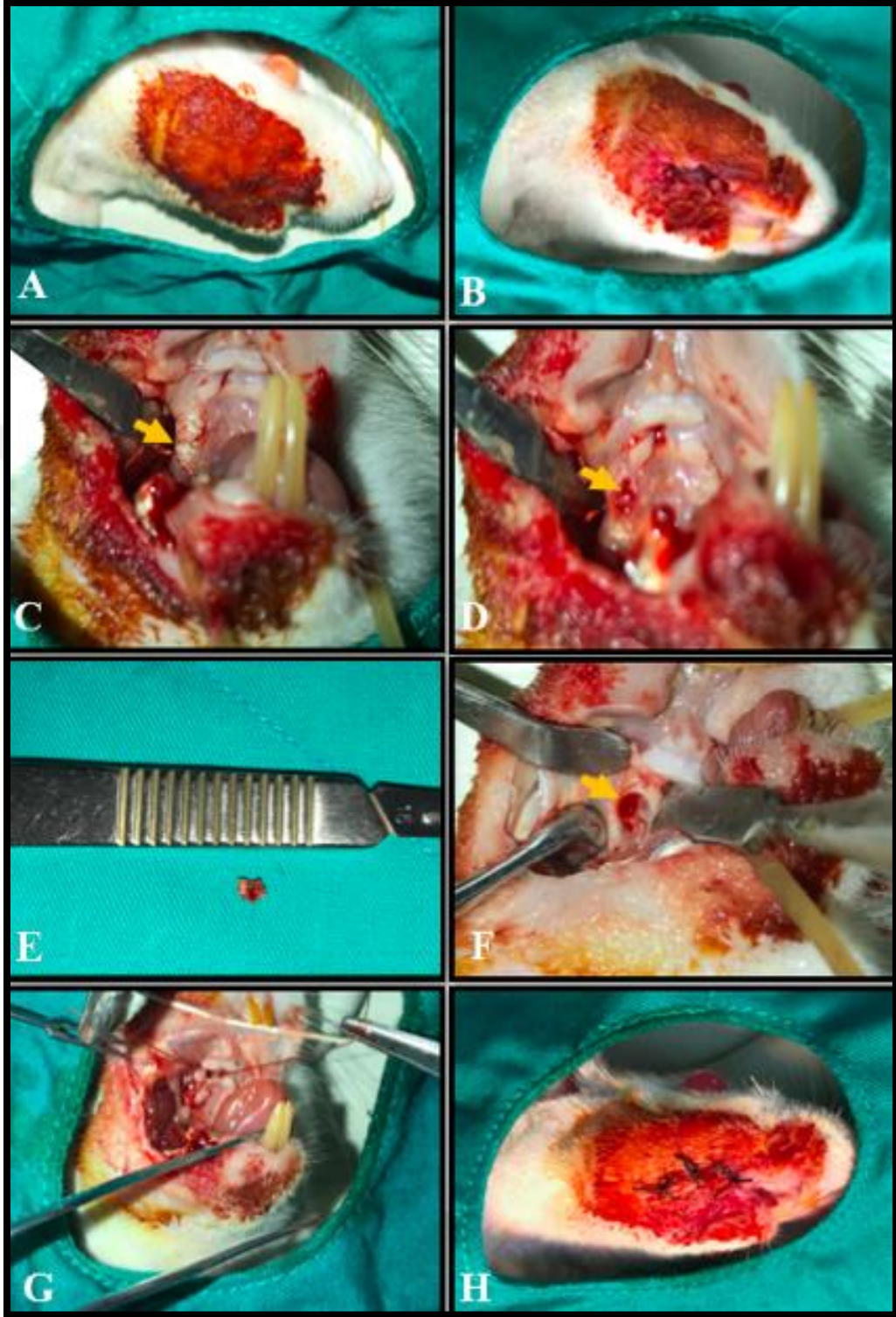
Denekler standart koŐullarda belli aralıklarla kontrol edilmek üzere uygun kafeslere yerleştirildi. Postoperatif bir hafta boyunca denekler yumuşak diyetle beslendi. Sonrasında normal diyete geçildi.

3.2.3. Ozon Uygulama Protokolü

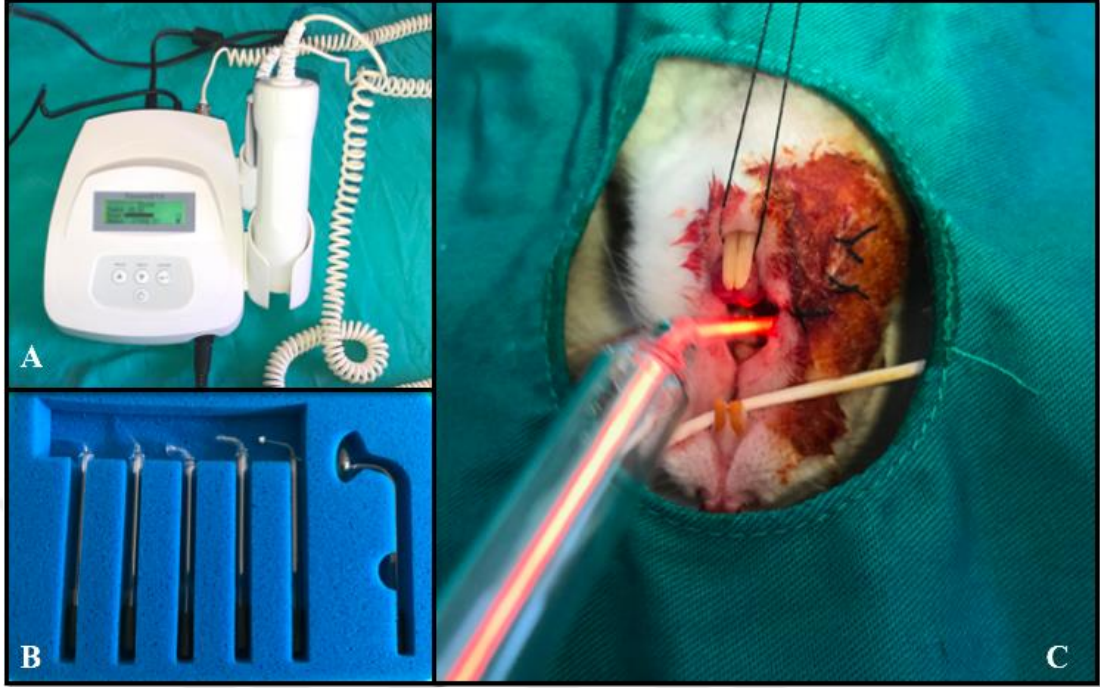
O120 ve ZO120 gruplarında 9 ppm 120 sn ozon, O180 ve ZO180 gruplarında 9 ppm 180 sn, O300 ve ZO300 gruplarında ise 9ppm 300 sn olacak Şekilde topikal ozon uygulaması yapıldı. Uygulama süreci diş çekiminin yapıldığı gün dahil olmak üzere haftada 3 kez olacak Şekilde 2 hafta boyunca yara bölgesine intraoral olarak uygulandı. (Şekil 7 A, B, C).

3.2.4. Deneklerin Sakrifikasyonu

Diş çekimden sonraki 5. haftanın sonunda yüksek dozda sodium pentobarbitone (Pental; IE Ulagay, İstanbul, Türkiye) uygulaması ile ratların sakrifikasyonu gerçekleştirildi. Deneklerin maksillası mandibulasından ayrılıp, yumuşak dokulardan temizlendikten sonra %10'luk formaldehit solüsyonu içine konuldu. Radyolojik görüntülemeler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleŐtirildikten sonra stereolojik incelemeler için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı' na götürüldü.



Şekil 6. Operasyon alanının hazırlanması (A), Cilt insizyonu (B), 1. molar dişin açığa çıkarılması (C), Çekim soketi (D), Çekilen dişler (E), Standardize defekt (F), Mukozanın kapatılması (G), Cildin primer kapatılması (H)



Şekil 7. Ozon cihazı (A), Ozon cihazının uçları (B), Çekim soketine ozon uygulanması (C)

3.2.5. Değerlendirme Yöntemleri

Radyolojik Değerlendirme

Tüm ratların maksillalarının yüksek çözünürlükteki bilgisayarlı tomografi (BT) verileri, çok kesitli tomografi cihazında (Aquilion 16 system, Toshiba Medical Systems Corporation, Tokyo, Japan) küçük deney hayvanları tarama protokolüne uyularak elde edildi. Deneklerin radyolojik incelenmesi kör olarak yapıldı. Deneklerin maksillaları 1mm kolimasyonda analiz edildi. Tarama verileri; tüp akım: 250 mAS, KV:120, matrix: 512*512, algoritma: kemik rekonstrüksiyon kalınlığı: 0,5 mm olacak şekilde ayarlandı. Tarama sonucu 3 boyutlu tomografik görüntüler elde edildi. Diş çekimi yapılan bölgeler tomografik görüntülerde işaretlenerek ortalama kemik yoğunluğunun ölçülmesi amacıyla Haunsfield Unit (HU) değerleri hesaplandı. Sonuçların daha güvenilir olması amacıyla bu işlem 2 kere tekrarlandı. Elde edilen verilerin ortalama değerleri hesaplandı ve bu değerler sonuç olarak kabul edildi.

Stereolojik Değerlendirme

Deneklerden elde edilen maksilla örnekleri %10'luk formol solüsyonunda 10 gün süreyle fikse edildi. Bu işlemin ardından örnekler % 5'lik formik asit çözeltisinde 21 gün boyunca dekalsifiye edildi. Solüsyonlar ihtiyaca göre yenilendi ve doku örnekleri belli periyotlarla kontrol edildi. Dekalsifikasyonun ardından dehidratasyon işlemi için dokular distile su ile yıkandı ve % 70- % 80- % 96- % 100'lük alkol serilerinden geçirildi. Sonrasında örneklere ksilen uygulanarak 58 °C'lik sv1 parafin içerisine yerleştirildi. Bu bloklardan rastgele sistematik örnekleme ile 10µm kalınlığında ve 1/6 oranında kesitler alındı ve bu kesitler 1 gece 60 °C'de bekletildi. Deparafinizasyon işlemi için ksilen solüsyonundan geçirilen örnekler tekrar dereceli alkol serisinden geçirilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi. Kesitler bu işlemler sonrasında yeni oluşan damar, bağ doku ve kemik alanlarının gösterilmesi için hematoksilen-eosin (HE) ile boyandı. Bu boyama işlemi sonrası tüm kesitler kanada balsamı ile muamele edilerek mikroskop (Leica; Solms, Almanya) altında incelemeye alındı. Stereolojik hata katsayısı düşünülerek; Sistemik Rastgele Örnekleme kuralına göre ilgilenilen alanı ve hacmi örnekleme için koronal düzlemde 1/3 aralıkla kesitler alındı. Bütün seri kesit görüntüleri x10'luk büyütmede ışık mikroskopunda (Leica DM4000 B, Tokyo, Japan) analiz edildi.

Bu çalışmadaki stereolojik analizlerde Cavalieri hacim hesaplama yöntemi noktalı alan cetveli kullanılarak yapıldı. Yeni kemik hacmi, yeni damar hacmi ve bağ dokusu hacmi hesaplandı. Stereolojik inceleme yöntemlerinden en çok kullanılan tekniklerden biri Cavalieri metodudur (Canan ve ark., 2002). Bu yöntemde primer amaç hacim alanını hesaplamaktır. Bunun için yapı aynı aralıklarda birbirine paralel olacak şekilde parçalara ayrılır. Bu parçaların aynı tarafa bakan yüzey alanları hesaplanır. Bu alanlar her bir parçanın ortalama kalınlığı ile çarpılarak yapının toplam hacmine ulaşılır. Bu işlem $V_{ref} = \sum a_i \cdot t$ olacak şekilde formülize edilebilir. Bu formülde t ortalama parça ya da kesit kalınlığını, a_i , i 'inci parçanın izdüşümünü veya alanını, V_{ref} ise hesaplamak istediğimiz referans yapının hacmini ifade eder. Bu izdüşümleri veya alanları hesaplamak için ise "noktalı alan ölçüm cetvelleri" kullanıldı. Bu cetvelde noktalı alanlar birbirine eşit aralıklarla bölünmüş noktalarla oluşmaktadır. Bu eşit mesafeleri bilinen cetvel incelenmek istenen kesit üzerine getirildiğinde ilgili alan hesaplanmış olacaktır. Bu alanın matematiksel olarak hesaplanması için ilgili kısımdaki noktaların

her birinin birim alanı $P(a)$ olarak ifade edilir. Bu birim alan içerisindeki toplam nokta sayısı $\sum P_i$ olarak ifade edilir. Ve bunların çarpımı kesitteki noktaların toplam izdüşüm alanı olan A_i değerini verir. Bu eşitlik matematiksel olarak $A_i = \sum P_i \cdot P(a)$ şeklinde ifade edilir (Canan ve ark., 2002). Bu yöntemden yararlanılarak kesitlerdeki yeni bağ doku, kemik ve damar oluşumu hacmi hesaplandı.

3.2.6. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler bilgisayar ortamında SPSS 21.0 for Mac (IBM Corporation) programına yüklenerek gruplar arası karşılaştırmalar One Way ANOVA testi, ikili karşılaştırmalar ise Tukey-Post-Hoc testi ile gerçekleştirildi. $P < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Çalışmamız esnasında genel anestezi komplikasyonuna bağlı olarak ZO120 grubundan 1 hayvan kaybedilmiştir. Çalışmayı etkilemediği için yerine yeni hayvan eklenmemiştir. Deneysel toplam 47 hayvan ile tamamlanmıştır. Çalışmanın sonunda bütün deneklerdeki diş çekim soketi iyileşmesinde sorun görülmemiştir. Herhangi bir hayvanda nekrotik ekspoz kemik görülmemiştir. Tüm deneklerin çekim yaralarında mukozayla iyileşme görülmüş olup enfeksiyona ait şişlik, pü akıntısı gibi bulgular görülmemiştir.

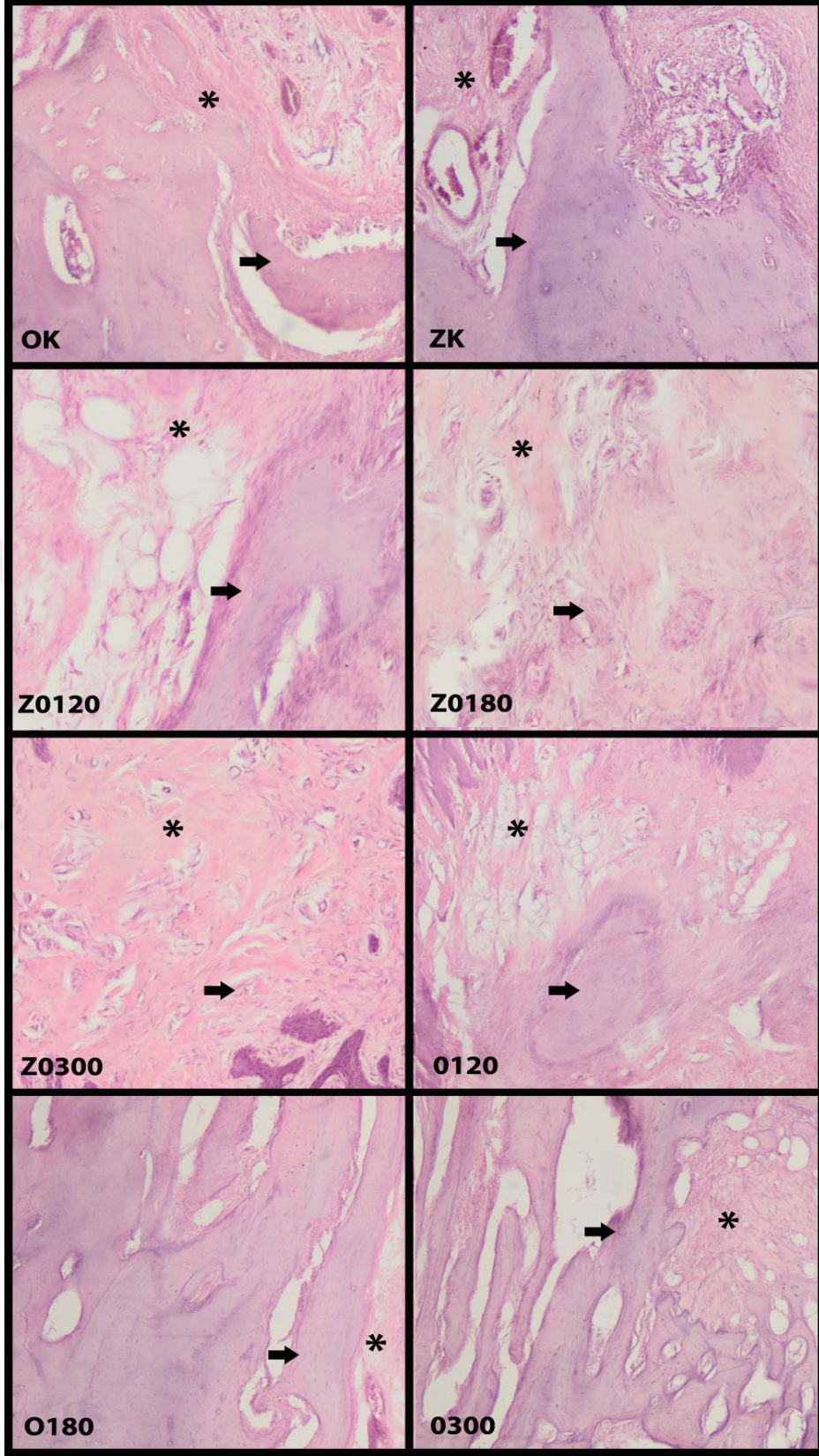
4.1.1. Stereolojik Analiz Bulguları

Tüm grupların diş çekimi bölgesindeki defekt alanlarının yeni kemik dokusu, yeni bağ dokusu ve yeni damar dokusu hacimleri stereolojik analizlerle ölçüldü. Tüm deney gruplarına ait histolojik görüntüler Şekil 8’de gösterilmiştir. Elde edilen verilerin analizleri aşağıdaki gibidir.

Yeni Kemik Oluşumu

En yüksek yeni kemik dokusu hacmi değerleri O300 grubunda görüldü. O300 grubu ile OK, O120, O180 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur ($p=0,00$). O300 dışındaki diğer gruplar arasında yeni kemik dokusu hacimleri değerleri arasında yakınlık olsa da OK ile O120, O180 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,00$). O120 ile O180 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p>0,05$).

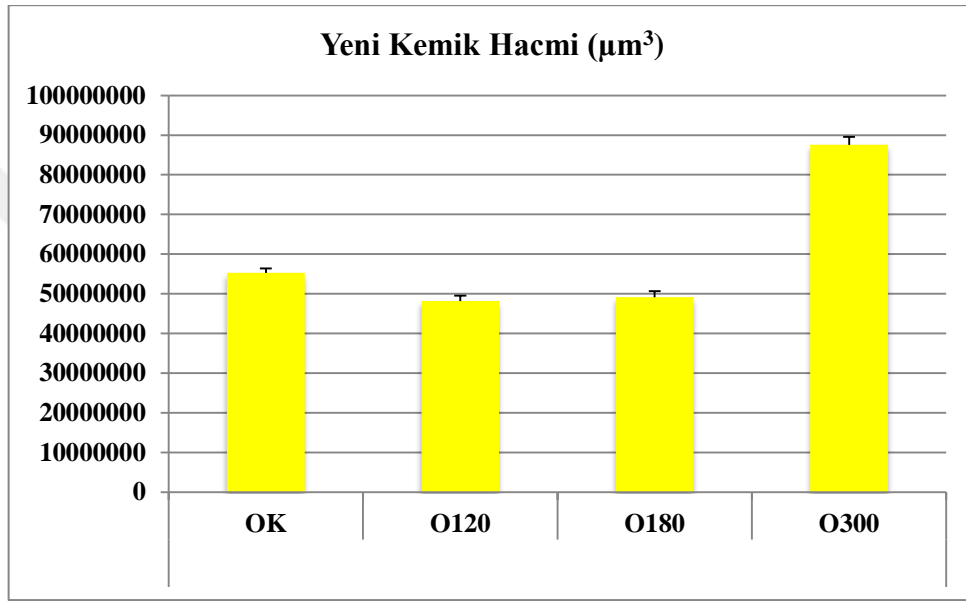
Zoledronik asit verilmeyen grupların istatistiksel karşılaştırılması Şekil 9’de görülmektedir. Zoledronik asit verilmeyen grupların yeni kemik hacmi ortalama ve ortalama standart hata (OSH) değerleri Tablo 3’ de gösterilmiştir.



Şekil 8. Bütün deney guruplarına ait histolojik görüntüler. Siyah oklar yeni kemik alanlarını, yıldızlar (*) ise bağ doku alanlarını göstermektedir.

Tablo 3. Zoledronik asit verilmeyen gruplarda ortalama yeni kemik hacmi değerleri (Ortalama \pm OSH) (μm^3)

Yeni Kemik Hacmi (Ortalama \pm OSH)	
OK	55262691 \pm 1091187
O120	48179725 \pm 1327711
O180	49133933 \pm 1490767
O300	87571666 \pm 2014498



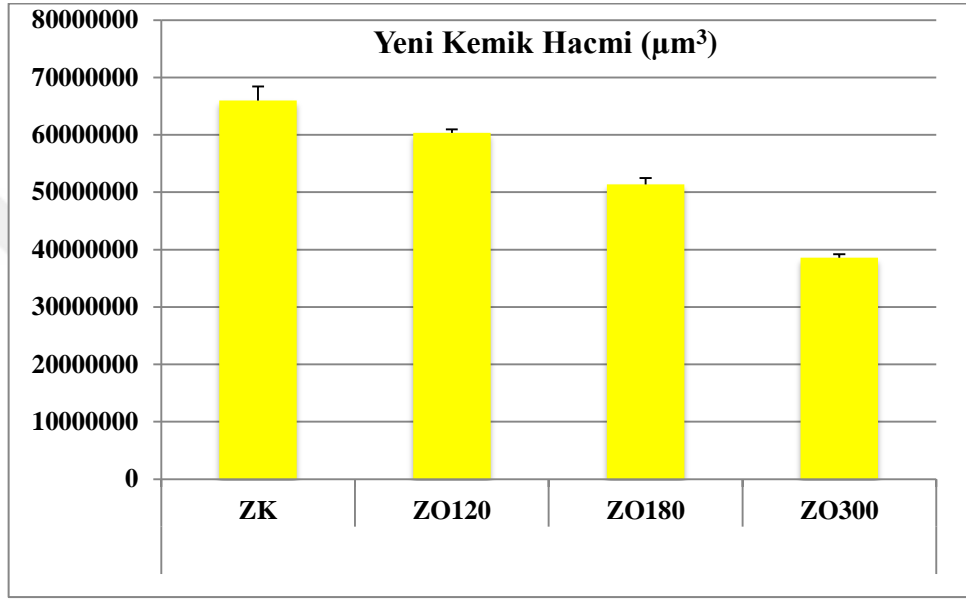
Şekil 9. Zoledronik asit verilmeyen gruplarda yeni kemik hacmi değerlerinin gruplara göre dağılımı

Zoledronik asit verilen gruplardaki denekler yeni kemik dokusu hacmi miktarı açısından karşılaştırıldığında ozon uygulama süresi arttıkça yeni kemik dokusu hacmi üzerinde negatif etki oluşturduğu görülmektedir. En düşük yeni kemik dokusu hacmi ZO300 grubunda görülmüştür. Onu sırasıyla ZO180, ZO120 ve ZK grupları takip etmektedir. Zoledronik asit verilen ve ozon uygulanan gruplar karşılaştırıldığında ZK ile ZO120 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken ($p>0,05$), ZK ile ZO180 ve ZO300 arasındaki fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıdır ($p=0,00$).

Zoledronik asit verilen grupların istatistiksel olarak karşılaştırılması Şekil 10'da gösterilmiştir. Zoledronik asit uygulanan grupların yeni kemik hacmi ortalama ve OSH değerleri Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Zoledronik asit verilen gruplarda ortalama yeni kemik hacmi değerleri (Ortalama \pm OSH) (μm^3)

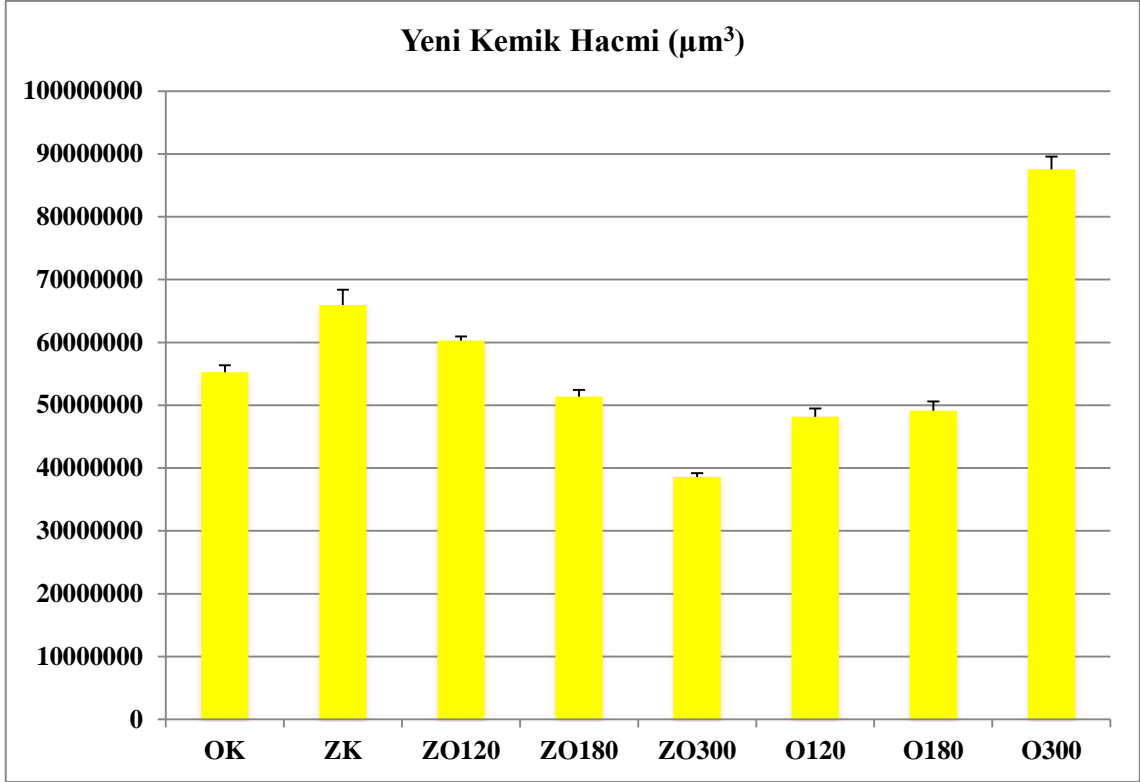
Yeni Kemik Hacmi (Ortalama \pm OSH)	
ZK	65965733 \pm 2441379
ZO120	60308117 \pm 631851
ZO180	51372203 \pm 1075756
ZO300	38579350 \pm 604359



Şekil 10: Zoledronik asit verilen gruplarda yeni kemik oluşum hacimlerinin gruplara göre dağılımı

Yeni kemik dokusu hacmi açısından bütün gruplar karşılaştırıldığında en yüksek yeni kemik dokusu hacmi O300 grubunda, en düşük yeni kemik dokusu hacmi ZO300 grubunda görülmüştür. ZK grubundaki yeni kemik dokusu hacmi OK grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,00$).

Bütün grupların istatistiksel karşılaştırılması Şekil 11’de gösterilmiştir.



Şekil 11: Zoledronik asit verilen ve verilmeyen bütün gruplarda yeni kemik hacmi değerlerinin karşılaştırılması

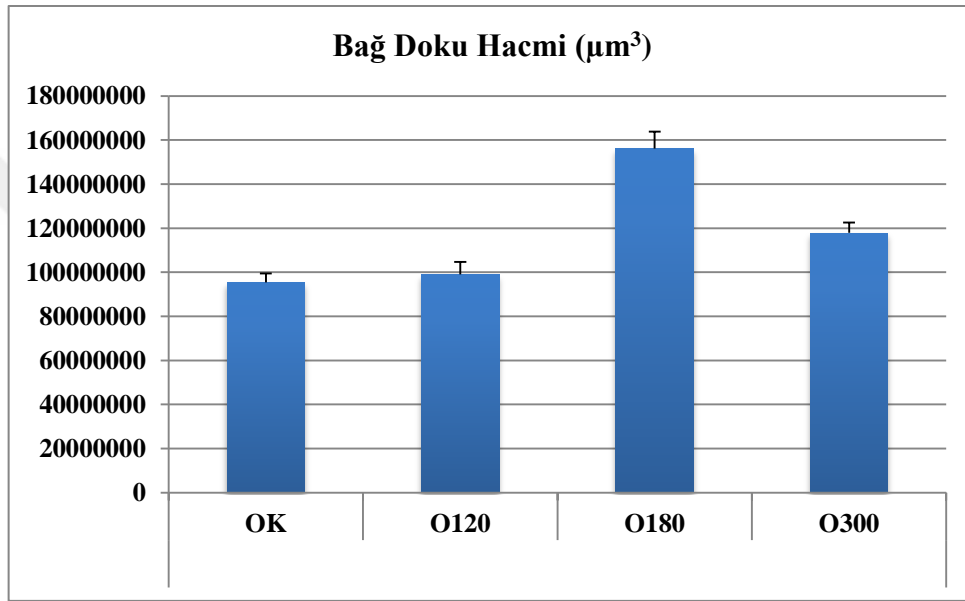
Yeni Bağ Doku Oluşumu

En yüksek yeni bağ doku hacmi O180 grubunda görüldü. O180 grubu ile OK, O120, O300 grupları arasında anlamlı istatistiksel fark mevcuttur ($p=0,00$). O180 grubu dışındaki diğer gruplar yeni bağ doku hacmi açısından karşılaştırıldığında birbirlerine yakın değerlere sahip olsalar da OK ile O300 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,028$). O300 grubu ile OK ve O120 arasındaki yeni bağ dokusu hacmi açısından oluşan fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Zoledronik asit verilmeyen grupların istatistiksel karşılaştırılması Şekil 12’de gösterilmiştir. Bu grupların bağ doku hacmi ortalama ve OSH değerleri Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Zoledronik asit verilen gruplarda ortalama yeni bağ doku hacmi değerleri (Ortalama \pm OSH) (μm^3)

Bağ Doku Hacmi (Ortalama \pm OSH)	
OK	95380941 \pm 4085771
O120	99086300 \pm 5608581
O180	156084250 \pm 7718523
O300	117873483 \pm 4750698



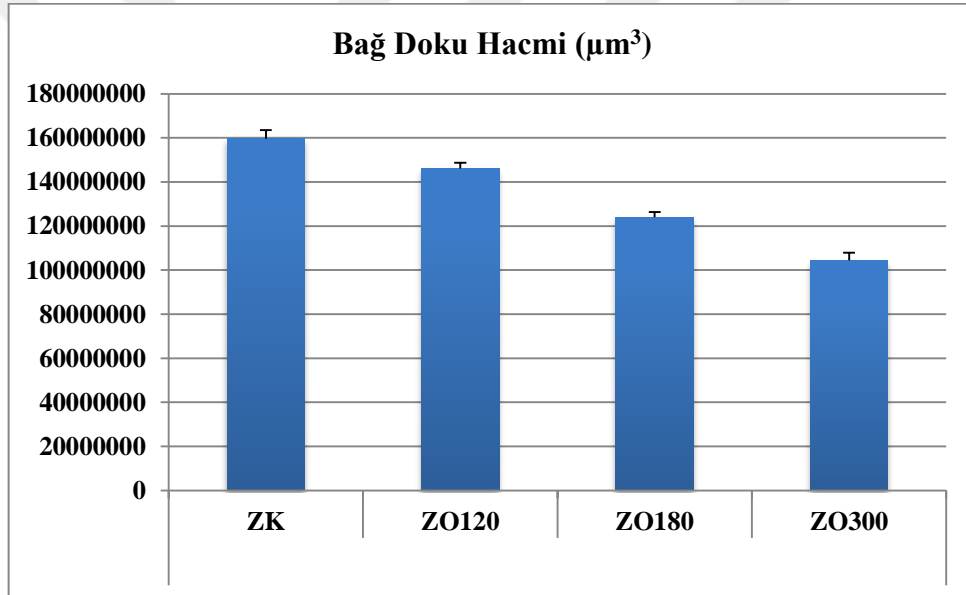
Şekil 12: Zoledronik asit verilmeyen gruplarda yeni bağ doku hacmi değerlerinin gruplara göre dağılımı

Zoledronik asit verilen gruplardaki yeni bağ dokusu hacmi miktarları açısından karşılaştırdığında ozon verilme süresi uzadıkça azalan yönde etki oluştugu görülmüştür. En yüksek yeni bağ doku hacmi miktarı ZK grubunda en düşük ise ZO300 grubunda görülmüştür. ZK grubu ile diğer gruplar karşılaştırdığında ZO 120 ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yokken ($P>0,05$) diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($P=0,00$). ZK grubu hariç diğer gruplar kendi içerisinde karşılaştırdığında ZO120 ile kalan guplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştken ($p=0,00$) ZO180 ile ZO300 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$)

Zoledronik asit verilen grupların istatistiksel olarak karşılaştırılması Şekil 13’de gösterilmiştir. Bu grupların bağ doku hacmi ortalama ve OSH değerleri Tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 5: Zoledronik asit verilen gruplarda ortalama yeni bağ doku hacmi değerleri (Ortalama \pm OSH) (μm^3)

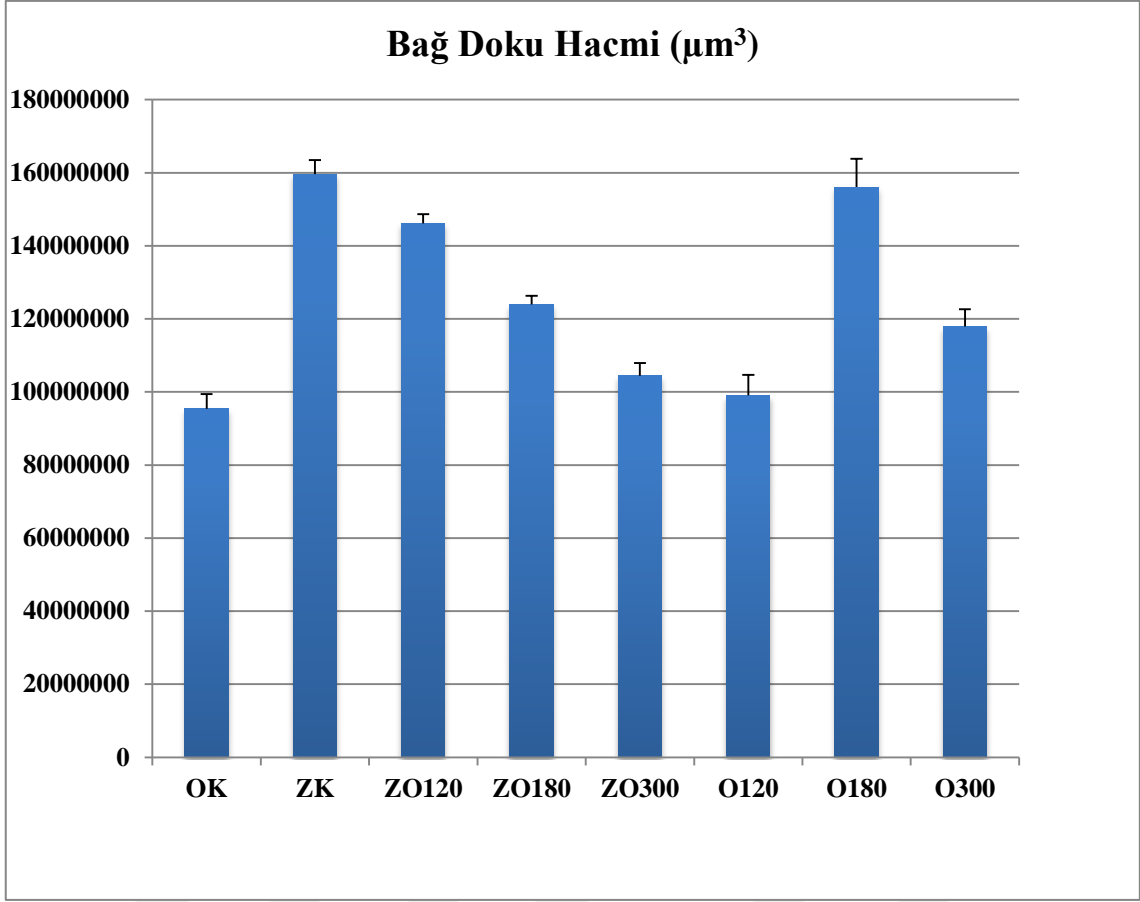
Bağ Doku Hacmi (Ortalama \pm OSH)	
ZK	159617683 \pm 3853931
ZO120	146164336 \pm 2503641
ZO180	123968903 \pm 2344251
ZO300	104438866 \pm 3456538



Şekil 13. Zoledronik asit verilen gruplarda yeni bağ doku hacmi değerlerinin gruplara göre dağılımı

Yeni bağ doku hacmi açısından tüm gruplar karşılaştırıldığında en yüksek miktar ZK grubunda en düşük değer ise OK grubunda bulunmuştur. ZK grubundaki yeni bağ doku hacmi OK grubuna göre ileri derecede yüksektir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,00$).

Zoledronik asit verilen ve verilmeyen bütün grupların bağ doku hacmi yönünden karşılaştırılması Şekil 14’de gösterilmiştir.



Şekil 14: Zoledronik asit verilen ve verilmeyen gruplarda yeni bağ doku hacmi değerlerinin karşılaştırılması

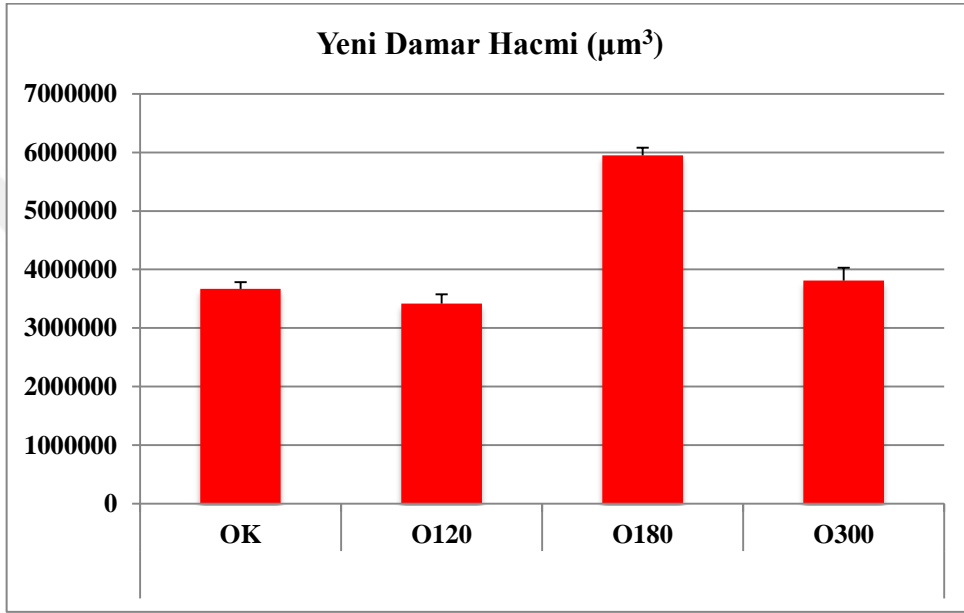
Yeni Damar Oluşumu

Zoledronik asit verilmeyen gruplardaki en yüksek yeni damar hacmi O180 grubunda görüldü. O180 grubu ile OK ve O300 karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken ($p=0,00$), O120 grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p \geq 0,05$). O180 grubu dışındaki diğer gruplar arasında yeni damar hacmi miktarı açısından benzer değerler bulunmuştur. OK grubu ile O120 ve O300 grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).

Zoledronik asit verilmeyen grupların yeni damar hacmi bakımından istatistiksel olarak karşılaştırılması Şekil 15’de gösterilmiştir. Bu grupların yeni damar hacmi ortalama ve OSH değerleri Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7: Zoledronik asit verilmeyen gruplarda ortalama yeni damar hacmi değerleri (Ortalama \pm OSH) (μm^3)

Yeni Damar Hacmi (Ortalama \pm OSH)	
OK	3666966 \pm 118704
O120	3416558 \pm 157355
O180	5951371 \pm 128728
O300	3809926 \pm 219010



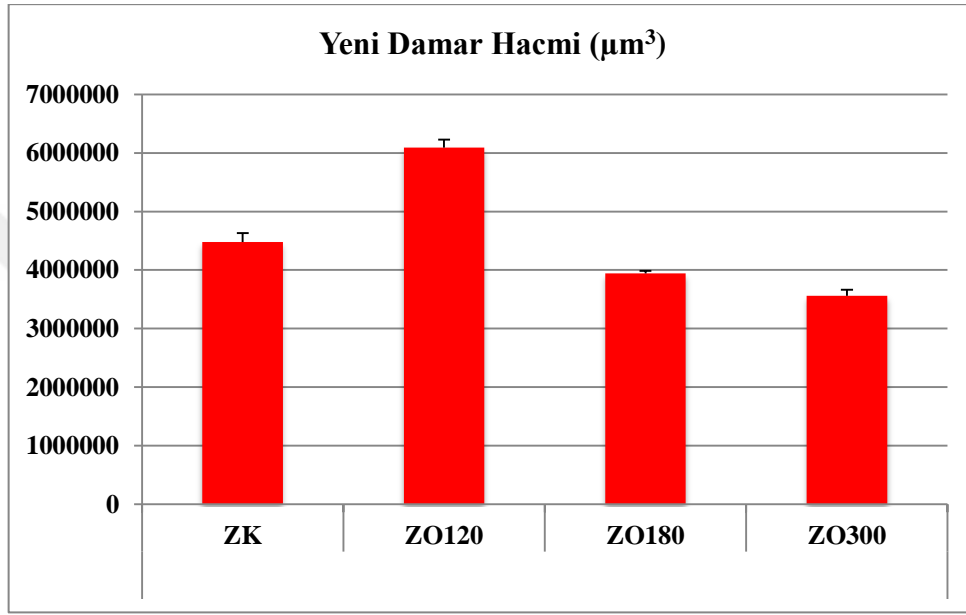
Şekil 15. Zoledronik asit verilmeyen gruplarda yeni damar hacmi değerlerinin gruplara göre dağılımı

Zoledronik asit verilen gruplar yeni damar hacmi yönünden karşılaştırıldığında en yüksek yeni damar hacmi miktarı ZO120 grubunda görülmektedir. En düşük yeni damar hacmi ise ZO300 grubunda görülmüştür. ZO120 grubu diğer bütün gruplarla karşılaştırıldığında yeni damar hacmi bakımından oluşan fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,00$). Zoledronik asit verilip ozon uygulanmayan grup diğer gruplarla karşılaştırıldığında ZO180 ile anlamlı fark bulunmazken ($P>0,05$), ZO120 grubu arasında yeni damar oluşumu açısından istatistiksel anlamlı fark bulundu ($p=0,00$).

Zoledronik asit verilmeyen grupların yeni damar hacmi bakımından karşılaştırılması Şekil 16'da gösterilmiştir. Bu grupların yeni damar hacmi ortalama ve OSH değerleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Zoledronik asit verilen gruplarda ortalama yeni damar hacmi değerleri (Ortalama \pm OSH) (μm^3)

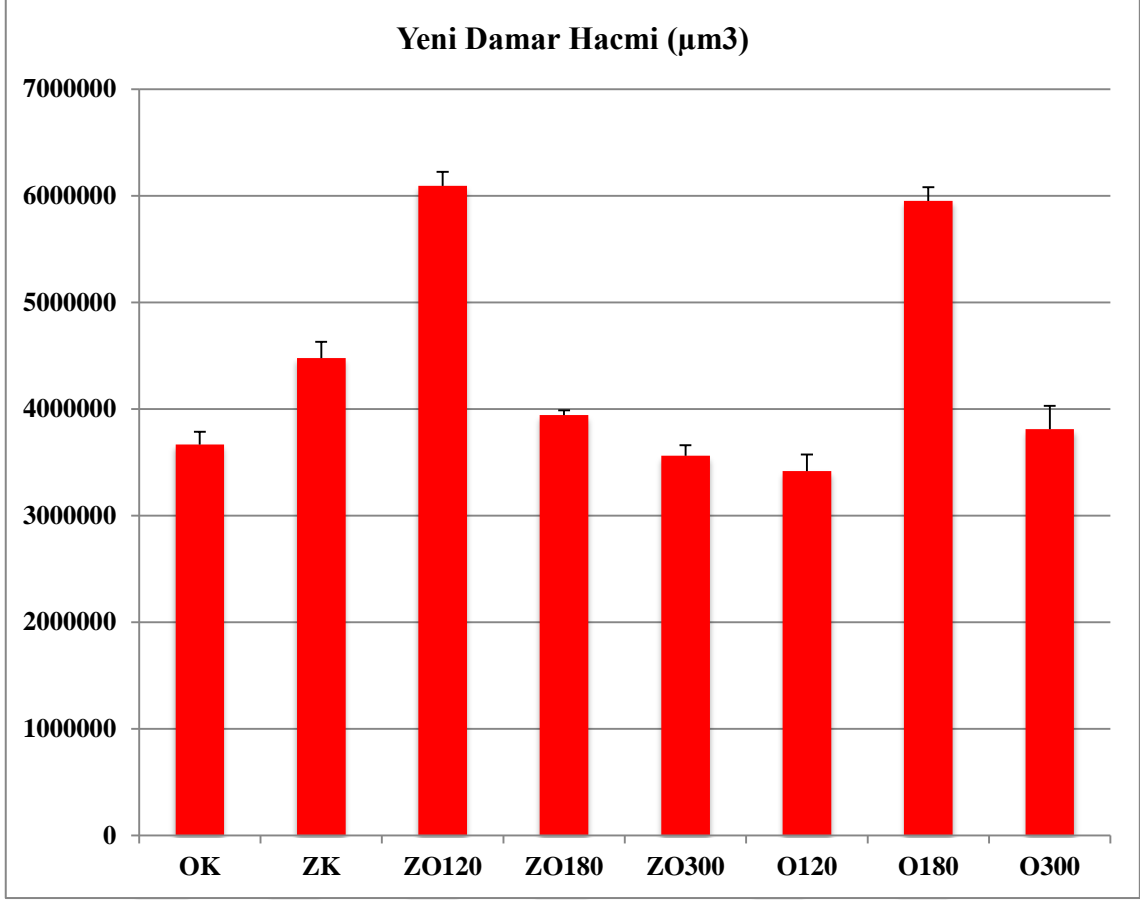
Yeni Damar Hacmi (Ortalama \pm OSH)	
ZK	4477808 \pm 150896
ZO120	6090775 \pm 134871
ZO180	3941366 \pm 44475
ZO300	3559496 \pm 101629



Şekil 16. Zoledronik asit verilen gruplarda yeni damar hacmi değerlerinin gruplara göre dağılımı

Yeni damar hacmi açısından tüm gruplar karşılaştırıldığında en yüksek yeni damar hacmi ZO120 grubunda bulunmuştur. O180 grubundaki yeni damar hacmi miktarı ZO120 grubuna çok yakındır ve aralarında oluşan fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). ZO120 ve O180 hariç diğer gruplarda oluşan yeni damar hacmi miktarının birbirine yakın olduğu görülmüştür. Yeni damar hacmi miktarı en düşük olan grup O120 grubudur. Zoledronik asit verilen kontrol grubuyla zoledronik asit verilmeyen kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,00$).

Zoledronik asit uygulanan ve uygulanmayan bütün grupların istatistiksel karşılaştırılması Şekil 17’de gösterilmiştir.

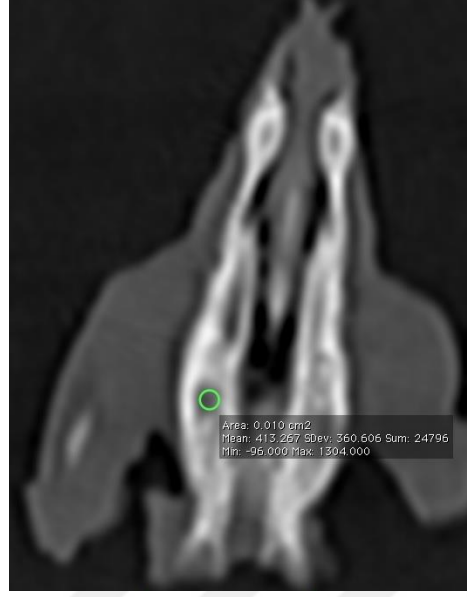


Şekil 17. Zoledronik asit verilen ve verilmeyen gruplarda yeni damar hacmi değerlerinin karşılaştırılması

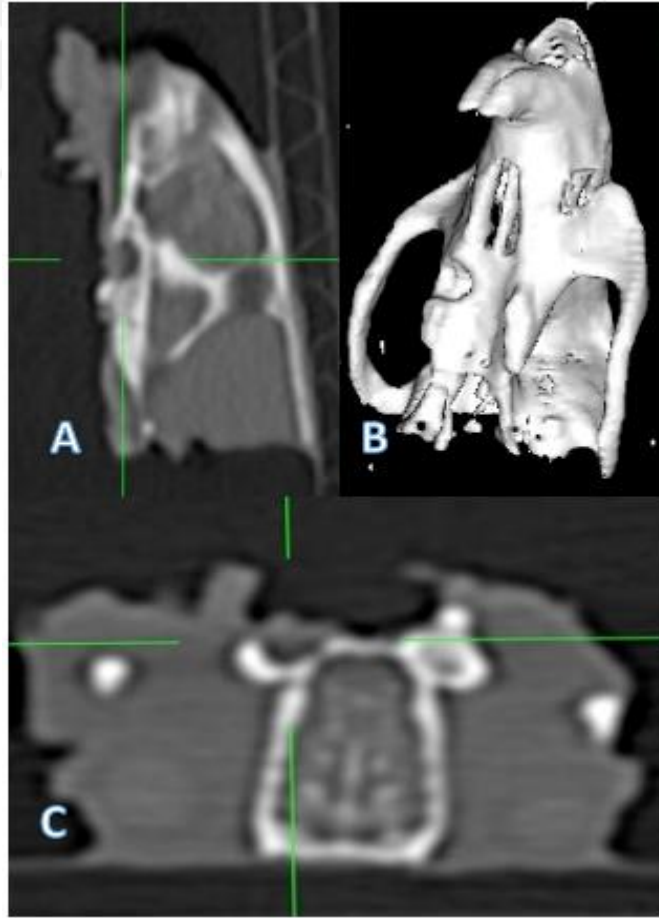
4.1.2. Radyolojik Analiz Sonuçları

Tüm grupların diş çekimi bölgesindeki defekt alanlarında ortalama kemik yoğunluğunun HU değerleri Osirix 10.0 (Anova, Brezilya) programı kullanılarak ölçülmüştür (Şekil 18). Defekt alanının radyolojik görüntüleri Şekil 19 A, B, C ve 20 A, B'de gösterilmiştir.

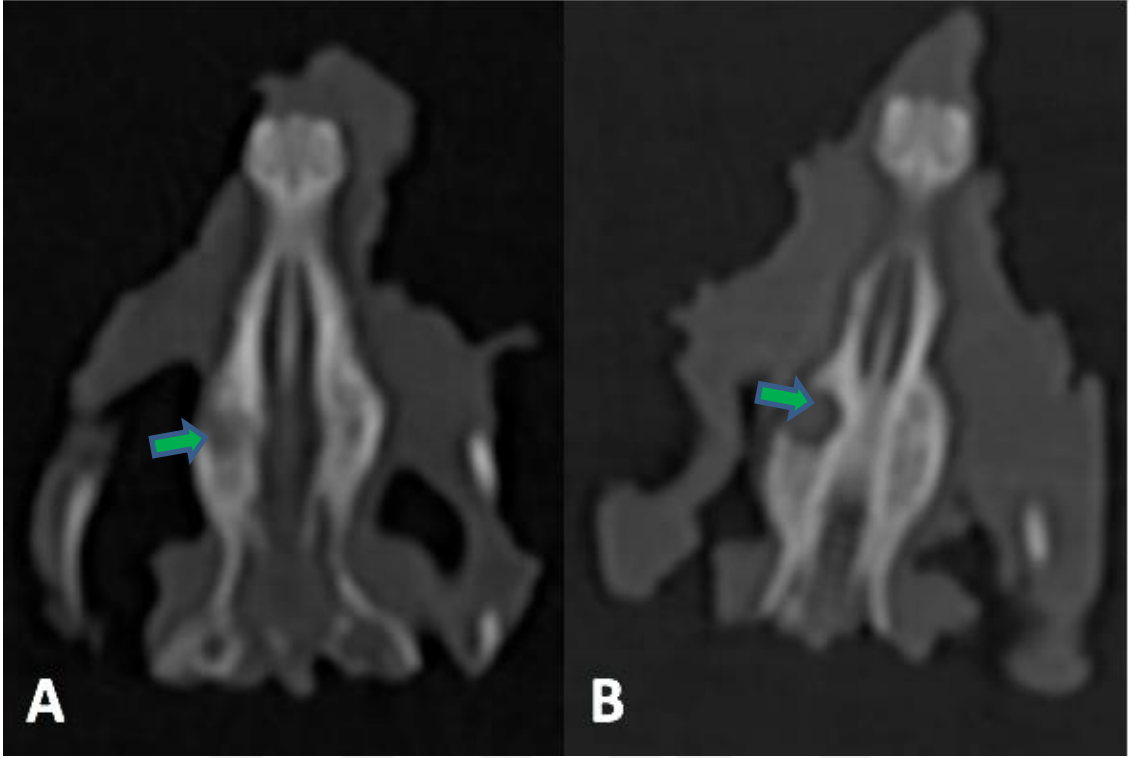
O300 grubunda ortalama kemik yoğunluğu zoledronik asit verilmeyen diğer gruplara göre daha fazla bulunmuştur. Tüm gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında ortalama kemik yoğunluğu miktarı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 18. Diş çekimi bölgesindeki defekt alanlarında ortalama kemik yoğunluğunun ölçülmesi



Şekil 19. Defekt alanının sagittal (A), 3D (B) ve koronal (C) görüntüsü

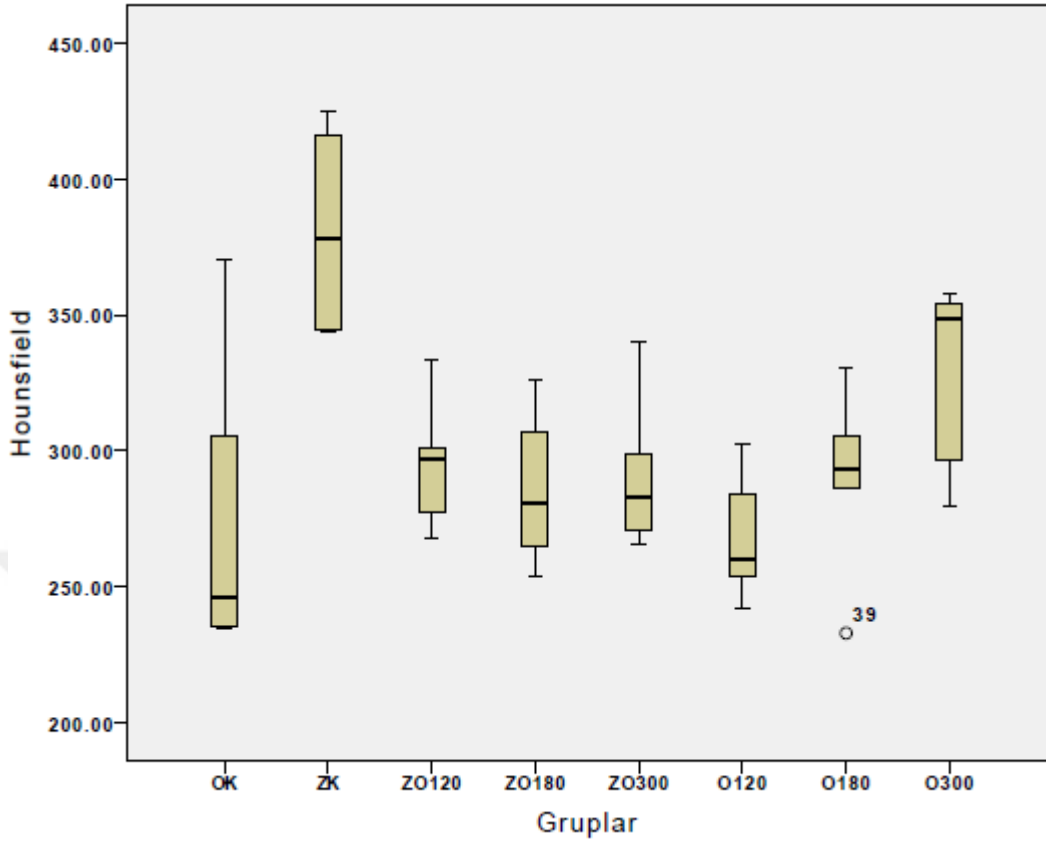


Şekil 20. Zoledronik asit verilmeyen (A), zoledronik asit verilen (B) gruplardan birer deneğin aksiyel kesit radyolojik görüntüsü

Ortalama kemik yoğunluğu değerleri Tablo 9’da, grupların karşılaştırılması Şekil 21’ de gösterilmiştir.

Tablo 9. Zoledronik asit verilen ve verilmeyen tüm gruplar yoğunluğu değerleri (Ortalama \pm OSH) (HU)

Gruplar	Haunsfield Unit (Ortalama \pm OSH)
OK	273241 \pm 221959
ZK	380976 \pm 140516
O120	267338 \pm 90000
O180	290333 \pm 131780
O300	331041 \pm 90000
ZO120	295400 \pm 113064
ZO180	285666 \pm 111053
ZO300	290471 \pm 114607



Şekil 21. Zoledronik asit verilen ve verilmeyen tüm grupların ortalama kemik yoğunluğu değerleri

5. TARTIŞMA

Bifosfonatlar günümüzde osteoporoz, paget hastalığı, fibröz displazi kemik metastazı ile seyreden göğüs, prostat ve akciğer kanserleri, osteogenezis imperfekta ve multiple myeloma gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanlardır. (Marx, 2007, Bisdas ve ark., 2008; Triester ve ark., 2009)

Bifosfonatlar, bahsi geçen hastalıkların patolojik kırıklar, omurilik kompresyonu ve malign hiperkalsemi gibi birçok iskeletsel komplikasyonunun önlenmesinde, radyoterapi ve cerrahiye olan ihtiyacın azaltılmasında etkin şekilde kullanılmaktadırlar (Aghaloo ve ark., 2011; Fliefel ve ark., 2015). Ancak, bifosfonat kullanımı ilk olarak Marx ve ark. (2003) tarafından tanımlanan ve çene kemiklerinde tedaviye dirençli osteonekrozlarla karakterize özgün bir komplikasyonun ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Literatürde bu komplikasyon BRONJ olarak adlandırılmıştır. BRONJ baş-boyun bölgesine radyoterapi hikayesi olmayan, bifosfonat tedavisi görmüş veya görmekte olan hastalarda maksillofasial bölgede 6-8 haftadan fazla süre boyunca tedavilere yanıt vermeyen ekspoze kemik sahalarını ifade etmektedir (Khosla ve ark., 2007; Ruggiero ve ark., 2009).

Bifosfonatlar, kemik mineralizasyonunun endojen düzenleyicisi olan pirofosfatların sentetik ve metabolize olmayan analoglarıdır (Tanvetyanon ve Stiff., 2006). Farklı formlarda farklı hastalıkların tedavisi için kullanılan bu ilaçlar arasında sık reçete edilenler en potent bifosfonat tipleri olan pamidronat ve zoledronattır (Agrillo ve ark., 2012). Bu ilaçlar, osteoklastik kemik rezorpsiyonunu hidroksiapatitin çözünmesi için gerekli olan proton pompasının inhibisyonu, osteoklastların oluşumunun/ aktivasyonunun azaltılması ve osteoklast apoptozun indüksiyonu gibi farklı yollar ile azaltırlar (Agrillo ve ark., 2012; Silva ve ark., 2015). Ayrıca bifosfonatların endotel hücrelerinin inhibisyonuna neden olarak antianjiyogenik etkiye de neden oldukları bildirilmiştir (Agrillo ve ark., 2006; Agrillo ve ark., 2007). Osteoklastların fonksiyonunun inhibisyonu kemikte yapım yıkım döngüsünü bozmakta ve antianjiyogenetik etkileri de beslenmenin bozulmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak kemik osteonekroz gelişimine açık hale gelmektedir (Wood ve ark., 2002; Marx ve ark., 2005).

Bifosfonat grubu ilaçlar genellikle oral yolla veya intravenöz yolla alınmaktadır. İntravenöz maruziyette ilacın kemik dokudaki ömrü daha uzun ve biyoyararlanımı oral kullanıma göre daha yüksektir. Oral kullanımda ince bağırsaklarda yaklaşık % 0,64 emilen bifosfonatların kemik dokuda bulunma yüzdesi 0,5' dir. Bifosfonat gruplarına göre dolaşım sistemindeki yarı ömürleri 30 dk-2sa arasında değişmektedir. Kemik minerallerinde depolandığında kemik döngüsü devam ettikçe yaklaşık 11 yıl etkilerinin devam edebileceği bildirilmiştir (Marx ve ark., 2005).

İntravenöz bifosfonat kullanımı sonucu nekrotik kemik ile karşılaşma ihtimali oral yolla kullanıma göre daha fazla olması, intravenöz bifosfonat kullanımı sonrası ilacın tamamen atılımının uzun sürmesi dolayısıyla çalışmamızda zoledronik asit uygulamasını intraperitoneal olarak uyguladık. Ayrıca klinik gözlemlerimizde son dönemlerde intravenöz bifosfonat kullanımının yaygınlaşması zoledronik asit uygulama şeklini belirlememizde etkili oldu.

Bifosfonat ilaç kullanımı sonrası ortaya çıkan osteonekroz vakaları ile ilgili en önemli sorulardan biri sadece çene kemiklerinden mi görülmekte yoksa vücuttaki diğer kemik yapılarında da ortaya çıkmakta mıdır? 2002-2003 yıllarında yapılan ilk çalışmalarda osteonekroz vakalarının tamamının çene kemiklerinde görüldüğü bildirilmiştir. Daha sonra yapılan bazı hayvan çalışmalarında çene kemikleri dışında vertebra ve femurda da görüldüğü bildirilmiştir. Froelich ve ark. (2011) yayınladıkları bir makalede dış kulak yolunda bifosfonat ilaç kullanımına bağlı osteonekroz görüldüğünü bildirmişlerdir.

Osteonekrozlar iskelet sistemindeki diğer kemiklerden ziyade çene kemiklerinde gözlenmektedir. Bunun temel nedeninin diş hareketlerinin periodontal aralıkta oluşturduğu etki ile çene kemiklerinde diğer kemiklere nazaran devamlı ve daha hızlı olarak remodelasyon gözlenmesi olduğu düşünülmektedir (Kim KM ve ark., 2014, Longo ve ark., 2014). Çalışmalarda çene kemiklerindeki turnover miktarının diğer vücut kemiklerine göre yaklaşık 100 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Reid ve ark., 2002, Baus ve ark., 2008). Diğer yandan oral kavitedeki mikrobiyal ortam, dış çevre ile olan sürekli ilişki, çene kemiklerinin vaskülarizasyonu ve travmaya yatkınlığı osteonekroz oluşması riskini arttıran diğer faktörler arasında gösterilmektedir (Krishnan ve ark., 2009, Kim JW ve ark., 2014). BRONJ lezyonları, kemiğin bakteriyel kolonizasyona maruz kalmasına neden olabilecek oral travmatizma (protez, özellikle cerrahi

ekstraksiyon veya ağız cerrahisi gibi) ortaya çıkana kadar sessiz kalabilir (Agrillo ve ark., 2012). Ancak vakaların bazılarında herhangi bir dış etkene maruz kalmadan da ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (Agrillo ve ark., 2007a). Nitekim, her bir patolojik veya travmatik sorun, hipoksi, hipersellülarite ve hipovaskülarizasyon sonucu osteonekrozdan sorumlu olabilir (Agrillo ve ark., 2012).

Literatürde bifosfonat ilaç kullanımına bağlı nekroz olgularının büyük bir çoğunluğu çene kemiklerinde görülmektedir. Bunun dışında femur, vertebra ve dış kulak yolunda da nekroz olduğunu bildiren çalışmalar olmuştur. Çene kemiklerinin travmaya diğer vücut kemiklerine göre daha fazla açık olması, çene kemiklerinde girişimsel işlemlerin daha fazla yapıyor olması nedeniyle bizde çalışmamızda zoledronik asit verilen deneklerin maksillalarından diş çekimi gerçekleştirdik.

BRONJ, klinik bulguları ekspoze kemik ile karakterize, yaşam kalitesini düşüren, fonksiyon kaybına neden olan ve ağrı semptomu bulduran bir tablodur. Bu nedenlerden dolayı tedavisi oldukça önemlidir. Maalesef bu ilaçların kullanımının bırakılması tam olarak mümkün olmayabilir. Çünkü bazı hastalıkların varlığında bifosfonat kullanımı yararları nedeniyle tek tedavi seçeneğidir. BRONJ oluştuktan sonra uygulanan tedaviler kesin sonuç vermeyebilir. Daha çok semptomlara yönelik tedavi girişimlerinde bulunmaktadır. Bu da hastaların şikayelerinin tamamen giderilememesi anlamına gelir ki bu durumda diş hekimleri açısından problem oluşturmaktadır (Marx ve ark., 2005; Jabbour ve ark., 2012; Longo ve ark., 2014).

Osteonekroz oluşumu riskini minimum seviyede tutmak veya tamamen ortadan kaldırmak için bu hastalarla bifosfonat içeren ilaçları kullanmadan önce detaylı bir radyolojik ve klinik intraoral muayene yapılmalıdır. Hatta bu ilaçları reçete edecek medikal onkologlar, ortopedistler veya diğer doktorlar ile multidisipliner çalışılmalı, ilaç kullanımına başlanmadan önce hastalar diş hekimlerine yönlendirilmelidir. Sonrasında enfeksiyon riski yüksek olan, prognozu kötü olan dişler için radikal tedavi yaklaşımlarına yönlendirilmelidir. Hasta bifosfonat ilaç kullanımına maruz kalmışsa herhangi bir dental girişimden önce kemik rezorpsiyonunu değerlendirmede kullanılan serum C terminal telopeptid (CTX) değerine bakılmasını öneren çalışmalar mevcuttur. Bu değer düşük olması osteonekroz riskini arttırmaktadır (Bagan ve ark., 2008; Kwon ve ark., 2009; Fleisher ve ark., 2010; Lazrovici ve ark., 2010). Bunun yanında bazı

çalışmalarda serum CTX değerinin BRONJ oluşunu açısından bir belirteç olmadığı da bildirilmiştir (Lehrer ve ark., 2008; Lee ve Suzuki., 2010; Marx ve ark., 2007).

BRONJ hastalarının farklı radyolojik, klinik semptomlara ve farklı sistemik hastalıklara sahip olmaları nedeniyle çeşitli cerrahi, medikal ve yardımcı tedavi seçenekleri uygulanmaktadır. Tedavi seçimine karar verme ihtiyacından dolayı literatürde birçok BRONJ sınıflandırma sistemi bulunmaktadır. Günümüzde en sık kullanılan 2007 yılında Ruggiero ve ark. Tarafından ortaya çıkarılan daha sonra 2009 yılında revize edilen BRONJ evrelendirme sistemi kullanılmaktadır. Bu sınıflandırma 2014 yılında tekrar güncellenmiştir. Bu evrelendirme sistemine göre bifosfonat kullanan hastalar sahip oldukları semptomlara göre 4 evreye ayrılmış ve bu evrelere göre tedavi protokolleri oluşturulmuştur (Ruggerio ve ark., 2014).

BRONJ oluşturmak için araştırcılar deneklere farklı protokoller uygulamıştır. Huja ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada zoledronik asiti farelere haftada 0,1 mg/kg dozda 9 hafta boyunca uygulamışlardır. Herhangi bir cerrahi girişimde bulunulmadığında nekrotik kemikle karşılaşmadıklarını rapor etmişlerdir. Sonis ve ark. (2009) farelere 3 hafta boyunca her gün 0,075 mg/kg dozda subkutan zoledronik asit uygulamışlardır. Hem mandibuladan hem de maksilladan diş çekimi yaptıkları fareleri 14. ve 28. günde sakrifiye ederek nekroz oluşumunu incelemişlerdir. Biasotto ve ark. (2010) diş çekimi gerçekleştirdikten 7 hafta sonra sakrifiye ettikleri tüm deneklerde BRONJ oluştuğunu rapor ettikleri çalışmalarında haftada bir sefer olmak üzere 5 hafta boyunca 0,04 mg zoledronik asit uygulamışlardır. Aghaloo ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada ratlara 3 hafta boyunca 0,06 mg/kg intraperitoneal yolla zoledronik asit uygulamışlardır. Oluşturdukları periodontal lezyonların yaklaşık yarısında nekroz oluştuğunu bildirmişlerdir.

Biz de yapmış olduğumuz bu alışmamızda Bereket ve ark. (2018) yaptıkları çalışmayı referans alarak deney hayvanlarına 8 hafta süreyle haftada 3 kere olmak üzere 0,1 mg/kg dozda zoledronik asiti intraperitoneal olarak uyguladık. Yazarlar bu deney modelini mandibula fraktürleri üzerinde uygulamışlardır. Biz de bu deneysel modeli diş çekimi üzerinde uyguladık. Bu çalışmayı tercih etmemizin nedeni kullandıkları deneysel modelin klinik ile uyumlu olmasıdır. Çünkü klinikte bifosfonat ilaç kullanan hastaların hepsinde BRONJ oluşmamaktadır.

BRONJ tedavisi seçeneklerini medikal tedaviler, cerrahi yaklaşımlar ve medikal ve cerrahi yaklaşımlara ek yardımcı tedaviler olmak üzere; 3 gruba ayırabiliriz. Destekleyici tedaviler dokulardaki iyileşme potansiyelini arttırıcı hedefler içeren tedavi yaklaşımlarıdır. Literatürde BRONJ ile mücadelede, kemik iliği ve kök hücre tedavileri, paratiroid hormon tedavileri, kemik morfogenetik proteinleri, plateletten zengin plazmalar, plateletten zengin proteinler, lazer tedavileri, hiperbarik oksijen tedavisi ve ozon tedavisi uygulanmıştır. Bu uygulamalarla ilgili literatürde başarılı sonuçlar elde ettiğini bildiren çalışmalar olduğu gibi etkilerinin tartışıldığı çalışmalarda mevcuttur (Agrillo ve ark., 2006; Agrillo ve ark., 2007b; Lee ve ark., 2010; Cella ve ark., 2011; Martins ve ark., 2011).

Günümüzde onkolojik hasta sayısında artış ve kemik hastalıklarında daha fazla bifosfonat grubu ilaç kullanımı diş hekimliğinde bu grup hastalarla karşılaşma miktarını arttırmıştır. Diş hekimi tedavi öncesi iyi bir anamnez almadığı veya bu konu ile ilgili yeterli bilgiye sahip olmadığı takdirde bifosfonat ilaç kullanımı kolayca atlanabilecek bir durumdur. Dikkat edilmediği takdirde çenelerin nekrozlarına kadar gidebilecek ciddi komplikasyonlara neden olmaktadır. Fakat günümüzde tam bir tedavi yönteminin olmaması da araştırmacıları bu konuya yönlendirmektedir. Biz de çalışmamızı günümüzde popülerliği artan bifosfonat grubu ilaçların kullanımı sonrası tedavisinde ozon uygulamaları üzerinde şekillendirdik.

Ozon molekülü 3 tane oksijen atomunun bir araya gelmesiyle oluşan ve tabiatta serbest halde bulunan bir gazdır. Ozon gazının tıp ve diş hekimliği alanlarında kullanılmakta olan sıvı ve gaz olmak üzere iki ana formu mevcuttur (Gupta ve Mansi, 2012). Sıvı formu ozonize su, ozonize yağ ve ozonize jel (zeytinyağından elde edilir) olarak uygulanmaktadır (Shoukheba ve ark., 2014). Topikal ozon uygulaması; cihazın uç kısmının (prob) doku ile temas etmesi sonrası ortamdaki oksijen atomlarının ozon molekülüne dönüşmesi prensibine dayanır (Kazancıoğlu ve ark., 2015). Ozon molekülü dolaşım sistemindeki kan komponentleri olan eritrosit, trombosit, lökosit ve epitel hücreleri ile etkileşime girerek mikrosirkülasyonu, hücre enerjisini, antioksidan savunma sistemini ve oksijen metabolizmasını olumlu yönde etkilemektedir. Antifungal, antiviral ve antibakteriyel etkileri ile direk olarak yara iyileşmesini pozitif yönde etkiler. Bazı interferon ve sitokinlerin ortama salınımını arttırarak da dolaylı olarak yara iyileşmesine katkıda bulunur (Patel ve ark., 2011, Dixit ve ark., 2013). Ozon

tedavisi tıpta dahiliye (Kushmakov ve ark., 2018), nöroloji (Magalhaes ve ark., 2012), dermatoloji (Wang, 2018) , ortopedi (Li ve ark., 2018), onkoloji (Clavo ve ark., 2018) gibi bir çok branşta kullanılmaktadır. Ozonun diş hekimliği branşlarında kullanımı çok eski yıllara dayanmaktadır. Günümüzde diş hekimliğinde tekrar popülaritesi artmış bir konudur. Diş hekimliğinde endodonti alanında kök-kanal irigasyonunda (Silveira ve ark., 2007), restoratif diş tedavisi alanında kavite dezenfeksiyonunda (Schmidlin ve ark., 2005), periodontoloji alanında dişeti hastalıklarının tedavisinde (Uraz ve ark., 2019) ve oral cerrahide birçok alanda kullanılmaktadır (McKenna ve ark., 2013; Alan ve ark., 2015; Yücesoy ve ark., 2017; Sivalingam ve ark., 2017; Karaca ve ark., 2018; Eroglu ve ark., 2018).

Eroglu ve ark. (2018) domuzlarda 10 mm çapında pançla oluşturdukları dişeti defektlerine topikal ozon tedavisi uygulamışlardır. 3., 7. ve 10 günde iyileşmeyi histolojik olarak incelemişlerdir. Erken dönemde (3. ve 7. Gün) ozon tedavisinin sonuçlarının kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu bulmuşlardır. 10. Günde ozon ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark bulunamamıştır. McKenna ve ark. (2013), 20 hastada peri-implant mukozite sahip 80 implant üzerinde yaptıkları çalışmada subgingival olarak oksijenli su, oksijen ve hidrojen peroksit, sıvı ozon, ozon ve hidrojen peroksit uygulamışlardır. İçinde ozon uygulanan gruplar diğer gruplara göre peri-implant mukozit iyileşmesinde olumlu sonuçlar vermiştir. Karaca ve ark. (2018) immediat yükleme yapılmış 100 implant üzerinde osseointegrasyon değerleri üzerine çalışma yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada düşük doz lazer ve ozonun etkilerini incelemişlerdir. Her iki tedavi yaklaşımı da kontrol grubuna göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Yücesoy ve ark (2017), mental sinir yaralanmaları üzerinde yaptıkları hayvan çalışmasında bir gruba topikal ozon uygulaması diğer gruba biyofotomodülasyon uygulaması yapmışlardır. Ozon ve biyofotomodülasyon grubunda iyileşme kontrol grubuna göre daha iyi bulunmuştur. Sivalingam ve ark. (2017) gerçekleştirdikleri gömülü alt 3.molar dişlerin çekimi sonrası birinci gruptaki hastalara topikal ozon uygulayıp postoperatif sistematik antibiyotik vermemişler ikinci gruptaki hastalara sistematik antibiyotik verip ozon uygulamamışlardır. Cerrahi sonrası şişlik, ağrı, ağız açıklığı bulgularını incelemişlerdir. Buldukları sonuçlara göre topikal ozon uygulaması sistematik antibiyotik kullanımı ile benzer sonuçlar vermiştir. Bu da ozon uygulamasının postoperatif antibiyotik kullanımına alternatif olabileceği düşüncesini ortaya

çıkarmıştır. Alan ve ark. (2015) farelerin femurlarında oluşturdukları monokortikal defektlerde düşük doz lazer ve topikal ozon uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Ozon ve lazer uygulamasının geç dönemde iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Ozonun literatürde bildirilen anjiogenezis ve antimikrobiyal etkileri nedeniyle zoledronik asit kullanımında iyileşmeye olumlu etkileri olabileceğini düşündük. Bu potansiyel etkileri nedeniyle tedavi seçeneği olarak ozon uygulamasını seçtik.

Bereket ve ark. (2018) yaptıkları araştırmada mandibula fraktürü oluşturdukları 36 fareye 8 hafta boyunca haftada 3 kere olacak şekilde zoledronik asit vermişlerdir. Bu farelerin 18 tanesine sildenafil uygulayarak kemik iyileşmesini histolojik olarak incelemişlerdir. Zoledronik asit verilen ve sildenafil uygulanan gruplardaki kemik iyileşmesinin diğer gruplara göre belirgin derece yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Fernando ve ark. (2019) alendronat kullanmış 11 hastada nekrotik kemiği cerrahi olarak çıkardıktan sonra PRF membran ile dokuyu kapatmışlardır. 12 ila 36 ay yaptıkları takipler sonucunda iyi ve hızlı yumuşak doku iyileşmesi görüldüğünü ve tekrar kemik ekspoza ve enfeksiyon görülmediğini rapor etmişlerdir. Özalp ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada yarısına zoledronik asit uyguladıkları 40 adet fare üzerinde normal frez ve piezo cihazı ile defekt oluşturmuşlardır. Bu defektlerin bir kısmına etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) bir kısmına salin solüsyonu uygulamışlardır. Piezo ile oluşturulan defektler frezle oluşturulan defektlere göre daha iyi kemik iyileşmesi göstermiştir. EDTA uygulanan gruplarda ise iyileşme sayısal olarak daha iyi olsa da bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Ragazzo ve ark. (2018) BRONJ lezyonu görülen iki hastayı insan amniyotik membranı uygulayarak tedavi etmişlerdir. Gözleledikleri sonuçlara göre radyolojik olarak yeni kemik oluşumunun olumlu olduğunu, enfeksiyon belirtisinin görülmediğini, ağrı semptomlarının olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca insan amniyotik membran uygulamalarının geleneksel tedavi yaklaşımlarına iyi bir alternatif olabileceğini rapor etmişlerdir. Poli ve ark. (2018) osteoporoz tanısı almış intramusküler yoldan 3 yıl süreyle klodronat kullanan 62 yaşındaki bayan hastada alt çeneden diş çekimi yapılmış. Sonrasında oluşan nekrotik kemik ve iltihaplı mukoza şikâyeti ile başvuran hastaya cerrahi olarak bölgenin temizlenmesine ilave olarak antimikrobiyal fotodinamik tedavi uygulamışlardır. Klinik ve radyografik açıdan 6 ay takip süresince herhangi bir nükse rastlanmadığını ve kemik

iyileşmesinin olumlu yönde etkilendiğini rapor etmişlerdir. Anitua ve ark. (2013) şiddetli ağrı ve parestezi şikâyeti ile başvuran 50 yaşında BRONJ görülen hastaya nekrotik kemiğin rezeksiyonu ve ardından büyüme faktörlerinden zengin plazma (PRGF) uygulaması yapmışlardır. Hastanın parestezi ve ağrı şikayetinin tamamen yok olduğunu ve postoperatif bir yıllık takibin sonunda kemiğin kısmen rejenere olduğunu rapor etmişlerdir. Agrillo ve ark. (2007a) ları kliniklerinde tedavi ettikleri 33 BRONJ hastasına antifungal ve antimikrobiyal tedavilere ek operasyon öncesi ve sonrası olmak üzere 3 dakika süre ile toplam 8 seans topikal ozon uygulaması yapmışlardır. Bunun sonucunda ozonun BRONJ tedavisinde farmakolojik ve cerrahi yaklaşımların etkilerini olumlu yönde arttırdığını ve nekrotik kemiklerin tamamen iyileştiğini bildirmişlerdir.

Literatürde bifosfonat ilaç kullanımı sonrası uygulanan tedavi yöntemleri ile ilgili birçok farklı sonuçlar bildiren tedavi seçenekleri uygulanmıştır. Bu tedavi seçenekleri arasında düşük doz lazer uygulaması, sildenafil uygulaması, PRF uygulaması, PRGF uygulaması, fotodinamik terapi, amniyotik membran uygulaması, EDTA uygulaması ve ozon uygulaması gösterilebilir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda genelde olumlu sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir. Literatürde bifosfonat ilaç kullanan bireylerde nekrotik kemikle karşılaşmamak için veya var olan nekrozları önlemek için tam net bir tedavi protokolü bulunmamaktadır. Bu durum optimum tedavi sağlayabilecek yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmaktadır. Biz de daha önce ozonun farklı dozlarının bifosfonat kullanımında etkileri üzerine herhangi bir araştırmanın olmaması dolayısıyla bu çalışmayı planladık. Bu özelliği yönünden yaptığımız çalışma literatürde ilk olma özelliği taşımaktadır.

Günümüzde hala bifosfonat grubu ilaçların kemik üzerinde meydana getirdiği nekrotik etkilerin mekanizması tam olarak aydınlığa kavuşmamıştır. Oluşan nekrozların fizyopatolojisinin tam olarak anlaşılması, kemik nekrozları oluşmadan önlenmesi ve bu problem meydana geldiğinde tedavi edilebilmesi için birçok bilimsel çalışma yapılmıştır. Bu doğrultuda BRONJ çalışma modeli oluşturmak için hayvan çalışması ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Birçok araştırmacı farklı hayvan çalışma modellerinde BRONJ üzerine araştırmalar ortaya koymuştur. Araştırmacılar çalışmalarında daha çok domuz, köpek, fare ve rat kullanmışlardır (Möller ve ark., 2014; Pura ve ark., 2016; Allen ve ark., 2017; Otto ve ark., 2017; Bereket ve ark.,2018; Zandi ve ark., 2018; Cha ve ark., 2018; Nakagawa ve ark., 2018; Kuroshima ve ark., 2018; Boletle ve ark., 2019)

Biz de çalışmamızda ratlarda görülen iyileşme paterninin insana yakın olması, kolay ulaşılabilirliği, bakım ve tedavi maliyetinin düşük olması nedeniyle çalışmamızda rat tercih ettik.

Bazı araştırmacılar uyguladıkları bu zoledronik asit protokolünden sonra BRONJ lezyonu oluştuğunu bildirmişlerdir (Marino ve ark., 2012; Silva ve ark., 2016). Bazı araştırmacılar ise yaptıkları çalışmalarda bu zoledronik asit uygulama protokolü sonrası herhangi bir BRONJ olgusuyla karşılaşmamışlardır (Şener ve ark., 2013; Bereket ve ark., 2018). Bu bilgiler ışığında yaptığımız çalışmada zoledronik asit alan gruplarda iyileşmenin diğer gruplara göre daha az olması uygulamış olduğumuz zoledronik asitin doz ve uygulama süresinin yeterli olduğunu gösterir niteliktedir. Yaptığımız çalışmada BRONJ olgusuyla karşılaşmamış olmamız uyguladığımız tedavi yönteminin olumlu sonuçları arasında gösterilebilir.

Stereolojik analizler incelenecek preparatın 2 boyutlu kesitleri alınarak 3. boyutu hakkında bilgi edinilmesini sağlayan bir histolojik inceleme yöntemidir. Histolojik incelemelerde karşılaşılan önemli problemlerden biri kesit alma işlemi sırasında oluşan sorunlardır. Stereoloji yönteminde bu problem minimuma indirgenir. Bu yöntemin gerçekleştirilmesinde parçalama ve disektör gibi farklı metodlar kullanılır. Parçalama metoduyla oluşturulan verilerde doku hazırlanması aşamasında oluşabilecek değişimlerden etkilenmeyerek daha objektif sonuçlar elde edilir (Kaplan ve ark., 2012a; Kaplan ve ark., 2012b; Altunkaynak ve ark., 2012).

Stereolojik inceleme yöntemi diğer histolojik analiz yöntemlerine göre daha objektif sonuçlar ortaya koymaktadır. Biz de çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz tedavi dozlarının iyileşme üzerinde etkilerini stereolojik analizlerle inceledik. Daha objektif sonuçlar vermesi ve bu yöntemin üniversitemiz bünyesinde uygulanabiliyor olması nedeniyle çalışmamızda bu yöntemi tercih ettik.

Murphy ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada ozon gazının maymunların akciğerlerindeki seratonin reseptörleri üzerine etkilerini stereolojik yöntemlerle incelemişlerdir. Herring ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada ozon gazının pediatrik maymunlar üzerinde akciğer alveollerinin gelişimi üzerindeki etkilerini stereolojik analizlerle değerlendirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada hava kirliliğine maruz bırakılan farelerin pulmoner amfizem üzerinde ozon gazının etkileri stereolojik yöntemlerle incelenmiştir (March ve ark., 2002).

Yaptığımız çalışmamızda ozon gazının kemik iyileşmesi üzerine etkilerini stereolojik yöntemlerle inceledik. Literatürde ozon gazının dokular üzerindeki etkilerini inceleyen stereolojik çalışmaların sayısı azdır. Bizim çalışmamız bu yönüyle özgün bir değer taşımaktadır.

İşler ve ark. (2018a) periimplantitis tedavisinde ozon uygulamışlardır. Ozonu 2 nokta mezyal taraftan, 2 nokta distal taraftan, 1 nokta bukkal yönden ve 1 nokta lingual yönden olacak şekilde her noktaya 30 sn toplam 180 sn uygulamışlardır. Mostafa ve ark. (2018) liken planus lezyonuyla kliniklerine başvuran hastalarda 60 sn süreyle 4 hafta boyunca haftada 2 kez olacak şekilde topikal ozon uygulamışlardır. Taşdemir ve ark. (2016) maksillada palatinal bölgeden aldıkları gingival greftlere operasyon günü, sonrasındaki 1. ve 3. günlerde olmak üzere her seferinde 30 sn ozon uygulamışlardır. Al-Omiri ve ark. (2016) aftöz stomatit lezyonların tedavisinde 60 sn süreyle topikal ozon uygulamışlar, ağrı ve lezyon çapı açısından iyi sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir. İşler ve ark. (2018b) maksilla palatinal bölgeden elde ettikleri greftlere lazer ve topikal ozon uygulamışlardır. Donör bölgeye 5 farklı noktadan her noktaya 6 sn toplam 30 sn ozon uygulamışlar ve bu uygulamayı ameliyat günü, sonraki 1., 3., 7. Gün toplam 4 kere yapmışlardır. Ozon uygulamasının lazer uygulamasına göre daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Kazancıoğlu ve Erisen (2015) liken planus lezyonu bulunan hastalara steroid ilaçlarla beraber lazer ve ozon uygulamasında bulunmuşlardır. Topikal ozon uygulamasını 10 sn süreyle haftada 2 kere 5 hafta boyunca yapmışlardır. Stereoid ilaçlarla beraber ozon uygulamasının lazer uygulamasına göre daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Erdemci ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada diş çekimi gerçekleştirdikleri ratlara sistemik ve topikal ozon uygulaması yapmışlardır. Topikal ozonu diş çekiminin yapıldığı gün ve sonraki 2. günde 30 olarak uygulamışlardır. Elde ettiklere sonuçlara göre sistemik ozon uygulaması daha iyi sonuçlar vermektedir. Kazancıoğlu ve ark. (2014a) gömülü 3. Molar diş çekimi sonrası ağrı, ödem, trismus üzerine ozon ve lazerin etkilerini inceledikleri çalışmalarında ozonu diş çekiminin yapıldığı gün, sonraki 1., 3. Ve 7. günlerde 10 sn olacak şekilde uygulamışlardır. Ozon ve lazerin etkilerinin ağrı üzerinde olumlu sonuçları olduğunu, ödem ve trismus açısından lazerin daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Bayer ve ark. (2017) oral mukozitis lezyonlarında 120 sn 5 gün boyunca topikal ozon uygulaması yapmışlar ve iyileşme üzerinde olumlu sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Kazancıoğlu ve ark. (2014b) gömülü 3. molar dişlerin çekimi sonrası 120 sn topikal ozon uygulayarak operasyon sonrası ağrı, şişlik ve trismus üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Buldukları sonuçlara göre ozon uygulamasının ağrıyı azalttığını fakat şişlik ve trismus üzerinde etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Literatürde topikal ozon uygulaması ile ilgili kesin ve geçerli bir uygulama dozu bulunmamaktadır. Yazarlar birbirinden çok farklı topikal ozon uygulama süreleri bildirmişlerdir. Bu süreler 10sn den 360 sn ye kadar farklılık içermektedir. Kısa süreli ozon uygulama süreleri ile ilgili literatürler daha çok gözlemsel nitelikte olup lezyonun iyileşmesi veya ağrı, trismus, ödem gibi bulguların azalması yönündedir. Uzun süreli ozon uygulaması ile ilgili literatürler ise daha çok histolojik sonuçlarla bulgularını desteklemektedir. Biz de bu analizler ışığında çalışmamızda 120sn, 180sn ve 300sn olacak şekilde ozon uygulama dozlarını belirledik. Ayrıca literatürde ozon uygulama süreleri ile ilgili kıyaslamaların yapıldığı çok fazla çalışma olmaması bizim çalışmamızı özgün kılmaktadır.

Kazancıoğlu ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada ratların kalvaryalarında oluşturdukları defektlere ozon ve lazer uygulayarak iyileşme üzerine etkilerini incelemişlerdir. Ozon uygulaması 120 sn cerrahi işlemin yapıldığı günde dahil olmak üzere haftada 3 kere 2 hafta boyunca olacak şekildedir. Buldukları sonuçlara göre etkileri birbirine yakın olmak üzere ozon uygulanan grupta lazer uygulanan gruba göre iyileşme daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Özdemir ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada oluşturdukları karvial defektlerde greft ve topikal ozonla beraber greft uygulaması yapmışlardır. Ozon uygulama dozu 30 sn süreyle cerrahi günü de dahil olmak üzere 2 hafta boyunca haftada 3 kez olacak şekildedir. Graft ile topikal ozon uygulamasının diğer gruplara göre daha iyi iyileşme sağladığını bildirmişlerdir. Yücesoy ve ark. (2017) mental sinir yaralanmaları üzerine yaptıkları çalışmada 60 sn süreyle 3 günde 1 toplam 7 kere topikal ozon uygulamasında bulunmuşlardır. Ozon uygulamasının sinir rejenerasyonuna olumlu etkileri olduğunu bildirmişlerdir.

Topikal ozon uygulama süreci ile ilgili literatürler incelendiğinde tek sefer uygulamadan 5 hafta boyuncaya kadar çok farklı uygulama süreçleri mevcuttur. Yaptığımız literatür incelemeleri sonucunda en fazla uygulama süreci cerrahi işleminde gerçekleştirildiği gün dahil haftada 3 kere 2 hafta boyunca olacak şekildedir. Yukarıda

bahsedildiği gibi biz de yaptığımız çalışmamızda daha fazla literatür ile uyumlu olması açısından ozon uygulama sürecini bu şekilde belirledik.

Kotze ve ark. (2014) beş sağlıklı maymun üzerinde yaptıkları bir çalışmada oluşturdukları kemik defektine cerrahi sonrası 1 kere olmak üzere 60sn topikal ozon uygulaması yapmışlardır. 3. ve 6. haftalarda aldıkları radyolojik görüntüleri gri skala ile incelemişlerdir. Buldukları sonuçlara göre ozon uygulaması sonrası oluşan yeni kemiğin radyolojik görüntüleri arasında fark bulunamamıştır. Bu sonuca göre topikal ozon uygulamasının radyolojik olarak yeni kemik oluşumunda önemli bir etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızın bilgisayarlı tomografi ile elde edilen görüntüleme sonuçlarında ortalama kemik yoğunluğu değerleri arasında benzer sonuçlar elde edilmiştir. O300 grubunda elde edilen ortalama kemik yoğunluğu değeri zoledronik asit verilmeyen gruplara göre daha yüksek bulunsada, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Zoledronik asit verilen ve verilmeyen gruplar arasında erken dönem iyileşmede ufak farklılıklar olsa da birbirine yakın şekildedir ve gruplar arası istatistiksel fark anlamlı değildir ($p>0,05$). Elde edilen radyolojik inceleme sonuçları yapmış olduğumuz stereolojik analiz sonuçlarını destekler niteliktedir. Ayrıca yukarıda bahsettiğimiz literatür ile benzer sonuçlar görülmüştür. Zoledronik asit uygulanan ve uygulanmayan deneklerde ozon tedavisinin uzun dönem iyileşme üzerine etkilerinin radyolojik olarak incelendiği çalışmaların yapılmasının gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

Alan ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada ratların femurlarında defekt oluşturmuşlardır. Kontrol grubu, lazer grubu ve ozon grubu olacak şekilde 3 gruba ayırmışlardır. Ozon uygulamasını 30 sn olarak yapmışlardır. Ratların sakrifikasyonunu cerrahi sonrası 4. ve 8. haftalarda gerçekleştirmişlerdir. 4. haftada lazer ve ozon uygulamasının kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu gözlemlemişler fakat gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. 8. haftanın sonunda ise lazer ve ozon gruplarının kontrol grubuna göre belirgin derecede iyileşmeyi olumlu yönde etkilediklerini ve oluşan istatistiksel farkın anlamlı olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda OK ile O180 grupları arasında yeni kemik hacmi açısından fark olmaması bunun yanında yeni bağ dokusu ve yeni damar oluşumu açısından fark

olması O180 grubunda rejenerasyonun devam ettiğine işaret etmektedir. O120 grubunda OK grubuna kıyasla yeni kemik hacmi miktarının beklenen seviyelerin altında olması ayrıca yeni bağ doku miktarının OK grubuna göre bir miktar fazla ölçülmesi (bu fark istatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$) bu grupta da kemik rejenerasyonunun devam ettiğinin göstergesi olarak düşünülebilir. Bu verilerden yola çıkılarak yaptığımız çalışmanın uzun dönem kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin incelendiği yeni çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar yukarıda anlatılan literatürü destekler niteliktedir.

Karaca ve ark. (2018) dental implantların osteointegrasyonu üzerine lazer ve topikal ozon uygulamasının etkilerini inceledikleri çalışmalarında bir gruba lazer uygulaması, diğer gruba 180 sn ozon uygulaması, diğer bir gruba da 360 sn ozon uygulaması yapmışlardır. Topikal ozon uygulamasını cerrahi günü de dahil olmak üzere takip eden sürede 2 hafta boyunca haftada 3 kez olacak şekilde yapmışlardır. Maksimum ozon uygulama dozunun dental implant stabilitesini olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre iyileşmenin ve yeni kemik oluşumunun en fazla olduğu grup O300 grubudur. Ozon uygulama süresinin en fazla olduğu bu grupta diğer bütün gruplara göre en iyi sonuç bulunmuştur. O300 grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında ileri derecede kemik rejenerasyonuna katkı sağlamıştır. Bu sonuç yukarıda bahsedilen çalışmanın sonuçlarıyla benzer niteliktedir.

Agrillo ve ark. (2006) BRONJ şikâyeti ile başvuran cerrahi küretaj planladıkları 30 hastaya operasyondan 1 hafta önce başlayacak şekilde 20 gün boyunca haftada 2 kere 300sn topikal ozon uygulaması yapmışlardır. Uygulanan bu tedavi sonrası hastaların çoğunda şikayetlerin azaldığını bildirmişlerdir. Agrillo ve ark. (2007a) farklı evrelerdeki BRONJ şikâyeti ile başvuran 33 hastaya minör kemik rezeksiyonu ve cerrahiden 10 gün önce başlayarak 20 gün süreyle toplam 8 kere ozon uygulamışlardır. Yaklaşık 7 aylık takibin sonunda 33 hastanın 18'i (% 54) lezyon tamamen iyileşmiş, 10 (% 30) hastada semptomlarda belirgin bir azalma gözlemlenmiş ve kalan 5 (% 16) hastada ise klinik olarak anlamlı bir sonuç gözlemlenmemiştir. Agrillo ve ark. (2012) BRONJ tutulumu bulunan 94 hastaya nekrotik kemik küretajı ve ozon uygulaması yapmışlardır. Ozon uygulama protokolü haftada 2 kere 180sn ve 20 gün süreyle olacak şekildedir. Buldukları sonuçlara göre 57 (% 60) hastada tam iyileşme, 28 (% 30)

hastada lezyonlarda belirgin azalma ve semptomlarda iyileşme ve 9 (% 10) hastada yeterli iyileşmenin gerçekleşmediğini bildirmişlerdir. Yazarlar BRONJ lezyonlarında ozon uygulamasının % 90 oranında hastanın sahip olduğu olumsuz semptomları ortadan kaldırdığını ve BRONJ tedavisinde ozon uygulamalarının literatürdeki en iyi alternatif seçeneklerden biri olduğunu bildirmiştir.

Yukarıdaki literatür bilgileri ile karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda zoledronik asit verilen gruplarda yeni kemik hacmi ve yeni bağ dokusu hacmi ozon uygulama süresi arttıkça azalmaktadır. Bizim bulduğumuz sonuçlara göre yeni kemik hacmi açısından zoledronik asit alan deneklerde ozon uygulamasının sonuçları olumsuz yöndedir. Farklı bir açıdan değerlendirildiğinde yukarıda bahsedilen literatürlerin tamamında BRONJ şikâyeti olan bireylerde ozonun iyileşmesi üzerine etkileri incelenmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada BRONJ oluşumu değil bifosfonat ilaca maruziyet söz konusudur. Klinik olarak da bifosfonat kullanan hastalara yapılan cerrahi girişimler sonrası bütün hastalarda BRONJ oluşmamaktadır. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ışığında erken dönemde zoledronik asit verilen deneklerde ozon tedavisinin etkileri negatif yöndedir.

Kontrol grupları kendi aralarında kıyaslandığında ZK grubunda OK grubuna göre daha fazla yeni kemik hacmi hesaplanmaktadır. Bu durum ZK grubunda kemik rejenerasyonunun devam etmekte olduğunu ve kemik matürasyonunun OK grubundaki kadar gerçekleşmediği şeklinde yorumlanabilir. Bunun yanında ZK grubunda yeni damar ve yeni bağ doku hacmi miktarlarının OK grubuna göre daha yüksek olması ZK grubunda matürasyon sürecinin devam ettiği görüşünü destekler niteliktedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu deneysel çalışmada zoledronik asit uygulanan ve uygulanmayan deneklerde topikal ozon tedavisinin farklı dozlarının diş çekim soketi iyileşmesi üzerine etkileri stereolojik ve radyolojik yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir.

2. Literatürde bifosfonata ilaç kullanımına bağlı BRONJ gelişmesi üzerine ozon uygulamaları ile ilgili klinik çalışmalar gözlemlere dayanmaktadır. Deneysel uygulamaların yapıldığı ve ozonun farklı uygulama sürelerinin test edildiği bir çalışma henüz bulunmamaktadır.

3. Literatürde bifosfonat ilaç kullanımı ile ilgili birçok deneysel model ortaya konmuştur. Bu modellerin bazılarında BRONJ geliştiği bazılarında ise BRONJ gelişmediği iddia edilmiştir. Klinikte zoledronik asit uygulamaları kemikte değişikliklere neden olmasına rağmen her zaman BRONJ gelişimi ile sonuçlanmadığı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu deney modelinde de uzun süreli zoledronik kullanıma rağmen klinik olarak ekspozite kemik nekrozları gözlemlenmemiştir. Ancak zoledronik asitin kemik iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri deneysel olarak ortaya konmuştur. Bu nedenle uzun süreli bifosfonat kullanımına bağlı kemik dokusu hasarlarının inceleneceği deney modellerinde bu deney modelinin kullanımı elverişli bir yöntemdir.

4. Çalışmamızın stereolojik analizlerinde zoledronik asit verilmeyen deneklerde ozon uygulamasının yara iyileşmesine olumlu katkılar sağladığı görülmüştür. Ozon uygulama süresi arttıkça yara iyileşmesi üzerine pozitif etkilerinin anlamlı bir şekilde arttığı da görülmüştür. Bu sonuçlar literatürle uyumludur.

5. Stereoloji sonuçlarına göre OK ve ZK grupları yeni kemik hacmi miktarı açısından karşılaştırıldığında ZK grubunda kemik hacmi daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca yeni bağ doku ve yeni damar yönünden ZK grubunun OK grubuna göre yüksek olması, ZK grubunda kemik matürasyonunun devam ettiğini göstermektedir. Zoledronik asit kullanımının deneklerde kemik matürasyonunu ve rejenerasyonunu yavaşlattığı sonucuna varılabilir.

6. O120 grubunda OK grubuna göre yeni kemik miktarının beklenen seviyelerin altında olması ve O120 grubunda OK grubuna göre bağ doku miktarının bir miktar fazla ölçülmesi O120 grubunda kemik rejenerasyonun devam ettiğini düşündürür. Ayrıca O180 grubu ile OK grubu arasında yeni kemik hacmi miktarı

açısından fark olmaması, O180 grubunda OK grubuna göre yeni bağ doku ve yeni damar hacmi miktarlarının yüksek olması bu grupta iyileşmenin devam ettiğini gösterir.

7. Stereolojik incelemelerde zoledronik asit verilen ratlarda ozon uygulama süresi arttıkça erken dönem kemik iyileşmesi üzerinde negatif yönde etkili olduğu görülmüştür.

8. Radyolojik incelemelerde O300 grubunda oluşan HU değeri zoledronik asit verilmeyen gruplar içinde en yüksek bulunmuştur. Bu sonuç histolojik bulguları destekler niteliktedir. Tüm gruplar karşılaştırıldığında zoledronik asit verilen ve ozon uygulanan gruplarda HU değeri nispeten yüksek çıksada anlamlı bir fark görülmemiştir.

9. Yukarıdaki sonuçlar ışığında erken dönem etkilerinin uzun dönemde de hangi yönde ilerleyeceğini test etmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca farklı radyolojik inceleme yöntemleri (mikro CT gibi) kullanılarak yapılacak çalışmalarında önemli katkıları olacaktır.

Bu deneysel çalışmada uzun süreli zoledronik asit verilen deneklerde ozonun farklı dozlarının yara iyileşmesi üzerine etkileri zoledronik asit verilmeyen gruplarla test edilmiştir. Ancak bu sonuçlar erken dönem yara iyileşmesi verilerini içermektedir. Erken dönemde ozon tedavisi zoledronik asit verilmeyen gruplarda doza bağlı olarak olumlu etkiler gösterirken zoledronik asit verilen gruplarda olumsuz sonuçlar göstermiştir. Bu sonuçların geç dönem incelemelerinde ne yönde çıkacağı meçhüldür. Bir diğer konu doz sayısının artırılması veya klinikteki gözlemlerdeki gibi uzun süreler uygulanmasının bu süreçleri nasıl etkileyeceği karşımıza yeni soru işaretleri çıkarmaktadır. Bu nedenle bu alanda farklı doz parametrelerini, farklı zaman dilimlerini, farklı inceleme yöntemlerini içerecek yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Adami S, Zamberlan N. Adverse effects of bisphosphonates. A comparative review. *Drug Saf* 1996;14(3):158-170.
- Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, Shoff M, Ronconi M, Gotcher JE, Bezouglaia O, Dry SM, Tetradis S. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J Bone Miner Res* 2011;26(8):1871-1882.
- Agrillo A, Filiaci F, Ramieri V, Riccardi E, Quarato D, Rinna C, Gennaro P, Cascino F, Mitro V, Ungari C. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): 5 year experience in the treatment of 131 cases with ozone therapy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012;16(12):1741-1747.
- Agrillo A, Petrucci MT, Tedaldi M, Mustazza MC, Marino SM, Gallucci C, Iannetti G. New therapeutic protocol in the treatment of avascular necrosis of the jaws. *J Craniofac Surg* 2006;17(6):1080-1083.
- Agrillo A, Sassano P, Rinna C, Priore P, Iannetti G. Ozone therapy in extractive surgery on patients treated with bisphosphonates. *J Craniofac Surg* 2007;18(5):1068-1070.
- Agrillo A, Ungari C, Filiaci F, Priore P, Iannetti G. Ozone therapy in the treatment of avascular bisphosphonate-related jaw osteonecrosis. *J Craniofac Surg* 2007;18(5):1071-1075.
- Alan H, Vardi N, Özgür C, Acar AH, Yolcu Ü, Doğan DO. Comparison of the effects of low-level laser therapy and ozone therapy on bone healing. *J Craniofac Surg* 2015;26(5):396-400.
- Allen MR, McNerny E, Aref M, Organ JM, Newman CL, McGowan B, Jang T, Burr DB, Brown DM, Hammond M, Territo PR, Lin C, Persohn S, Jiang L, Riley AA, McCarthy BP, Hutchins GD, Wallace JM. Effects of combination treatment with alendronate and raloxifene on skeletal properties in a beagle dog model. *PLoS One* 2017;12(8):175-181.
- Al-Omiri MK, Alhijawi M, AlZarea BK, Abul Hassan RS, Lynch E. Ozone treatment of recurrent aphthous stomatitis: a double blinded study. *Sci Rep* 2016;15(6):72-77.
- Altunkaynak BZ, Onger ME, Altunkaynak ME, Ayranci E, Canan SA. Brief introduction to stereology and sampling strategies: basic concepts of stereology. *Neuroquantology* 2012;10(1):31-43.
- American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65(3):369-376.

- Amin D, Cornell SA, Gustafson SK, Needle SJ, Ullrich JW, Bilder GE, Perrone MH. Bisphosphonates used for the treatment of bone disorders inhibit squalene synthase and cholesterol biosynthesis. *J Lipid Res* 1992;33(11):1657-1663.
- Amin D, Cornell SA, Perrone MH, Bilder GE. 1-Hydroxy-3-(methylpentylamino)-propylidene-1,1-bisphosphonic acid as a potent inhibitor of squalene synthase. *Arzneimittelforschung* 1996;46(8):759-762.
- Anderson G, Gries M, Kurihara N, Honjo T, Anderson J, Donnenberg V, Donnenberg A, Ghobrial I, Mapara MY, Stirling D, Roodman D, Lentzsch S. Thalidomide derivative CC-4047 inhibits osteoclast formation by down-regulation of PU.1. *Blood* 2006;107(8):3098-3105.
- Anitua E, Begoña L, Orive G. Treatment of hemimandibular paresthesia in a patient with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) by combining surgical resection and PRGF-Endoret. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2013;51(8):272-274.
- Anstead GM. Steroids, retinoids, and wound healing. *Adv Wound Care*. 1998;11(6):277-285.
- Arita M, Nagayoshi M, Fukuizumi T, Okinaga T, Masumi S, Morikawa M, et al. Microbicidal efficacy of ozonated water against candida albicans adhering to acrylic denture plates. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20:206-210.
- Arsalane K, Gosset P, Vanhee D, Voisin C, Hamid Q, Tonnel AB. Ozone stimulates synthesis of inflammatory cytokines by alveolar macrophages in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;13:60-68.
- Aviles RJ, Martin DO, Apperson-Hansen C, Houghtaling PL, Rautaharju P, Kronmal RA, Tracy RP, Van Wagoner DR, Psaty BM, Lauer MS, Chung MK. Inflammation as a risk factor for atrial fibrillation. *Circulation* 2003;108(24):3006-3010.
- Ayello EA, Thomas DR, Litchford MA. Nutritional aspects of wound healing. *Home Healthc Nurse*. 1999;17(11):719-729.
- Azarpazpooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent* 2008;36:104-116.
- Badros A, Weikel D, Salama A, Goloubeva O, Schneider A, Rapoport A, Fenton R, Gahres N, Sausville E, Ord R, Meiller T. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. *J Clin Oncol* 2006;24(6):945-952.
- Badwal RS, Bennett J. Nutritional considerations in the surgical patient. *Dent Clin North Am* 2003;47(2):373-393.

- Bagan JV, Jimenez Y, Gomez D, Sirera R, Poveda R, Scully C. Collagen telopeptide (serum CTX) and its relationship with the size and number of lesions in osteonecrosis of the jaws in cancer patients on intravenous bisphosphonates. *Oral Oncology* 2008;44:1088-1089.
- Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Moulopoulos LA, Melakopoulos I, Bozas G, Koutsoukou V, Gika D, Anagnostopoulos A, Papadimitriou C, Terpos E, Dimopoulos MA. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *J Clin Oncol* 2005;23:8580-8587.
- Bassi P, Sbrascini S, Mattassi R, D'Angelo F, Franchina A. Ozone in the treatment of herpes zoster. *Riv Neurobiol* 1982;28:328-333.
- Bauss F, Pfister T, Papapoulos S. Ibandronate uptake in the jaw is similar to long bones and vertebrae in the rat. *Journal of Bone Mineral Metabolism* 2008;26:406-408.
- Bayer S, Kazancioglu HO, Acar AH, Demirtas N, Kandas NO. Comparison of laser and ozone treatments on oral mucositis in an experimental model. *Lasers Med Sci* 2017;32(3):673-677.
- Bayram H, Sapsford RJ, Abdelaziz MM, Khair OA. Effect of ozone and nitrogen dioxide on the release of proinflammatory mediators from bronchial epithelial cells of nonatopic nonasthmatic subjects and atopic asthmatic patients in vitro. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:287-294.
- Baysan A, Whiley RA, Lynch E. Antimicrobial effect of a novel ozone- generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro. *Caries Res* 2000;34(6):498-501.
- Baysan A, Lynch E. The use of ozone in dentistry and medicine. *Prim Dent Care* 2005;12(2):47-52.
- Baysan A, Lynch E. The use of ozone in dentistry and medicine. Part 2. Ozone and root caries. *Prim Dent Care* 2006;13(1):37-41.
- Baysan A, Lynch E. Clinical reversal of root caries using ozone: 6-month results. *Am J Dent* 2007;20(4):203-208.
- Bereket C, Sener I, Cakir-Özkan N, Önger ME, Polat AV. Beneficial Therapeutic Effects of Sildenafil on Bone Healing in Animals Treated with Bisphosphonate. *Niger J Clin Pract* 2018;21(2): 217-224.
- Berenson JR, Hillner BE, Kyle RA, Anderson K, Lipton A, Yee GC, Biermann JS; American Society of Clinical Oncology Bisphosphonates Expert Panel. American Society of Clinical Oncology clinical practice guidelines: the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2002;20(17):3719-3736.

- Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, Moimas S, Dore F, Pozzato G, Cavalli F, Zanconati F, Contardo L, Giacca M, Di Lenarda R. A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *J Oral Pathol Med* 2010;39(5):390-396.
- Bisdas S, Chambron Pinho N, Smolarz A, Sader R, Vogl TJ, Mack MG. Biphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: CT and MRI spectrum of findings in 32 patients. *Clin Radiol* 2008;63(1):71-77.
- 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, 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.
- Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, Cosman F, Lakatos P, Leung PC, Man Z, Mautalen C, Mesenbrink P, Hu H, Caminis J, Tong K, Rosario-Jansen T, Krasnow J, Hue TF, Sellmeyer D, Eriksen EF, Cummings SR; HORIZON Pivotal Fracture Trial. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2007;356(18):1809-1822.
- Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Silvestri S. Studies on the biological effects of ozone: 6. Production of transforming growth factor 1 by human blood after ozone treatment. *J Biol Regul Homeost Agents* 1994;8:108-112.
- Bocci V. The case for oxygen-ozone therapy. *Br J Biomed Sci* 2007;64:44-49.
- Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res* 2006;37:425-435.
- Bolette A, Lecloux G, Rompen E, Albert A, Kerckhofs G, Lambert F. Influence of induced infection in medication-related osteonecrosis of the jaw development after tooth extraction: A study in rats. *J Craniomaxillofac Surg* 2019;47(2):349-356.
- Bone HG, Hosking D, Devogelaer JP, Tucci JR, Emkey RD, Tonino RP, Rodriguez-Portales JA, Downs RW, Gupta J, Santora AC, Liberman UA; Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2004;350(12):1189-1199.
- Boonekamp PM, Löwik CW, van der Wee-Pals LJ, van Wijk-van Lennep ML, Bijvoet OL. Enhancement of the inhibitory action of APD on the transformation of osteoclast precursors into resorbing cells after dimethylation of the amino group. *Bone Miner* 1987;2(1):29-42.
- Boonekamp PM, van der Wee-Pals LJ, van Wijk-van Lennep MM, Thesing CW, Bijvoet OL. Two modes of action of bisphosphonates on osteoclastic resorption of mineralized matrix. *Bone Miner* 1986;1(1):27-39.

- Boos CJ, Anderson RA, Lip GY. Is atrial fibrillation an inflammatory disorder? *Eur Heart J* 2006;27(2):136-149.
- Bounameaux HM, Schifferli J, Montani JP, Jung A, Chatelanat F. Renal failure associated with intravenous diphosphonates. *Lancet* 1983;1(8322):471.
- Bowler PG. The 10(5) bacterial growth guideline: reassessing its clinical relevance in wound healing. *Ostomy Wound Manage* 2003;49(1):44-53.
- Bowler PG. Wound pathophysiology, infection and therapeutic options. *Ann Med* 2002;34(6):419-427.
- Braun-Falco M. Gene therapy concepts for promoting wound healing. *Hautarzt* 2002;53(4):238-243.
- Burleson GR, Murray TM, Pollard M. Inactivation of viruses and bacteria by ozone, with and without sonication. *Appl Microbiol* 1975;29:340-344.
- Burns JL, Mancoll JS, Phillips LG. Impairments to wound healing. *Clin Plast Surg* 2003;30(1):47-56.
- Cackowski FC, Anderson JL, Patrene KD, Choksi RJ, Shapiro SD, Windle JJ, Blair HC, Roodman GD. Osteoclasts are important for bone angiogenesis. *Blood* 2010;115(1):140-149.
- Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone. *Curr Osteoporos Rep* 2005;3(3):98-102.
- Canan S, Şahin B, Odacı E, Bünyami Ü, Aslan H, Bilgiç S, Kaplan S. Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem: Cavalieri prensibi. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 2002;22(1):7-14.
- Carano A, Teitelbaum SL, Konsek JD, Schlesinger PH, Blair HC. Bisphosphonates directly inhibit the bone resorption activity of isolated avian osteoclasts in vitro. *J Clin Invest* 1990;85(2):456-461.
- Cartwright A. Nutritional assessment as part of wound management. *Nurs Times* 2002;98(44):62-63.
- Celiberti P, Pazera P, Lussi A. The impact of ozone treatment on enamel physical properties. *Am J Dent* 2006;19(1):67-72.
- Cella L, Oppici A, Arbasi MC, Moretto M, Piepoli M, Vallisa D, Zangrandi A, Di Nunzio C, Cavanna L. Autologous bone marrow stem cell intralesional transplantation repairing bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw. *Head & Face Medicine* 2011;17(7):16.

- Cha JK, Sun YK, Kim MJ, Sanz M, Jung UW. Anti-resorptive effect of pamidronate on extraction socket wall in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2018;29(7):688-696.
- Cho HY, Zhang LY, Kleeberger SR. Ozone-induced lung inflammation and hyperreactivity are mediated via tumor necrosis factor-alpha receptors. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280:537-546.
- Clark EA, King WG, Brugge JS, Symons M, Hynes RO. Integrin-mediated signals regulated by members of the rho family of GTPases. *J Cell Biol* 1998;142(2):573-586.
- Clark RA. Biology of dermal wound repair. *Dermatol Clin* 1993;11(4):647-666.
- Clavo B, Santana-Rodríguez N, Llontop P, Gutiérrez D, Suárez G, López L, Rovira G, Martínez-Sánchez G, González E, Jorge IJ, Perera C, Blanco J, Rodríguez-Esparragón F. Ozone Therapy as Adjuvant for Cancer Treatment: Is Further Research Warranted? *Evid Based Complement Alternat Med* 2018;9:793-849.
- Collins N. The difference between albumin and prealbumin. *Adv Skin Wound Care* 2001;14(5):235-236.
- Colucci S, Minielli V, Zambonin G, Cirulli N, Mori G, Serra M, Patella V, Zambonin Zallone A, Grano M. Alendronate reduces adhesion of human osteoclast-like cells to bone and bone protein-coated surfaces. *Calcif Tissue Int* 1998;63(3):230-235.
- Conte P, Guarneri V. Safety of intravenous and oral bisphosphonates and compliance with dosing regimens. *Oncologist* 2004;9(4):28-37.
- Cummings SR, Schwartz AV, Black DM. Alendronate and atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2007;356(18):1895-1896.
- Davis PA, Corless DJ, Gazzard BG, Wastell C. Increased risk of wound complications and poor healing following laparotomy in HIV-seropositive and AIDS patients. *Dig Surg* 1999;16(1):60-67.
- Dähnhardt JE, Jaeggi T, Lussi A. Treating open carious lesions in anxious children with ozone. A prospective controlled clinical study. *Am J Dent* 2006;19(5):267-270.
- de Groen PC, Lubbe DF, Hirsch LJ, Daifotis A, Stephenson W, Freedholm D, Pryor-Tillotson S, Seleznick MJ, Pinkas H, Wang KK. Esophagitis associated with the use of alendronate. *N Engl J Med* 1996;335(14):1016-1021.
- Demerjian N, Bolla G, Spreux A. Severe oral ulcerations induced by alendronate. *Clin Rheumatol* 1999;18(4):349-350.

- Dicuonzo G, Vincenzi B, Santini D, Avvisati G, Rocci L, Battistoni F, Gavasci M, Borzomati D, Coppola R, 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.
- Diel IJ, Fogelman I, Al-Nawas B, Hoffmeister B, Migliorati C, Gligorov J, Väänänen K, Pylkkänen L, Pecherstorfer M, Aapro MS. Pathophysiology, risk factors and management of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: Is there a diverse relationship of amino- and non-aminobisphosphonates? *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;64(3):198-207.
- Diel IJ, Solomayer EF, Bastert G. Bisphosphonates and the prevention of metastasis: first evidences from preclinical and clinical studies. *Cancer*. 2000;88(12):3080-3088.
- Dimopoulos MA, Kastiris E, Anagnostopoulos A, Melakopoulos I, Gika D, Mouloupoulos LA, Bamia C, Terpos E, Tsionos K, Bamias A. Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates: evidence of increased risk after treatment with zoledronic acid. *Haematologica* 2006;91(7):968-971.
- Dimopoulos MA, Kastiris E, Mouloupoulos LA, Melakopoulos I, Anagnostopoulos A, Gika D, Bozas G, Koutsoukou V, Bamias A. The Incidence of Osteonecrosis of the Jaw (ONJ) in Patients with Multiple Myeloma Who Receive Biphosphonates Depends on the Type of Biphosphonate. 2005;106: 637.
- Dixit K, Gurtu A, Pandey R. Role of Ozone in Conservative Dentistry and Endodontics – A Review. *Journal of Dental Sciences & Oral Rehabilitation*. 2013; 1-3.
- Dunstan CR, Felsenberg D, Seibel MJ. Therapy insight: the risks and benefits of bisphosphonates for the treatment of tumor-induced bone disease. *Nat Clin Pract Oncol* 2007;4(1):42-55.
- Ebensberger U, Pohl Y, Filippi A. PCNA expression of cementoblasts and fibroblasts on the root surface after extraoral rinsing for decontamination. *Dent Traumatol* 2002;18:262-266.
- Erdemci F, Gunaydin Y, Sencimen M, Bassorgun I, Ozler M, Oter S, Gulses A, Gunal A, Sezgin S, Bayar GR, Dogan N, Gider IK. Histomorphometric evaluation of the effect of systemic and topical ozone on alveolar bone healing following tooth extraction in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014;43(6):777-783.
- Eroglu ZT, Kurtis B, Altug HA, Sahin S, Tuter G, Baris E. Effect of topical ozonotherapy on gingival wound healing in pigs: histological and immunohistochemical analysis. *J Appl Oral Sci* 2018;10(27):1-11

- Estrela C, Estrela CR, Decurcio Dde A, Silva JA, Bammann LL. Antimicrobial potential of ozone in an ultrasonic cleaning system against *Staphylococcus aureus*. *Braz Dent J* 2006;17:134-138.
- Ezra A, Golomb G. Administration routes and delivery systems of bisphosphonates for the treatment of bone resorption. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;42(3):175-195.
- Fast DK, Felix R, Dowse C, Neuman WF, Fleisch H. The effects of diphosphonates on the growth and glycolysis of connective-tissue cells in culture. *Biochem J* 1978;15:172(1):97-107.
- Felsenberg D, Hoffmeister B. Bisphosphonattherapie assoziierte Kiefernekrosen *Deutsches Arzteblatt* 2006;46:3078-3080.
- Fernando de Almeida Barros Mourão C, Calasans-Maia MD, Del Fabbro M, Le Drapper Vieira F, Coutinho de Mello Machado R, Capella R, Miron RJ, Gomes Alves G. The use of Platelet-rich Fibrin in the management of medication-related osteonecrosis of the jaw: A case series. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 2019;20:24-28.
- Ficarra G, Beninati F, Rubino I, Vannucchi A, Longo G, Tonelli P, Pini Prato G. Osteonecrosis of the jaws in periodontal patients with a history of bisphosphonates treatment. *J Clin Periodontol* 2005;32(11):1123-1128.
- Fish E. Apparatus for the Production and Use of Ozone in Therapeutics. United States Patent 1936;2:54.
- Flanagan AM, Chambers TJ. Inhibition of bone resorption by bisphosphonates: interactions between bisphosphonates, osteoclasts, and bone. *Calcif Tissue Int* 1991;49(6):407-415.
- Fleisch H, Russell RG, Bisaz S, Casey PA, Mühlbauer RC. The influence of pyrophosphate analogues (diphosphonates) on the precipitation and dissolution. *Calcif Tissue Res* 1968;10:10
- Fleisch H, Russell RG, Francis MD. Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science* 1969;165(3899):1262-1264.
- Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev* 1998;19(1):80-100.
- Fleisher KE, Welch G, Kottal S, Craig RG, Saxena D, Glickman RS. Predicting risk for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: CTX versus radiographic markers. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 2010;110(4): 509-516.
- Fliefel R, Tröltzsch M, Kühnisch J, Ehrenfeld M, Otto S. Treatment strategies and outcomes of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) with

- characterization of patients: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2015;44(5):568-585.
- Fournier P, Boissier S, Filleur S, Guglielmi J, Cabon F, Colombel M, Clézardin 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.
- Francis MD, Russell RG, Fleisch H. Diphosphonates inhibit formation of calcium phosphate crystals in vitro and pathological calcification in vivo. *Science* 1969;165(3899):1264-1266.
- Frith JC, Mönkkönen J, Auriola S, Mönkkönen H, Rogers MJ. The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption and causes osteoclast and macrophage apoptosis. *Arthritis Rheum* 2001;44(9):2201-2210.
- Froelich K, Radeloff A, Köhler C, Mlynski R, Müller J, Hagen R, Kleinsasser NH. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the external ear canal: a retrospective study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011;268(8):1219-1225.
- Frost HM. A brief review for orthopedic surgeons: fatigue damage (microdamage) in bone (its determinants and clinical implications). *J Orthop Sci* 1998;3(5):272-281.
- Frost HM. From Wolff's law to the Utah paradigm: insights about bone physiology and its clinical applications. *Anat Rec* 2001;262(4):398-419.
- Fusco V, Porta C, Saia G, Paglino C, Bettini G, Scoletta M, Bonacina R, Vescovi P, Merigo E, Lo Re G, Guglielmini P, Di Fede O, Campisi G, Bedogni A. Osteonecrosis of the Jaw in Patients With Metastatic Renal Cell Cancer Treated With Bisphosphonates and Targeted Agents: Results of an Italian Multicenter Study and Review of the Literature. *Clin Genitourin Cancer* 2015;13(4):287-294.
- Gebhard KL, Maibach HI. Relationship Between Systemic Corticosteroids and Osteonecrosis. *American Journal of Clinical Dermatology* 2001;2:377-388.
- Gertz BJ, Holland SD, Kline WF, Matuszewski BK, Freeman A, Quan H, Lasseter KC, Mucklow JC, Porras AG. Studies of the oral bioavailability of alendronate. *Clin Pharmacol Ther* 1995;58(3):288-298.
- Gibbs JB, Oliff A. The potential of farnesyltransferase inhibitors as cancer chemotherapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997;37:143-166.
- Goodson WH III, Hunt TK. Wound healing in well-controlled diabetic men. *Surg Forum* 1984;35:614-616.

- Gottrup F. Oxygen, wound healing and the development of infection. Present status. *Eur J Surg* 2002;168:260–263.
- Grootveld M, Silwood CJ, Lynch E. High resolution ¹H NMR investigations of the oxidative consumption of salivary biomolecules by ozone: Relevance to the therapeutic applications of this agent in clinical dentistry. *Biofactors* 2006;27:5-18.
- Guenther HL, Guenther HE, Fleisch H. Effects of 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonate and dichloromethanediphosphonate on rabbit articular chondrocytes in culture. *Biochem J* 1979;184(2):203-214.
- Gupta G, Mansi B. ozone therapy in periodontics. *Journal of medicine and life* 2012;5:59-67.
- Gupta S, Deepa D. Applications of ozone therapy in dentistry. *J Oral Res Rev* 2016;8:86-91.
- Hackam DJ, Ford HR. Cellular, biochemical, and clinical aspects of wound healing. *Surg Infect (Larchmt)* 2002;3(1):23-35.
- Heckbert SR, Li G, Cummings SR, Smith NL, Psaty BM. Use of alendronate and risk of incident atrial fibrillation in women. *Arch Intern Med* 2008;168(8):826-831.
- Herring MJ, Putney LF, St George JA, Avdalovic MV, Schelegle ES, Miller LA, Hyde DM. Early life exposure to allergen and ozone results in altered development in adolescent rhesus macaque lungs. *Toxicol Appl Pharmacol* 2015;283(1):35-41.
- Hellstein JW, Adler RA, Edwards B, Jacobsen PL, Kalmar JR, Koka S, Migliorati CA, Ristic H; American Dental Association Council on Scientific Affairs Expert Panel on Antiresorptive Agents. Managing the care of patients receiving antiresorptive therapy for prevention and treatment of osteoporosis: executive summary of recommendations from the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *J Am Dent Assoc* 2011;142(11):1243-1251.
- Hewitt RE, Lissina A, Green AE, Slay ES, Price DA, 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.
- Hillner BE, Ingle JN, Chlebowski RT, Gralow J, Yee GC, Janjan NA, Cauley JA, Blumenstein BA, Albain KS, Lipton A, Brown S; American Society of Clinical Oncology. 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.
- Hiroi-Furuya E, Kameda T, Hiura K, Mano H, Miyazawa K, Nakamaru Y, Watanabe-Mano M, Okuda N, Shimada J, Yamamoto Y, Hakeda Y, Kumegawa M.

Etidronate (EHDP) inhibits osteoclastic-bone resorption, promotes apoptosis and disrupts actin rings in isolate-mature osteoclasts. *Calcif Tissue Int* 1999;64(3):219-223.

Hochberg MC, Greenspan S, Wasnich RD, Miller P, Thompson DE, Ross PD. Changes in bone density and turnover explain the reductions in incidence of nonvertebral fractures that occur during treatment with antiresorptive agents. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(4):1586-1592.

Hoff AO, Toth BB, Altundag K, Guarneri V, Adamus A, Nooka AK, Sayegh GG, Jhonson MM, Gagel RF, Hortobagyi GN. Osteonecrosis of the jaw in patients receiving intravenous bisphosphonate therapy. *Journal of Clinical Oncology (Meeting Abstracts)* 2006; 24.

Hoff AO, Toth BB, Altundag K, Johnson MM, Warneke CL, Hu M, Nooka A, Sayegh G, Guarneri V, Desrouleaux K, Cui J, Adamus A, Gagel RF, Hortobagyi GN. Frequency and risk factors associated with osteonecrosis of the jaw in cancer patients treated with intravenous bisphosphonates. *J Bone Miner Res* 2008;23(6):826-836.

Huebsch RF, Hansen LS. A histopathologic study of extraction wounds in dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1969;28(2):187-196.

Hughes DE, MacDonald BR, Russell RG, 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.

Hughes DE, Wright KR, Uy HL, Sasaki A, Yoneda T, Roodman GD, Mundy GR, Boyce BF. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res* 1995;10(10):1478-1487.

Huja SS, Fernandez SA, Phillips C, Li Y. Zoledronic acid decreases bone formation without causing osteocyte death in mice. *Arch Oral Biol* 2009;54(9):851-856.

Hunt TK, Conolly WB, Aronson SB, et al. Anaerobic metabolism and wound healing: a hypothesis for the initiation and cessation of collagen synthesis in wounds. *Am J Surg* 1978;135:328-332.

Hunt TK, Hopf H, Hussain Z. Physiology of wound healing. *Adv Skin Wound Care* 2000;13(2):6-11.

Huth KC, Paschos E, Brand K, Hickel R. Effect of ozone on non-cavitated fissure carious lesions in permanent molars. A controlled prospective clinical study. *Am J Dent* 2005;18(4):223-228.

Huth KC, Jakob FM, Saugel B, Cappello C, Paschos E, Hollweck R, et al. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *Eur J Oral Sci* 2006;114:435-440.

- Huth KC, Quirling M, Maier S, Kamereck K, Alkhayer M, Paschos E, et al. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *Int Endod J* 2009;42:3-13.
- Huth KC, Saugel B, Jakob FM, Cappello C, Quirling M, Paschos E, et al. Effect of aqueous ozone on the NF-kappaB system. *J Dent Res* 2007;86:451-456.
- Isler SC, Uraz A, Guler B, Ozdemir Y, Cula S, Cetiner D. Effects of Laser Photobiomodulation and Ozone Therapy on Palatal Epithelial Wound Healing and Patient Morbidity. *Photomed Laser Surg* 2018a;36(11):571-580.
- Isler SC, Unsal B, Soysal F, Ozcan G, Peker E, Karaca IR. The effects of ozone therapy as an adjunct to the surgical treatment of peri-implantitis. *J Periodontal Implant Sci* 2018b;48(3):136-151.
- Iuliano L, Colavita AR, Leo R, Praticò D, Violi F. Oxygen free radicals and platelet activation. *Free Radic Biol Med* 1997;22:999-1006.
- Jabbour Z, El-Hakim M, Mesbah-Ardakani P, Henderson JE, Albuquerque R Jr. The outcomes of conservative and surgical treatment of stage 2 bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a case series. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2012;41(11):1404-1409.
- Jonsson K, Jensen JA, Goodson WH 3rd, Scheuenstuhl H, West J, Hopf HW, Hunt TK. Tissue oxygenation, anemia, and perfusion in relation to wound healing in surgical patients. *Ann Surg* 1991;214(5):605-613.
- Jung A, Bisaz S, Fleisch H. The binding of pyrophosphate and two diphosphonates by hydroxyapatite crystals. *Calcif Tissue Res* 1973;11(4):269-280.
- Kapitola J, Zák J. Effect of pamidronate on bone blood flow in oophorectomized rats. *Physiol Res* 1998;47(4):237-240.
- Kaplan S, Canan S, Altunkaynak ME, Odaci E, Aslan H, Unal B. Unbiased way to estimate total quantities: the fractionator technique. *Neuroquantology* 2012;10:54-65.
- Kaplan S, Odaci E, Canan S, Onger ME, Aslan H, Unal B. The Disector Counting Technique. *Neuroquantology* 2012;10:44-53.
- Karaca IR, Ergun G, Ozturk DN. Is Low-level laser therapy and gaseous ozone application effective on osseointegration of immediately loaded implants? *Niger J Clin Pract* 2018;21(6):703-710.
- Katsumi H, Nakatani M, Sano J, Abe M, Kusamori K, Kurihara M, Shiota R, Takashima M, Fujita T, Sakane T, Hibi T, Yamamoto A. Absorption and safety of alendronate, a nitrogen-containing bisphosphonate, after intrapulmonary administration in rats. *Int J Pharm* 2010;400(1-2):124-130.

- Katzenelson E, Koerner G, Biedermann N, Peleg M, Shuval HI. Measurement of the inactivation kinetics of poliovirus by ozone in a fast-flow mixer. *Appl Environ Microbiol* 1979;37:715-718.
- Kazancioglu HO, Erisen M. Comparison of Low-Level Laser Therapy versus Ozone Therapy in the Treatment of Oral Lichen Planus. *Ann Dermatol* 2015;27(5):485-491.
- Kazancioglu HO, Ezirganli S, Aydin MS. Effects of laser and ozone therapies on bone healing in the calvarial defects. *J Craniofac Surg* 2013;24(6):2141-2146.
- Kazancioglu HO, Kurklu E, Ezirganli S. Effects of ozone therapy on pain, swelling, and trismus following third molar surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014a;43(5):644-648.
- Kazancioglu HO, Ezirganli S, Demirtas N. Comparison of the influence of ozone and laser therapies on pain, swelling, and trismus following impacted third-molar surgery. *Lasers Med Sci* 2014b;29(4):1313-1319.
- Khamaisi M, Regev E, Yarom N, Avni B, Leitersdorf E, Raz I, Elad S. Possible association between diabetes and bisphosphonate-related jaw osteonecrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(3):1172-1175.
- Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D, Gagel RF, Gilsanz V, Guise T, Koka S, McCauley LK, McGowan J, McKee MD, Mohla S, Pendrys DG, Raisz LG, Ruggiero SL, Shafer DM, Shum L, Silverman SL, Van Poznak CH, Watts N, Woo SB, Shane E; American Society for Bone and Mineral Research. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res* 2007;22(10):1479-1491.
- Kim JW, Kim SJ, Kim MR. Leucocyte-rich and platelet-rich fibrin for the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a prospective feasibility study. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2014;52(9):854-859.
- Kim KM, Park W, Oh SY, Kim HJ, Nam W, Lim SK, Rhee Y, Cha IH. Distinctive role of 6-month teriparatide treatment on intractable bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Osteoporos Int* 2014;25(5):1625-1632.
- Kingsley A. The wound infection continuum and its application to clinical practice. *Ostomy Wound Manage* 2003;49(7):1-7.
- Knight GM, McIntyre JM, Craig GG, Mulyani, Zilm PS. The inability of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* to form a biofilm in vitro on dentine pretreated with ozone. *Aust Dent J* 2008;53(4):349-353.

- Kotze M, Bütow KW, Olorunju SA, Kotze HF. Ozone treatment of alveolar bone in the cape chacma baboon does not enhance healing following trauma. *J Maxillofac Oral Surg* 2014;13(2):140-147.
- Kovach I, Kravchenko L, Khotimska Y, Nazaryan R, Gargin V. Influence of ozone therapy on oral tissue in modeling of chronic recurrent aphthous stomatitis. *Georgian Med News* 2017;(264):115-119.
- Krishnamoorthy L, Morris HL, Harding KG. A dynamic regulator: the role of growth factors in tissue repair. *J Wound Care* 2001;10(4):99-101.
- Krishnan A, Arslanoglu A, Yildirm N, Silbergleit R, Aygun N. Imaging findings of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with emphasis on early magnetic resonance imaging findings. *J Comput Assist Tomogr* 2009;33(2):298-304.
- Krueger JK, Rohrich RJ. Clearing the smoke: the scientific rationale for tobacco abstinence with plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2001;108:1063–1073.
- Kuroshima S, Sasaki M, Nakajima K, Tamaki S, Hayano H, Sawase T. Prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like lesions is increased in a chemotherapeutic dose-dependent manner in mice. *Bone* 2018;112:177-186.
- Kushmakov R, Gandhi J, Seyam O, Jiang W, Joshi G, Smith NL, Khan SA. Ozone therapy for diabetic foot. *Med Gas Res* 2018;8(3):111-115.
- Kwon YD, Kim DY, Ohe JY, Yoo JY, Walter C. Correlation between serum C-Terminal cross-linking telopeptide of type I collagen and staging of oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2009;67:2644-2648.
- Lazarovici TS, Gross SM, Vered I, Pariente C, Kanety H, Givol N, Yahalom R, Taicher S, Yarom N. Serologic bone markers for predicting development of osteonecrosis of the jaw in patients receiving bisphosphonates. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2010;68:2241-2247.
- Ledoux D, Hamma-Kourbali Y, Di Benedetto M, Foucault-Bertaud A, Oudar O, Sainte-Catherine O, Lecouvey M, Kraemer M. A new dimethyl ester bisphosphonate inhibits angiogenesis and growth of human epidermoid carcinoma xenograft in nude mice. *Anticancer Drugs* 2006;17: 479-485.
- Lee CYS, Suzuki JB. CTX biochemical marker of bone metabolism. Is it a reliable predictor of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws after surgery? Part II: A prospective clinical study. *Implant Dentistry* 2010;19(1):29-38.
- Lee JJ, Cheng SJ, Jeng JH, Chiang CP, Lau HP, Kok SH. Successful treatment of advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible with adjunctive teriparatide therapy. *Head and Neck* 2010;33(9):1366-1371.

- Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG, Kogan R. Normal serum bone markers in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics* 2008;106:389-391.
- Lenart BA, Lorich DG, Lane JM. Atypical fractures of the femoral diaphysis in postmenopausal women taking alendronate. *N Engl J Med* 2008;358(12):1304-1306.
- Lenart BA, Neviaser AS, Lyman S, Chang CC, Edobor-Osula F, Steele B, van der Meulen MC, Lorich DG, Lane JM. Association of low-energy femoral fractures with prolonged bisphosphonate use: a case control study. *Osteoporos Int* 2009;20(8):1353-1362.
- Lerner UH, Larsson A. Effects of four bisphosphonates on bone resorption, lysosomal enzyme release, protein synthesis and mitotic activities in mouse calvarial bones in vitro. *Bone* 1987;8(3):179-189.
- Li Q, Qi X, Zhang Z. Intra-articular oxygen-ozone versus hyaluronic acid in knee osteoarthritis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Surg* 2018;58:3-10.
- Liberman UA, Weiss SR, Bröll J, Minne HW, Quan H, Bell NH, Rodriguez-Portales J, Downs RW Jr, Dequeker J, 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.
- Lieberman JR, Daluiski A, Stevenson S, Wu L, McAllister P, Lee YP, Kabo JM, Finerman GA, Berk AJ, Witte ON. The effect of regional gene therapy with bone morphogenetic protein-2-producing bone-marrow cells on the repair of segmental femoral defects in rats. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81(7):905-917.
- Lieberman JR, Le LQ, Wu L, Finerman GA, Berk A, Witte ON, Stevenson S. Regional gene therapy with a BMP-2-producing murine stromal cell line induces heterotopic and orthotopic bone formation in rodents. *J Orthop Res* 1998;16(3):330-339.
- Lin JH. Bisphosphonates: a review of their pharmacokinetic properties. *Bone* 1996;18(2):75-85.
- Lo JC, O'Ryan FS, Gordon NP, Yang J, Hui RL, Martin D, Hutchinson M, Lathon PV, Sanchez G, Silver P, Chandra M, McCloskey CA, Staffa JA, Willy M, Selby JV, Go AS; Predicting Risk of Osteonecrosis of the Jaw with Oral Bisphosphonate Exposure (PROBE) Investigators. Prevalence of osteonecrosis of the jaw in patients with oral bisphosphonate exposure. *J Oral Maxillofac Surg* 2010;68(2):243-253.

- Longo F, Guida A, Aversa C, Pavone E, Di Costanzo G, Ramaglia L, Ionna F. Platelet rich plasma in the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: personal experience and review of the literature. *Int J Dent* 2014;298:94-100.
- Lou J, Xu F, Merkel K, et al. Gene therapy: adenovirus-mediated human bone morphogenetic protein-2 gene transfer induces mesenchymal progenitor cell proliferation and differentiation in vitro and bone formation in vivo. *J Orthop Res* 1999;17:43-50.
- Low SP, Williams KA, Canham LT, Voelcker NH. Evaluation of mammalian cell adhesion on surface-modified porous silicon. *Biomaterials* 2006;27:4538-4546.
- Low SP, Williams KA, Canham LT, Voelcker NH. Generation of reactive oxygen species from porous silicon microparticles in cell culture medium. *J Biomed Mater Res A* 2010;93:1124-1131
- Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Graham R, Russell G, 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.
- Lugassy G, Shaham R, Nemets A, Ben-Dor D, Nahlieli O. Severe osteomyelitis of the jaw in long-term survivors of multiple myeloma: a new clinical entity. *Am J Med* 2004;117(6):440-441.
- Magalhaes FN, Dotta L, Sasse A, Teixeira MJ, Fonoff ET. Ozone therapy as a treatment for low back pain secondary to herniated disc: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pain Physician* 2012;15(2):115-129.
- Magni E, Ferrari M, Hickel R, Huth KC, Ilie N. Effect of ozone gas application on the mechanical properties of dental adhesives bonded to dentin. *Dent Mater* 2008;24(10):1428-1434.
- March TH, Barr EB, Finch GL, Nikula KJ, Seagrave JC. Effects of concurrent ozone exposure on the pathogenesis of cigarette smoke-induced emphysema in B6C3F1 mice. *Inhal Toxicol* 2002;14(12):1187-1213.
- Maresca M, Colao C, Leoncini G. Generation of hydrogen peroxide in resting and activated platelets. *Cell Biochem Funct* 1992;10:79-85.
- Marino KL, Zakhary I, Abdelsayed RA, Carter JA, O'Neill JC, Khashaba RM, Elsalanty M, Stevens MR, Borke JL. Development of a rat model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *J Oral Implantol* 2012;38:511-518.
- Markowitz GS, Fine PL, Stack JI, Kunis CL, Radhakrishnan J, Palecki W, Park J, Nasr SH, Hoh S, Siegel DS, D'Agati VD. Toxic acute tubular necrosis following treatment with zoledronate (Zometa). *Kidney Int* 2003;64(1):281-289.

- Martins MAT, Martins MD, Lascalea CA, Curi MM, Migliorati CA, Tenis CA, Marques MM. Association of laser phototherapy with PRP improves healing of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in cancer patients: A preliminary study. *Oral Oncology* 2011;48(1):79-84.
- Marx R. Oral and intravenous bisphosphonate induced osteonecrosis of the jaws: history, etiology, prevention, and treatment: Chicago 2007; 3
- Marx RE, Cillo JE, Jr., Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65(12):2397-2410.
- Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63(11):1567-1575.
- 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.
- Marx RE. Uncovering the cause of "phossy jaw" Circa 1858 to 1906: oral and maxillofacial surgery closed case files-case closed. *Journal of oral and maxillofacial surgery: official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 2008;66(11):2356-2363.
- Masarachia P, Weinreb M, Balena R, Rodan GA. Comparison of the distribution of 3H-alendronate and 3H-etidronate in rat and mouse bones. *Bone* 1996;19(3):281-290.
- Math VT. Bisphosphonate-Related Osteonecrosis Of The Jaw. University of Minnesota School of Dentistry, Minnesota, PhD. Thesis, 2013; 17.
- Mavrokokki T, Cheng A, Stein B, Goss A. Nature and frequency of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in Australia. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65(3):415-423.
- McCartney-Francis NL, Wahl SM. TGF-beta and macrophages in the rise and fall of inflammation. In: Breit SN, Wahl SM, editors. *TGF-beta and related cytokines in inflammation*. Basel: Birkhauser; 2001; 65-90.
- McKenna DF, Borzabadi-Farahani A, Lynch E. The effect of subgingival ozone and/or hydrogen peroxide on the development of peri-implant mucositis: a double-blind randomized controlled trial. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;28(6):1483-1489.
- McKetta JJ. *Chemical Technology an Encyclopedic Treatment*. Vol. 1. New York: Barnes & Noble, Inc.; 1968; 79.

- Migliorati CA, Schubert MM, Peterson DE, Seneda LM. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bone: an emerging oral complication of supportive cancer therapy. *Cancer* 2005;104(1):83-93.
- Migliorati CA, Siegel MA, Elting LS. Bisphosphonate-associated osteonecrosis: a long-term complication of bisphosphonate treatment. *Lancet Oncol* 2006;7(6):508-514.
- Migliorati CA. Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. *J Clin Oncol* 2003;21(22):4253-4254.
- Miles AE. Phosphorus necrosis of the jaw: 'phossy jaw'. *Br Dent J* 1972;133(5):203-206.
- Miller SC, Jee WS. The effect of dichloromethylene diphosphonate, a pyrophosphate analog, on bone and bone cell structure in the growing rat. *Anat Rec* 1979;193(3):439-462.
- Mostafa B, Zakaria M. Evaluation of Combined Topical Ozone and Steroid Therapy in Management of Oral Lichen Planus. *Open Access Maced J Med Sci* 2018;6(5):879-884
- Möller B, Wiltfang J, Acil Y, Gierloff M, Lippross S, Terheyden H. Prevention of the surface resorption of bone grafts by topical application of bisphosphonate on different carrier materials. *Clin Oral Investig* 2014;18(9):2203-2211.
- Mudd JB, Dawson PJ, Santrock J. Ozone does not react with human erythrocyte membrane lipids. *Arch Biochem Biophys* 1997;341:251-258.
- Mudd JB, Leavitt R, Ongun A, McManus TT. Reaction of ozone with amino acids and proteins. *Atmos Environ* 1969;3:669-682.
- Murakami H, Takahashi N, Sasaki T, Udagawa N, Tanaka S, Nakamura I, Zhang D, Barbier A, Suda T. A possible mechanism of the specific action of bisphosphonates on osteoclasts: tiludronate preferentially affects polarized osteoclasts having ruffled borders. *Bone* 1995;17(2):137-144.
- Murphy SR, Schelegle ES, Miller LA, Hyde DM, Van Winkle LS. Ozone exposure alters serotonin and serotonin receptor expression in the developing lung. *Toxicol Sci* 2013;134(1):168-179.
- Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol* 2004;19:240-246.
- Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod* 2004;30:778-781.

- Nakagawa T, Wakabayashi H, Naito Y, Kato S, Miyamura G, Iino T, Sudo A. The effects of bisphosphonate on pain-related behavior and immunohistochemical analyses in hindlimb-unloaded mice. *J Orthop Sci* 2018;23(6):1063-1069.
- Niesler CU, Ferguson MWJ. TGF-beta superfamily cytokines in wound healing. In: Breit SN, Wahl SM, editors. *TGF-beta and related cytokines in inflammation*. Basel: Birkhauser; 2001; 173–198.
- Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract* 2008;9:75-84.
- Noguchi F, Kitamura C, Nagayoshi M, Chen KK, Terashita M, Nishihara T. Ozonated water improves lipopolysaccharide-induced responses of an odontoblast-like cell line. *J Endod* 2009;35:668-672.
- Oizumi M, Suzuki T, Uchida M, Furuya J, Okamoto Y. In vitro testing of a denture cleaning method using ozone. *J Med Dent Sci* 1998;45:135-139.
- Soler PM, Wright TE, Smith PD, Maggi SP, Hill DP, Ko F, Jimenez PA, Robson MC. In vivo characterization of keratinocyte growth factor-2 as a potential wound healing agent. *Wound Repair Regen* 1999;7(3):172-178.
- Olwin JH, Ratajczak HV, House RV. Successful treatment of herpetic infections by autohemotherapy. *J Altern Complement Med* 1997;3:155-158.
- Onouchi T. A study on the bactericidal action of aqueous solution of O₃ in dentistry. *J Nihon Univ Sch Dent* 1965; 200-208.
- Ott SM. Long-term safety of bisphosphonates. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(3):1897-1899.
- Otto S, Pautke C, Martin Jurado O, Nehrbass D, Stoddart MJ, Ehrenfeld M, Zeiter S. Further development of the MRONJ minipig large animal model. *J Craniomaxillofac Surg*. 2017;45(9):1503-1514.
- Ozdemir H, Toker H, Balcı H, Ozer H. Effect of ozone therapy on autogenous bone graft healing in calvarial defects: a histologic and histometric study in rats. *J Periodontal Res* 2013;48(6):722-726.
- Özalp Ö, Toru HS, Altay MA, Sindel A. Evaluation of the Efficacy of EDTA Chelation on Alveolar Bone Healing After Ultrasonic and Conventional Surgery Under Bisphosphonate Medication: A Rat Model. *J Oral Maxillofac Surg* doi: 10.1016/j.joms.2019.04.011.
- Patel PV, Kumar V, Kumar S et al. Therapeutic effect of topical ozonated oil on the epithelial healing of palatal wound sites: a planimetric and cytological study. *Journal of investigative and clinical dentistry* 2011;2:248-258.

- Peters E, Lovas GL, Wysocki GP. Lingual mandibular sequestration and ulceration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;75(6):739-743.
- Petrucci MT, Gallucci C, Agrillo A, Mustazza MC, Foà R. Role of ozone therapy in the treatment of osteonecrosis of the jaws in multiple myeloma patients. *Haematologica* 2007;92:1289-1290.
- Piper K, Boyde A, Jones SJ. The effect of 3-amino-1-hydroxypropylidene-1,1-bisphosphonate (ADP) on the resorptive function of osteoclasts of known nuclear number. *Calcif Tissue Int* 1994;54(1):56-61.
- Poli PP, Souza FÁ, Maiorana C. Adjunctive use of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of medication-related osteonecrosis of the jaws: A case report. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2018;23:99-101.
- Polizzotto MN, Cousins V, Schwarer AP. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the auditory canal. *Br J Haematol* 2006;132(1):114.
- Polydorou O, Pelz K, Hahn P. Antibacterial effect of an ozone device and its comparison with two dentin-bonding systems. *Eur J Oral Sci* 2006;114(4):349-353.
- Pura JA, Bobyn JD, Tanzer M. Implant-delivered Alendronate Causes a Dose-dependent Response on Net Bone Formation Around Porous Titanium Implants in Canines. *Clin Orthop Relat Res* 2016;474(5):1224-1233.
- Ragazzo M, Trojan D, Spagnol L, Paolin A, Guarda Nardini L. Use of amniotic membrane in the treatment of patients with BRONJ: two case reports. *J Surg Case Rep* 2018;20(4):73
- Rahban SR, Garner WL. Fibroproliferative scars. *Clin Plast Surg* 2003;30(1):77-89.
- Reed MJ, Koike T, Puolakkainen P. Wound repair in aging. A review. *Methods Mol Med* 2003;78:217-237.
- Reid IR, Brown JP, Burckhardt P, Horowitz Z, Richardson P, Trechsel U, Widmer A, Devogelaer JP, Kaufman JM, Jaeger P, Body JJ, Brandi ML, Broell J, Di Micco R, Genazzani AR, Felsenberg D, Happ J, Hooper MJ, Ittner J, Leb G, Mallmin H, Murray T, Ortolani S, Rubinacci A, Saaf M, Samsioe G, Verbruggen L, Meunier PJ. Intravenous zoledronic acid in postmenopausal women with low bone mineral density. *The New England Journal of Medicine* 2002;346:653-661.
- Reid IR, Miller P, Lyles K, Fraser W, Brown JP, Saidi Y, Mesenbrink P, Su G, Pak J, Zelenakas K, Luchi M, Richardson P, 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.

- Reszka AA, Halasy-Nagy JM, Masarachia PJ, Rodan GA. Bisphosphonates act directly on the osteoclast to induce caspase cleavage of mst1 kinase during apoptosis. A link between inhibition of the mevalonate pathway and regulation of an apoptosis-promoting kinase. *J Biol Chem* 1999;274(49):34967-1473.
- Reth M. Hydrogen peroxide as second messenger in lymphocyte activation. *Nat Immunol* 2002;3:1129-1134.
- Ridley AJ, Hall A. The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 1992;70(3):389-399.
- Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, Diekmann D, Hall A. The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 1992;70(3):401-410.
- Robson MC, Krizek TJ, Heggors JP. Biology of surgical infection. *Curr Probl Surg* 1973;1:62.
- Roelofs AJ, Thompson K, Gordon S, Rogers MJ. Molecular mechanisms of action of bisphosphonates: current status. *Clin Cancer Res* 2006;12(20):6222-6230.
- Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, Frith JC. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* 2000;88(12):2961-2978.
- Rogers MJ, Watts DJ, Russell RG. Overview of bisphosphonates. *Cancer* 1997;80(8):1652-1660.
- Roy D, Wong PK, Engelbrecht RS, Chian ES. Mechanism of enteroviral inactivation by ozone. *Appl Environ Microbiol* 1981;41:718-723.
- Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mehrotra B; American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. 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):2-12.
- Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo T, Mehrotra B, O'Ryan F; American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update. *J Oral Maxillofac Surg* 2014;72(10):1938-1956.
- Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62(5):527-534.
- Ruggiero SL, Mehrotra B. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: diagnosis, prevention, and management. *Annu Rev Med* 2009;60:85-96.

- Rumalla VK, Borah GL. Cytokines, growth factors, and plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2001;108(3):719-733.
- Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone* 2011;49(1):2-19.
- Russell RG, Croucher PI, Rogers MJ. Bisphosphonates: pharmacology, mechanisms of action and clinical uses. *Osteoporos Int* 1999;9(2):66-80.
- Russell RG, Mühlbauer RC, Bisaz S, Williams DA, 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.
- Russell RG, Watts NB, Ebtino FH, Rogers MJ. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporos Int* 2008;19(6):733-759.
- Saad F, Brown JE, Van Poznak C, Ibrahim T, Stemmer SM, Stopeck AT, Diel IJ, Takahashi S, Shore N, Henry DH, Barrios CH, Facon T, Senecal F, Fizazi K, Zhou L, Daniels A, Carrière P, Dansey R. Incidence, risk factors, and outcomes of osteonecrosis of the jaw: integrated analysis from three blinded active-controlled phase III trials in cancer patients with bone metastases. *Ann Oncol* 2012;23(5):1341-1347.
- Sahni M, Guenther HL, Fleisch H, Collin P, Martin TJ. Bisphosphonates act on rat bone resorption through the mediation of osteoblasts. *J Clin Invest* 1993;91(5):2004-2011.
- Santini D, Vincenzi B, Avvisati G, Dicuonzo G, Battistoni F, Gavasci M, Salerno A, Denaro V, Tonini G. Pamidronate induces modifications of circulating angiogenetic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res* 2002;8(5):1080-1084.
- Sarathy AP, Bourgeois SL Jr, Goodell GG. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws and endodontic treatment: two case reports. *J Endod* 2005;31(10):759-763.
- Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H, Thompson DD, Golub E, Rodan GA. Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest* 1991;88(6):2095-2105.
- 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.

- Sawadaishi K, Miura K, Ohtsuka E, Ueda T, Ishizaki K, Shinriki N. Ozonolysis of supercoiled pBR322 DNA resulting in strand scission to open circular DNA. *Nucleic Acids Res* 1985;13:7183-7194.
- Schmidlin PR, Zimmermann J, Bindi A. Effect of ozone on enamel and dentin bond strength. *J Adhes Dent* 2005;7:29-32.
- Scholl D, Langkamp-Henken B. Nutrient recommendations for wound healing. *J Intraven Nurs* 2001;24(2):124-132.
- Schoutens A VM, L Hermite M, Tricot A, Verschaeren A, Dourov N, Heilporn A. Increase of bone blood flow, an initial step of bone demineralization in the rat. *Calcif Tiss Int* 1984;36:53.
- Schwartz HC. Osteonecrosis of the jaws: a complication of cancer chemotherapy. *Head Neck Surg* 1982;4(3):251-253.
- Sechi LA, Lezcano I, Nunez N, Espim M, Duprè I, Pinna A, et al. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozone). *J Appl Microbiol* 2001;90:279-284.
- Sedghizadeh PP, Kumar SK, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF, Costerton JW. Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy. *J Oral Maxillofac Surg* 2008;66(4):767-775.
- Sefton MV, Woodhouse KA. Tissue engineering. *J Cutan Med Surg* 1998;3(1):18-23.
- Selander K, Lehenkari P, Väänänen HK. The effects of bisphosphonates on the resorption cycle of isolated osteoclasts. *Calcif Tissue Int* 1994;55(5):368-375.
- Senaratne SG, Pirianov G, Mansi JL, Arnett TR, Colston KW. Bisphosphonates induce apoptosis in human breast cancer cell lines. *Br J Cancer* 2000;82(8):1459-1468.
- Sener I, Bereket C, Kosker H, Turer A, Tek M, Kaplan S. The effects of zoledronic acid on mandibular fracture healing in an osteoporotic model: a stereological study. *J Craniofac Surg* 2013;24(4):1221-1224.
- Shoukheba MYM, Ali SA. The effects of subgingival application of ozonated olive oil gel in patient with localized aggressive periodontitis. A clinical and bacteriological study. *Tanta Dental Journal* 2014;11:63-73.
- Silva LF, Curra C, Munerato MS, Deantoni CC, Matsumoto MA, Cardoso CL, Curi MM. Surgical management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: literature review. *Oral Maxillofac Surg* 2016;20(1):9-17.
- Silva PG, Ferreira Junior AE, Teófilo CR, Barbosa MC, Lima Júnior RC, Sousa FB, Mota MR, Ribeiro Rde A, Alves AP. Effect of different doses of zoledronic acid in establishing of bisphosphonate-related osteonecrosis. *Arch Oral Biol* 2015;60(9):1237-1245.

- Silveira AM, Lopes HP, Siqueira JF Jr, Macedo SB, Consolaro A. Periradicular repair after two-visit endodontic treatment using two different intracanal medications compared to single-visit endodontic treatment. *Braz Dent J* 2007;18:299-304.
- Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999;341(10):738-746.
- Sivalingam VP, Panneerselvam E, Raja KV, Gopi G. Does Topical Ozone Therapy Improve Patient Comfort After Surgical Removal of Impacted Mandibular Third Molar? A Randomized Controlled Trial. *J Oral Maxillofac Surg* 2017;75(1):51-59.
- Sonis ST, Watkins BA, Lyng GD, Lerman MA, Anderson KC. Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients. *Oral Oncol* 2009;45(2):164-172.
- Steed DL. Clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor for the treatment of lower extremity diabetic ulcers. Diabetic Ulcer Study Group. *J Vasc Surg* 1995;21:71-81.
- Steed DL. Wound-healing trajectories. *Surg Clin North Am* 2003;83(3):547-555.
- Strampel W, Emkey R, Civitelli R. Safety considerations with bisphosphonates for the treatment of osteoporosis. *Drug Saf* 2007;30(9):755-763.
- Stübinger S, Sader R, Filippi A. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. *Quintessence Int* 2006;37:353-359.
- Tanvetyanon T, Stiff P. Management of the adverse effects associated with intravenous bisphosphonates. *Annals of oncology* 2006;17(6):897-907.
- Taşdemir Z, Alkan BA, Albayrak H. Effects of Ozone Therapy on the Early Healing Period of Deepithelialized Gingival Grafts: A Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial. *J Periodontol* 2016;87(6):663-671.
- Tassone P, Forciniti S, Galea E, Morrone G, Turco MC, Martinelli V, Tagliaferri P, Venuta S. Growth inhibition and synergistic induction of apoptosis by zoledronate and dexamethasone in human myeloma cell lines. *Leukemia* 2000;14(5):841-844.
- Tibbs MK. Wound healing following radiation therapy: a review. *Radiother Oncol* 1997;42(2):99-106.
- Toriumi DM, Kotler HS, Luxenberg DP, Holtrop ME, Wang EA. Mandibular reconstruction with a recombinant bone-inducing factor. Functional, histologic, and biomechanical evaluation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991;117(10):1101-1112.

- Treister N, Sheehy N, Bae EH, Friedland B, Lerman M, Woo S. Dental panoramic radiographic evaluation in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Oral Dis* 2009;15(1):88-92.
- Uraz A, Karaduman B, Isler SÇ, Gönen S, Çetiner D. Ozone application as adjunctive therapy in chronic periodontitis: Clinical, microbiological and biochemical aspects. *J Dent Sci* 2019;14(1):27-37.
- Urioste SS, Arndt KA, Dover JS. Keloids and hypertrophic scars: review and treatment strategies. *Semin Cutan Med Surg* 1999;18(2):159-171.
- Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, Katodritou E, Triaridis S, Andreadis CG, Boukovinas I, Koloutsos GE, Teleioudis Z, Kitikidou K, Paraskevopoulos P, Zervas K, Antoniadis K. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Clin Oncol* 2009;27(32):5356-5362.
- Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelets. *Mediators Inflamm* 1999;8:205-209.
- Van Hoof HJ, Zijlstra FJ, Voss HP, Garrelds IM, Dormans JA, Van Bree L, et al. The effect of ozone exposure on the release of eicosanoids in guinea-pig BAL fluid in relation to cellular damage and inflammation. *Mediators Inflamm* 1997;6:355-361.
- Van Poznak C, Estilo C. Osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving IV bisphosphonates. *Oncology (Williston Park)* 2006;20(9):1053-1062
- Velano HE, do Nascimento LC, de Barros LM, Panzeri H. In vitro assessment of antibacterial activity of ozonized water against *Staphylococcus aureus*. *Pesqui Odontol Bras* 2001;15:18-22.
- Vincenzi B, Santini D, Rocci L, Tonini G. Bisphosphonates: new antiangiogenic molecules in cancer treatment? *Ann Oncol* 2003;14(5):806-7.
- Walter C, Al-Nawas B, Grötz KA, Thomas C, Thüroff JW, Zinser V, Gamm H, Beck J, Wagner W. Prevalence and risk factors of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in prostate cancer patients with advanced disease treated with zoledronate. *Eur Urol* 2008;54(5):1066-1072.
- Wang J, Goodger NM, Pogrel MA. Osteonecrosis of the jaws associated with cancer chemotherapy. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61(9):1104-1107.
- Wang X. Emerging roles of ozone in skin diseases. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2018;43(2):114-123.
- Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83(3):835-870.

- Wieman TJ, Smiell JM, Su Y. Efficacy and safety of a topical gel formulation of recombinant human platelet-derived growth factor-BB (becaplermin) in patients with chronic neuropathic diabetic ulcers. A phase III randomized placebo-controlled double-blind study. *Diabetes Care* 1998;21(5):822-827.
- Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med* 2006;144(10):753-761.
- Wood J, Bonjean K, Ruetz S, Bellahcène A, Devy L, Foidart JM, Castronovo V, Green JR. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302(3):1055-1061.
- Wood J., Schnell C., Green JR. Zoledronic Acid (Zometa), a Potent Inhibitor of Bone Resorption, Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis in Human Endothelial Cells in Vitro and Is Anti-Angiogenic in a Murine Growth Factor Implant Model. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000;664:664–665.
- Xia YP, Zhao Y, Marcus J, Jimenez PA, Ruben SM, Moore PA, Khan F, Mustoe TA. Effects of keratinocyte growth factor-2 (KGF-2) on wound healing in an ischaemia-impaired rabbit ear model and on scar formation. *J Pathol* 1999;188(4):431-438.
- Yasko AW, Lane JM, Fellingner EJ, et al. The healing of segmental bone defects, induced by recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP-2): a radiographic, histological, and biomechanical study in rats. *J Bone Joint Surg* 1992;74:659–670.
- Young SB, Setlow P. Mechanisms of killing of *Bacillus subtilis* spores by Decon and Oxone, two general decontaminants for biological agents. *J Appl Microbiol* 2004;96:289-301.
- Yucesoy T, Kutuk N, Canpolat DG, Alkan A. Comparison of Ozone and Photo-Biomodulation Therapies on Mental Nerve Injury in Rats. *J Oral Maxillofac Surg* 2017;75(11):2323-2332.
- Zandi M, Shokri A, Mousavi M, Rajaei S, Mohammad Gholi Mezerji N. Does zoledronate therapy make mandibular bone susceptible to fracture? A radiographical and biomechanical study in rats. *Injury* 2018;49(10):1746-1749.

EKLER

EK 1- Etik Kurul Onayı



GİZLİ
T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Sayı : 68489742-604.01.02-E.8230
Konu : HADYEK İzin Onayı Hk.

04/04/2017

Doç.Dr.Cihan BEREKET
Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Ve Çene Cerrahisi A.D.

ETİK KURUL KARARI

KARAR NO: 2017/01 Proje No 2017/01 KARAR TARİHİ: 31.03.2017
PROJE BAŞLIĞI: **Uzun Süreli Bisfosfonat Verilen Deneklerde Ozonun Farklı Dozlarının Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi**
YÜRÜTÜCÜ: Doç. Dr. Mehmet Cihan BEREKET TC NO: 42325044420
E-POSTA: cbereket@omu.edu.tr MOBİL TEL: 05325816644
KURUM: OMÜ Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Ve Çene Cerrahisi A.D. İÇ HAT TEL NO: 3480

ARAŞTIRICILAR: (Yürütücü dışındakiler)

1. Yard.Doç.Dr. Mehmet Emin ÖNGER OMÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D
2. Arş.Gör. Hasan Can AKGÜN OMÜ Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Ve Çene Cerrahisi A.D.

- Yukarıda tanımlanan Deney Hayvanları ile yapılan çalışmayı; belirtilen araştırmacılar ile gerçekleştireceğini, ekip dışında başka kişileri HADYEK ten izin almadan iştirak ettirmeyeceğini, çalışmanın başından sonuna kadar başkaları ile paylaşmayacağını ve yayın haline dönüştüğünde belirtilen katkı sırasına göre yayınlayacağını,
- Üniversitemiz WEB sayfasında güncel hali yayınlanan, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun olarak çalışacağını,
- Onay alınmış Projede belirtilen Deney Hayvanları Kullanımına müsaade edilen kişilerin haricinde başkalarına hayvanlarda herhangi bir Deneysel işlem yaptırmayacağını ve Proje sürecinde işlemlerde ve çalışma ekibinde yapılacak değişiklikler için HADYEK'e izin başvurusunda bulunacağını ve onay gelinceye kadar çalışmalarını durduracağını,
- Proje onay tarihinden itibaren her 6(altı) ay sonrasında HADYEK'e gelişim raporu vereceğini ve Proje bitim tarihini müteakiben 3 ay içerisinde çalışma sonucunu HADYEK'e bildireceğini, Bu Proje süresince, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesinde yer alan etik ilkelerle uyumsuz veya beklenmeyen ters bir etki veya olay olduğunda derhal Yerel Etik Kurul'a bildireceğini Kabul ve taahhüt eden kimlik ve iletişim bilgileri yukarıda yazılı yürütücünün Araştırma Projesi, Etik Kurul Üyeleri tarafından OMU HADYEK yönergesi kapsamında Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine UYGUN bulunmuştur.

e-İmzalıdır

Prof. Dr. Feriştat KOLBAKIR
HADYEK

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91

Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>

Kep Adresi: omu@hs01.kep.tr

Ali ÖZTÜRK

ali.ozturk@omu.edu.tr

Dahili Tel:2782

5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile iletmiştir.
Evrak teyidi <https://ebyssor.gu.omu.edu.tr> adresinden 00OR-3L5M-0PHR kodu ile yapılabilir.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Hasan Can akgün

Doğum Yeri: İzmir / TÜRKİYE

Doğum Tarihi: 22.04.1991

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

- Özel Feza İlköğretim Okulu (1998-2005)
- Özel Feza Fen Lisesi (2005-2009)
- Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2009-2014)
- Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi (2015-2019)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

- Özel Yeşilyurt Ağız ve Diş Sağlığı Polikliniği (İzmir) (2014-2015)
- Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi (2015-2019)

E-posta: hasanacanakgun@gmail.com