



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**ZOLEDRONİK ASİT UYGULANAN RATLARDA KEMİK
DEFEKTİNİN İYİLEŞMESİ ÜZERİNE EKSTRAKORPOREAL
ŞOK DALGA TEDAVİSİNİN VE DÜŞÜK ENERJİLİ LAZER
TEDAVİSİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Esmâ Bilge ŞAHİN

Samsun

Haziran 2019



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**ZOLEDRONİK ASİT UYGULANAN RATLARDA KEMİK
DEFEKTİNİN İYİLEŞMESİ ÜZERİNE EKSTRAKORPOREAL
ŞOK DALGA TEDAVİSİNİN VE DÜŞÜK ENERJİLİ LAZER
TEDAVİSİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Esmâ Bilge ŞAHİN

**Danışman
Prof. Dr. Nilüfer ÖZKAN**

Samsun
Haziran-2019

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bana tecrübesiyle yol gösteren kıymetli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Nilüfer Özkan'a;

Tez sürecindeki desteklerinden dolayı tez izleme jürimdeki hocalarım Doç. Dr. Mehmet Cihan Bereket'e ve Doç. Dr. Mehmet Emin Önger'e;

Doktora eğitimime katkılarından dolayı başta anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Mehtap Muğlalı olmak üzere tüm bölüm hocalarıma;

Çalışmamın gerçekleştirilmesi için destek sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü'ne, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Üyelerine ve Bilimsel Araştırma Projeleri komisyon üyelerine;

Tezimin cihaz tedarik aşamasında destek sağlayan İdealident Sağlık Ürünleri Sanayi ve Ticaret A.Ş.'ye;

Tezimin deney süreci boyunca bana destek olan DEHAM veteriner sağlık teknisyenleri Soner Gemicioğlu ve Sinan Berk'e;

Tezimin teorolojik, histopatolojik, istatistiksel analizlerinin yapılmasında bana destek olan OMÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilimdalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Mehmet Emin Önger'e ve Araştırma Görevlisi Gamze Altun'a;

Tezimle ilgili zorlandığım her dönemde bana destek olan amcam Çetin ŞAHİN'e

Tüm öğrenim hayatım boyunca yanımda oldukları gibi zorlu doktora eğitimi süresince de desteklerini benden esirgemeyen, sürekli motive eden çok kıymetli ailem; annem Fadime Şahin'e ve babam Metin Şahin'e

Teşekkür ederim...

ÖZET

ZOLEDRONİK ASİT UYGULANAN RATLARDA KEMİK DEFEKTİNİN İYİLEŞMESİ ÜZERİNE EKSTRAKORPOREAL ŞOK DALGA TEDAVİSİNİN VE DÜŞÜK ENERJİLİ LAZER TEDAVİSİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Amaç: İlaçlara bağlı çene osteonekrozu (mronj), son dönemde ağız diş çene cerrahisinin giderek daha fazla karşılaştığı hem hasta hem de hekim açısından sıkıntılı bir durumdur. Bifosfonat türevi ilaçların osteoporoz ve malign tümörlerin kemik metastazlarında gittikçe yaygınlaşan kullanımı ile bu lezyonların prevalans ve insidansları artmaktadır. Düşük enerjili lazer tedavisi (DELTA), maksillofasial cerrahi alanında biyositümülatif amaçla hem kemik hem de yumuşak doku iyileşmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ekstrakorporeal şok dalga tedavisi (ESWT); ortopedide, kötü kırık iyileşmesi tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kırık bölgesinde büyüme faktörü salınımını ve kanlanmayı artırarak iyileşmeyi artırdığı bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı uzun süreli bifosfonat uygulanan ratlarda diş çekimi sonrası oluşan çekim soketi iyileşmesine DELTA ve ESWT'nin etkilerinin incelenmesidir.

Materyal ve Metod: Bu çalışmada; 40 adet 6 haftalık, 250-300 gr ağırlığında, erkek Wistar Albino rat kullanılmıştır. Deney hayvanları Kontrol, DELTA, ESWT ve DELTA+ESWT grubu olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Her grupta 10 rat bulunmakla beraber tüm gruplara diş çekiminden önce 8 hafta süreyle haftada üç kez intraperitoneal olarak 0,1 mg/kg zoledronik asit uygulanmıştır. Her grupta sağ üst 1. molar diş çekildikten sonra kontrol grubuna hiçbir tedavi uygulanmamış; DELTA grubuna çekimden iki gün sonra başlanarak iki hafta boyunca gün aşırı olarak 16 mJ/cm², 810 nm dalga boyunda GaAlAs lazer uygulanmıştır. ESWT grubuna diş çekiminden 4 gün sonra tek doz 1000 impuls 0,21 mJ/mm² odaksız olarak ESWT uygulanmış ve son grup olan ESWT+DELTA grubuna iki tedavi metodu birlikte uygulanmıştır. Her grup diş çekiminden sonra kendi içinde takip sürelerine göre iki alt gruba ayrılmış ve 4. ve 8. haftalarda sakrifiye edilmişlerdir. Elde edilen örnekler stereolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiş ve sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular: En yüksek yeni kemik hacmi değeri 4 hafta takip edilen DELTA-ESWT grubunda görülmüştür. MMP-2 ekspresyonunun DELTA ve ESWT uygulanması ile

arttığı görülmüştür. Yeni damar hacmi ve CD31 ekspresyonu bakımından en yüksek değerler DELT gruplarında bulunmuştur. DELT ve ESWT gruplarında ise MMP-2 ekspresyonunun diğer gruplara oranla daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Sonuç: Çalışmamızda immünohistokimyasal incelemelerde MMP-2 ekspresyonunun tüm gruplarda kontrol grubuna göre artmış olması DELT ve ESWT'nin iyileşmeye ve rejenerasyona olumlu katkıları olduğunu desteklemektedir. Ayrıca CD31 ekspresyonunun DELT gruplarında belirgin olarak artmış olması, aynı zamanda DELT grubunda tam mukozal iyileşme ve en yüksek yeni damar hacmi değerlerinin birlikte bulunması, DELT'nin yumuşak doku iyileşmesine ve neoanjiogenezise önemli katkıları olduğunu göstermektedir. Çalışmada elde edilen stereolojik inceleme sonuçlarına göre ise DELT ve ESWT'nin erken dönemde yeni kemik oluşumu üzerine benzer etkileri olduğu ve DELT ve ESWT'nin birlikte uygulanmasının erken dönemde yeni kemik oluşumu üzerine sinerjik etki göstererek daha etkili olduğu görülmüştür. Uzun dönemde DELT ve ESWT'nin soket iyileşmesini destekleyerek yeni kemik oluşumu üzerine olumlu etkileri olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: düşük enerjili lazer tedavisi, osteonekroz, şok terapi, zoledronik asit

Esma Bilge ŞAHİN, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun, Haziran-2019

ABSTRACT

THE ANALYSIS OF THE EFFECT OF EXTRACORPOREAL SHOCK WAVE THERAPY AND LOW LEVEL LASER THERAPY ON THE DEFECT HEALING IN ZOLEDRONIC ACID APPLIED RATS

Aim: Medicine related osteonecrosis of jaw (MRONJ) is an increasingly common complaint of both the patient and the physician in the last period of oral and maxillofacial surgeons. Prevalence and incidence of these lesions are increasing with the increasing use of bisphosphonate drugs in osteoporosis and malignant tumors in bone metastases. Low level laser therapy (LLLT) is widely used for bone and soft tissue as well as analgesic and anti-inflammatory after surgery in the field of maxillofacial surgery. Extracorporeal shock wave therapy (ESWT); orthopedic is widely used in the treatment of impaired fracture healing in orthopedics. It is known that in the fracture area, it increases the healing by increasing the growth factor release and blood supply. The purpose of this thesis is to investigate the effects of LLLT and ESWT on socket healing after tooth extraction in rats given long-term bisphosphonates.

Materials and Methods: In this study; 250-300 g weighing and six weeks old 40 Male Wistar Albino rats were used. Our experimental study comprise four group which is control, LLLT, ESWT, ESWT+LLLT. Ten rats were used in each group and 0.1 mg/kg zoledronic acid was administered intraperitoneally to all groups three times a week for 8 weeks before tooth extraction. Upper right first molar teeth extraction was performed in each group; no treatment was given to the control group after molar tooth extraction; the LLLT group was exposed to GaAlAs laser at 16 mJ / cm², 810 nm wave length for two weeks, starting two days after extraction. In ESWT group after four days of tooth extraction ESWT was applied with a single dose of 1000 pulses, 0,21 mj/mm² unfocused and the two treatment methods were applied to the last ESWT + LLLT group at the same time. That four group were divided two sub group according to sacrifice time and sacrificed at 4 and 8 weeks. Stereological, histopathological and immunohistochemical evaluation and statistical analysis were performed.

Results: The highest new bone volume was observed in the LLLT-ESWT group followed for 4 weeks. MMP-2 expression was found to be increased by the application of LLLT and ESWT. The highest values for new vessel volume and CD31 expression

were found in the LLLT groups. In the DELT and ESWT groups, MMP-2 expression was higher than the other groups.

Conclusion: In our study, the increase in MMP-2 expression in immunohistochemistry compared to control group in all groups; supports the positive contribution of LLLT and ESWT to healing and regeneration. In addition, CD31 expression was significantly increased in LLLT groups, but also in the LLLT group, complete mucosal healing and the highest values of new vascular volume were found to be the major contributors to soft tissue healing and neoangiogenesis. According to the results of the stereological examination obtained in the study, LLLT and ESWT had similar effects on the formation of new bone in the early period and the co-administration of LLLT and ESWT was found to be more effective in the early period by showing synergic effect on new bone formation at zoledronic acid administered rats. In the long term, it was concluded that LLLT and ESWT had positive effects on new bone formation by supporting socket healing.

Key words: low level laser therapy, osteonecrosis, shock therapy, zoledronic acid

Esma Bilge ŞAHİN, PhD Thesis

Ondokuz Mayıs University, Samsun, June-2019

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
β	Beta
μM	Mikromol
AAOMS	Amerikan Maksillofasial Cerrahi Birliği
ADP	Adenozindifosfat
ALP	Alkalin fosfataz
ATP	Adenozintrifosfat
ATPaz	Adenozintrifosfataz
BMD	Kemik mineral yoğunluğu
BMP	Kemik morfojenik proteini
BRONJ	Bifosfanata bağlı çene osteonekrozu
COX	Siklooksijenaz
CTX	C terminal telopeptid
DELT	Düşük enerjili lazer terapisi
Dmab	Denosumab
ECM	Ekstraselülmatriks
Er:YAG	Erbium: Yittrium- Aluminium-Garnet
ESWT	Ekstrakorporeal şok dalga tedavisi
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FPPS	Farnesilpirofosfatsentaz

GaAlAs	Galyum-Alüminyum-Arsenid
GDF	Büyüme farklılaşma faktörü
GTPaz	Guanozintrifosfataz
ILGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL	İnterlökin
M-CSF	Makrofaj koloni uyarıcı faktör
Mj	Milijoul
MMP	Matriksmetaloproteinaz
MSC	Mezenşimal kök hücre
msn	Milisaniye
NBP	Nitrojenli bifosfanat
Nd:YAG	Neodymium: Yttriyum-Alüminyum-Garnet
Nm	Nanometre
NNBP	Non-nitrojen bifosfanat
NSAID	Nonsteroidal anti-inflamatuar ilaç
Nsn	Nanosaniye
NTX	N terminal telopeptid
ONJ	Çene osteonekrozu
OPG	Osteoprotegerin
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PGE₂	Prostaglandin E ₂
PKC	Protein kinaz C

RANK	Kappa B reseptör aktivatörü
RANKL	Kappa B ligandı reseptör aktivatörü
TGF	Doku büyüme faktörü
TNF	Tümör nekrotizan faktör
VEGF	Vaskülerendotelyal büyüme faktörü
W	Watt



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
İÇİNDEKİLER	xi
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.KEMİK DOKUSU	3
2.1.1. Kemik Matriksi	3
2.1.2. Kemik Zarları	3
2.1.3. Kemik Hücreleri.....	4
2.1.4. Kemik Tipleri	8
2.1.5. Kemikleşme.....	9
2.1.6. Kemik iyileşmesi.....	10
2.1.7. Diş Çekim Soketinin İyileşmesi.....	13
2.1.8. Kemik İyileşmesinin Moleküler Mekanizması	14
2.1.9. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler	16
2.2. BİFOSFANATLAR.....	21
2.2.1. Bifosfanatların Tarihçesi	21
2.2.2. Bifosfanatların Kimyasal Yapısı	21
2.2.3. Bifosfanatların Farmakolojik Özellikleri	23
2.2.4. Bifosfanatların Endikasyonları.....	27
2.2.5. Bifosfanatların Kontrendikasyonları	31
2.2.6. Bifosfanatların Yan Etkileri	31
2.2.7. Bifosfanatlara Bağlı Çene Osteonekrozu (BRONJ).....	32
2.3. LAZERLER	43
2.3.1. Lazerin Tanımı ve Tarihçesi	43
2.3.2. Temel Lazer Fiziği	45
2.3.3. Lazer Işını Oluşumu ve Lazer Sisteminin Bileşenleri.....	48
2.3.4. Lazer Doku Etkileşimi	51

2.3.5. Lazer Sınıflaması.....	55
2.3.6. Diş Hekimliğinde Kullanılan Lazerler	57
2.3.7. Düşük Enerjili Lazer Tedavisi (DELT).....	60
2.3.8. Lazer Güvenliği.....	66
2.4.EKSTRAKORPOREAL ŞOK DALGA TEDAVİSİ (ESWT).....	67
2.4.1. ESWT Tanımı ve Tarihçesi	67
2.4.2. Şok Dalgasının Fiziksel Özellikleri	68
2.4.3. Şok Dalgasının Etki Mekanizması.....	71
2.4.4. Şok Dalgalarının Kullanım Alanları, Kontrendikasyonları ve Komplikasyonları.....	72
3. MATERYAL METOD.....	74
3.1. Zoledronik Asit Uygulama Protokolü.....	74
3.2. Diş Çekimi ve Cerrahi Prosedür	74
3.3. Post-Operatif Bakım	75
3.4. ESWT Uygulama Protokolü	76
3.5. DELT Uygulama Protokolü.....	76
3.6. Deney Protokolü	77
3.7. Deneyin Sonlandırılması.....	77
3.8. Stereolojik Değerlendirme	78
3.9. İmmunohistokimyasal değerlendirme.....	79
3.10. İstatistiksel analiz.....	79
4. BULGULAR.....	80
4.1. Klinik Bulgular	80
4.2. Stereolojik Bulgular	81
4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	88
5. TARTIŞMA.....	91
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	103
KAYNAKLAR.....	104
EK-1 Etik Kurul Onayı	156
ÖZGEÇMİŞ	157



1. GİRİŞ

Osteoporoz ve kemik metastazlarının engellenmesinde kullanılan bifosfanatlar sahip oldukları güçlü antirezorbtif ve antianjiogenik etkilerini doğrudan osteoklastik aktiviteleri inhibe ederek ve dolaylı olarak ise osteoblast aktivasyonunu bozarak gösterirler (Kimmel, 2007). En güçlü antianjiogenik etkiye sahip olan zoledronik asit, özellikle kemik metastazlarının engellenmesi için multipl miyelom, meme ve prostat kanserlerinde aktif bir şekilde kullanılmaktadır (Green ve ark., 1994).

Zoledronik asitin tümör hücrelerinde ve kemik iyileşme bölgelerinde VEGF ve bFGF gibi endojen pro-anjiogenik faktörlerin salgılanmasını baskılayarak anjiogenezi yavaşlattığı bilinmektedir (Fournier ve ark., 2002; Hamma- Kourbali ve ark., 2003; Clezardin ve ark. 2005). Bifosfonat alımından sonra kemikte ajan birikimi oluşur. Kemikte herhangi bir yıkım meydana geldiğinde, ortama salınan osteoklast fonksiyonunun bozulması ve anjiogenetik ajanların salınımının baskılanmasına neden olarak kemik iyileşmesini bozar.

Diş çekim socketinin iyileşmesi bir tür sekonder kemik iyileşmesi şeklindedir. Önceden nitrojen içerikli bir bifosfonata maruz kalan bireylerde çene kemiklerinde oluşan ajan birikimi nedeniyle çekim bölgesinin iyileşmesi esnasında kemik iyileşmesinde bozulmalar görülmektedir (Marx ve ark., 2005). Oluşan nekrotik kemik, daha önce baş boyun bölgesine alınmış radyoterapi yoksa ve bir klinisyenin gözetiminde tedavi edilmesine rağmen 8 hafta ve daha uzun süreyle iyileşmiyorsa BRONJ olarak tanımlanır.

Halen BRONJ için kabul edilmiş genel bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Araştırmacılar, BRONJ tedavisinde kullanılacak yöntemin hastalığın derecesi ve klinik semptomlarına uygun olarak seçilmesini önermektedirler. Bu ampirik tedavi seçimi BRONJ'un histopatolojisinin tam olarak çözülememesinden kaynaklanmaktadır (Khan ve ark., 2015; Aghaloo ve ark., 2015).

DELT doku tamirini artırmak, enflamasyonu azaltmak ve ağrıyı dindirmek amaçlı kullanılmaktadır. DELT, hücrelerin Redox sistemini etkileyerek anaerobik metabolizmayı aerobik yöne çevirir. Anaerobik metabolizma ağrı oluşturmalarının yanı sıra atık ürünleri ve pH'nın düşürülmesi yoluyla iyileşme sürecini de yavaşlatır.

Dolayısıyla metabolizmanın aerobik yöne çevrilmesi DELT'nin en önemli biyositümülatif etkisidir (Asnaashari ve Safavi, 2013; Walsh, 1995; Walsh ve ark., 2006).

DELT'nin kemik üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda; lazer enerjisinin kemik iyileşmesini artırıcı etkisinin osteoklastlar üzerine direkt ve osteoblastlara ise dolaylı yoldan etki ederek olduğu rapor edilmiştir (Nicola ve ark., 2003). DELT'in osteoblastlar üzerine etkisinden başka, kemik iyileşmesi esnasında ALP seviyesini artırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Ozawa ve ark., 1998). Bu bulgular; DELT'in kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermektedirler. Bu nedenle biz de çalışmamızda zoledronik asit verilen ratlarda bozulduğu ön görülen diş çekim soketi iyileşmesini desteklemek amacıyla DELT'i kullandık.

ESWT, yüksek enerjili ses dalgalarının vücudun istenen bölgelerine odaklanarak ilgili bölgede tedavi sağlanmasına dayalı bir yöntemdir. ESWT'nin, şok dalgaları ile hücrelere basınç, çekme ve germe kuvvetlerinin uygulanmasıyla hücrelerden kemik iyileşmesini stimüle eden büyüme faktörlerinin salgılanması olarak tanımlanan mekanotransdüksiyon adı verilen bir mekanizma ile çalıştığı bilinmektedir. Salgılanan bu faktörler kemik iyileşmesinde önemli yere sahip olan FGF-1, FGF-2, TGF- β_1 , BMP-2, BMP-4 ve VEGF'dir (Hausdorf ve ark., 2011; Pfaff ve ark., 2016). ESWT bu özelliği ile avasküler nekroz ve nonunionlarda etkili bir tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır.

Çalışmamızda bozulmuş kemik iyileşmesi üzerine biyositümülatif ve neo-anjiogenetik etkilerinin olduğu bilinen iki farklı tedavi metodu olan ESWT ve DELT'yi; zoledronik asit uygulanmış deneklerde çekim soketlerinde kullanarak kemik iyileşmesini immünohistokimyasal ve steorolojik olarak incelemeyi planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK DOKUSU

Kemik, bağ dokusunun mineralize olmuş özel bir halidir. Kemikler bir araya gelerek iskelet sistemini oluşturur. İskelet sistemi vücudun çatısını oluşturur ve kas sistemi ile beraber hareketi sağlar (Gartner ve Hiatt, 2007). Kemik dokusu şeklini hacmini ve içeriğini dıştan gelen uyarılar doğrultusunda yönlendirerek kendini yapısal olarak yenileyebilir. Kemik; kalsiyum, fosfor, sodyum, magnezyum gibi mineraller için depo görevi görür ve vücut sıvı dengesinin korunmasında görev alır ayrıca kan hücrelerinin üretildiği kemik iliğini içerir (Sikavitsas ve ark, 2001). Kemikhistolojik olarak kemik zarları, kemik hücreleri ve hücreler arası matriksten meydana gelir (Junqueira ve Carnerio, 2003).

2.1.1 Kemik Matriksi

Kemik matriksi %35 organik ve %65 inorganik yapıdan oluşur. Organik yapıyı %90 tip I kollajen, %10 proteoglikanlar, kollajen dışı matriks proteinleri (glikolipidler, fosfolipidler, fosfoproteinler), büyüme faktörleri ve sitokinler oluşturur (Shapiro, 2008). Tip I kollajen kemiğin gerilme kuvvetinden, proteoglikanlar ise kemiğin kompresif kuvvetinden sorumludur. Kondroitin-4-sülfat, kondroitin-6-sülfat ve keratan sülfat kemiğin başlıca glikozaminoglikanlarıdır ve kemiğin sertlik ve dayanıklılığında sorumludurlar (Brinker, 2001; Junquera ve Carnerio, 1997).

İnorganik matriks büyük oranda kalsiyum hidroksiapatit $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ moleküllerinden oluşur. Apatit kristalleri 20-80 nm uzunluğunda, 2-5 nm kalınlığında plak biçiminde küçük kristallerdir. Vücuttaki kalsiyumun %99'u, sodyumun $\frac{1}{4}$ 'ü, Magnezyum'un çoğu ve Potasyum'un az bir miktarı kemik içinde bulunur (Junqueira ve Carnerio, 2003). Hidroksiapatit tuzları organik lifler arasına yerleşerek kemiğin sert ve dayanıklı hale gelmesini sağlarlar (Tekelioğlu, 1989; Bancroft ve Stevens, 1996).

2.1.2. Kemik Zarları

Kemiklerin iç ve dış yüzeyleri kemik öncül hücreleri ve bağ dokusundan oluşan zarlar ile örtülüdür (Junquera ve Carnerio, 2006). Bu zarlar;

Periosteum: Kortikal kemiğin, etrafını çevreleyen kas veya yumuşak dokularla bağlantısını sağlar. Periost, Sharpey lifleri ile kortikal kemiğe tutunur. Histolojik olarak iki ayrı tabakadan oluşur. Dış tabaka fibröz tabakadır ve fibroblastlardan, kollejen ve elastin liflerinden oluşur. Kılcal damarları ve sinir ağı vardır. Kambiyum tabakası adı verilen iç tabaka ise hücresel olarak daha zengin olup erişkin mezenchimal ön hücreler, farklılaşmamış osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, fibroblastlar, kılcal damarlar ve sempatik lifler içerir. Periost bu histolojik yapısı ile büyüme, gelişme ve kemik onarımında önemli rol oynar. Periost içindeki hücre sayısı ve damarlanma yaşlanmayla beraber azalır. Sempatik sinir yoğunluğu endosteum tabakasına göre daha fazladır (Junqueira ve Carneiro; 2003, 2006).

Endosteum: Kemiğin içindeki anatomik boşlukları örten yassı osteoprogenitör hücreler ve çok az bağ dokusundan oluşan bir tabakadır (Junqueira ve Carneiro, 2006). Kemik yapım aktivitesi periost kadar yüksektir. Ayrıca hematopoetik hücre üretebilme özelliği vardır (Junqueira ve Carneiro, 2003).

2.1.3. Kemik Hücreleri

Kemik dokusunda özelleşmiş 5 tip kemik hücresi bulunmaktadır (Kalfas, 2001).

- 1- Osteoblastlar
- 2- Osteositler
- 3- Osteoklastlar
- 4- Osteoprogenitör hücreler
- 5- Kemik dökücü hücreler

Osteoblastlar:

Osteoblastlar kemik organik matriksinin üretilmesinde ve osteoklast fonksiyonunun düzenlenmesinde görev alırlar. Periostta veya kemik iliğinde üretilirler (Stevens ve Lowe, 1997). Osteoblastlar büyük çekirdeklidir. Hücresel uzantıları ve hücreler arası bağlantıları sağlayan sitoplazmik uzantıları vardır. Osteoid sentezlenmesinde görev aldıkları için sık endoplazmik retikulum, gelişmiş Golgi aparatı ve içleri kollajenle dolu salgı kesecikleri içerirler (Gartner ve Hiatt, 2007). Tip I kollajen ve matriks proteinleri salgırlar; bu matriks proteinleri kalsiyum bağlayan

osteokalsin ve osteonektin, kemik sialoprotein I ve II, proteoglikanlar ve glikoproteinlerdir. Osteoblastlar sahip oldukları alkalın fosfataz (ALP) enzimi ile kemik matriksinin mineralizasyonunu sağlarlar. Osteoblastik aktivite seviyesi kandaki ALP ve osteokalsin seviyelerine bakılarak değerlendirilebilir. Paratiroid hormon, prostaglandin, D vitamini metabolizması yan ürünleri, adrenal ve gonadal steroidler, sitokinler ve lenfokinler gibi moleküller için reseptörler içerirler (Jee, 2001; Soydan, 1985).

Osteoblastların aktif yaşam süreleri 1-10 haftadır. Osteoblastlar salgıladıkları osteoid içinde gömülü kalırlar ve aktif kemik oluşumu durduğunda içinde buldukları lakünalar içinde hapsolarak ‘osteosit’ adını alırlar (Junquera ve Carnerio, 2006).

Osteositler:

Osteositler kalsifiye matriks içinde hapsolmuş olgun kemik hücreleridir. Kanalikuli denilen stoplazmik uzantılar aracılığıyla diğer osteositlerle ve kanla ilişki içindedirler. Bu bağlantılar osteositlerle kan damarları arasında molekül alışverişi sağlar (Fonceca ve ark., 2005). Bu durum kemik içine gömülü hücrelerin hormonlar tarafından nasıl uyarılabildiklerini açıklamaktadır (Sikavitsas ve ark, 2001; Carranza, 1996). Osteositler kemik matriksinin mineral içeriğinin korunmasından, matriks devamlılığının sağlanmasından ve kemiğe gelen fiziksel kuvvetlerin karşılanmasından sorumludurlar. Yeni matriks sentezleyebilir ve yıkabilirler (Stevens ve Lowe, 1997; Junquera ve Carnerio, 2003).

Kadınlarda östrojen hormonunun yaşla beraber azalmasına bağlı olarak ve glukokortikoid yapıda hormonların artmasıyla osteositlerin sayısı azalır. Osteositlerin yaşam süresi birkaç yıldır ve osteoblastlar gibi bölünme yeteneklerini kaybetmişlerdir (Guyton, 2007).

Osteoklastlar:

Kemik rezorbsiyonundan sorumlu; kemik iliğindeki monosit veya monosit benzeri hücrelerden köken alan çok çekirdekli fagositik hücrelerdir (Kutsal, 2005). Osteoklastlar kemik yüzeyine yapışarak ATPaz tarafından yönetilen protonların aktif transportuyla oluşan asitle kemiği demineralize eder; organik yapıyı ise katepsin K proteolitik enzimlerle yıkarlar. Organik matriksi yıkarak oluşturdukları sığ eroziv

çukurlar olan Howship lakünaları içinde yaşarlar (Kalfas, 2001; Carranza, 1996; Boron 1996).

Kalsitonin ve osteoklast uyarıcı faktör için reseptör taşırlar ve kalsiyumun kana karışmasını sağlayarak kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesinde rol alırlar (Junquera ve Carnerio, 2003).

Tümör nekrotizan faktör (TNF) süper ailesinin üyeleri olan Kappa B ligand (RANKL) kemik remodelinginde osteoklast oluşumunu, aktivasyonunu ve devamlılığını sağlamaktadır (Silva ve Bronco, 2011).

İnterlökin (IL) -1,-3,-6 ve -11, TNF ve doku büyüme faktörü alfa (TGF- α) gibi birçok büyüme faktörü ve sitokin osteoklast oluşumunu indükler (Bancroft ve Stevens, 1996).

Osteoprotegerin (OPG), TNF ve reseptör benzeri molekül 1 (TR1)' in in vivo ve in vitro osteoklastların gelişimi üzerine negatif etkileri vardır (Suda ve ark. , 1999).

Osteoprogenitör hücreler:

Periostun derin tabakası, endosteum, havers ve volkman kanallarında bulunan ve kemiğin büyümesi veya tamiri esnasında farklılaşarak osteoblastlara dönüşebilen kemik iliği mezenşimal dokusu kaynaklı kök hücrelerdir (Junquera ve Carnerio, 2003). Mitozla çoğalabilirler. Oval ya da uzun çekirdekli bazofilik stoplazmaya sahip hücrelerdir. Dokunun yeterli vaskülarizasyonu olmadığında kondroblastlara farklılaşırlar (Gartner ve Hiatt, 2007; Cormak, 2001).

Kemik döşeyici hücreler:

Kemik yüzeyini ince bir tabaka halinde döşeyen bu hücreler osteoblastlardan köken alırlar. Kemiğin iç yüzeyinde bulunanlara endosteal, dış yüzeyinde bulunanlara ise periosteal hücreler denir. Normal fizyolojik süreçte inaktif olan bu hücreler kimyasal veya mekanik uyaranlarla aktif hale geçerler (Miller ve Jee, 1992).

2.1.4. Kemik Tipleri

Kemik histolojik olarak incelendiğinde iki farklı tipte olduğu görülmüştür;

- 1- Primer kemik dokusu (olgunlaşmamış ya da woven kemik)

2- Sekonder kemik dokusu (olgunlaşmış ya da lameller kemik)

Primer kemik dokusu:

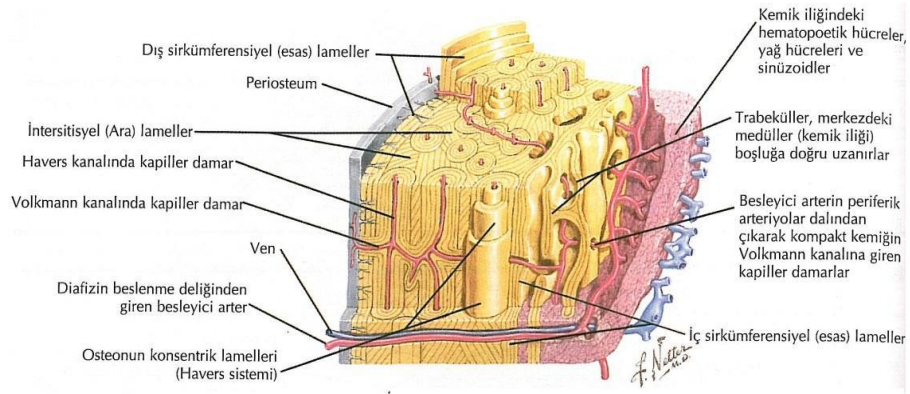
Embriyolojik dönemde ve kırık iyileşmesinde ilk olarak oluşturulan kemik türüdür. Erişkinlerde dış alveolleri, tendonların kemiğe bağlandığı bölgeler ve kafatasındaki yassı kemik eklemleri hariç 3 yaşından sonra yerini lameller kemiğe bırakır (Saphiro, 2008).

Oldukça hızlı oluşur. Hücrece zengindir ve yeni oluşmuş düzensiz kollajen fibriller içerir. Mineral içeriği lameller kemiğe göre az olduğu için daha dayanıksızdır. Lameller yapı göstermez ve sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir (Lavelle LBC. ,1975; Soydan N. ,1985; Young B, Heath JW. 2000; Junquera ve Carnerio, 2006)

Sekonder kemik dokusu:

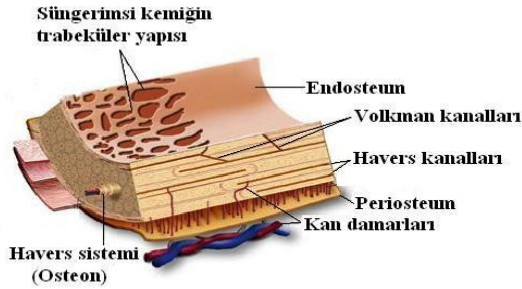
Gelişim süresince primer kemiğin yerine geçen 2-7 µm kalınlığındaki lamellerden oluşan kemik dokusudur. Kollajen fibriller birbirine paralel olarak bir vasküler eksen etrafında dizilmişlerdir. Sekonder kemik dokusu mikroskobik olarak incelendiğinde ikiye ayrılır.

Kortikal (kompakt) kemik:Yassı kemiklerin iç ve dış yüzeyini, uzun kemiklerin ise sadece dış yüzeyini saran porözitesi az, yoğun yapıda lameller kemiktir (Dopla ve ark., 2004). Kompakt kemik dokusu özelleşmiş bir kanal yapısına sahiptir. Bu kanallar uzun eksene dik seyreden ve kan damarları, sinir ve gevşek bağ dokusu içeren Havers kanalları ve Havers kanalları arasında dik seyreden Volkman kanallarıdır (şekil 1). Kompakt kemiğin mukavemeti Havers sisteminin sıkı dizilimine bağlıdır. Bu kanallar aracılığı ile kemiğin beslenmesi ve hücreler arası iletişim sağlanmaktadır (Junquera ve Carnerio, 2003).



Şekil 1. Kompakt kemiğin enine kesiti (Netter insan anatomisi atlası, 2002)

Trabeküler (spongioz) kemik: İskeletin %20 kadarını oluşturur. Gevşek bir yapı halinde anastomoz yapmış üç boyutlu bir ağ halindedir. Kortikal kemiğe göre daha fazla pöröz yapıya ve metabolik faaliyete sahiptir. Trabeküller arasındaki boşluğu hücrelerin besin ihtiyacının karşılandığı kan damarlarını içeren kemik iliği doldurur. Spongioz kemikte lameller içeren lakünalar bulunurken Havers kanal sistemi bulunmaz (Baron, 1999) (Şekil 2).



Şekil 2. Spongioz kemiğin enine kesiti (<http://ocw.mit.edu/OcwWeb/Health-Sciences-and-Technology/HST-523JSpring-2004/CourseHome/index.htm>)

Hem kortikal hem de spongioz kemik aynı kemik hücrelerine ve aynı ekstraselüler matriks elemanlarına sahiptirler fakat mimari yapıları birbirinden farklıdır. Bu farklılık kuvvete karşı dirençlerini ve fonksiyonel özelliklerini etkiler. Bu fark

kortikal kemiğe koruyucu ve mekanik direnç kazandırırken; spongiöz kemiğe ise metabolik fonksiyonu sağlamaktadır (Bronner Ve Worrell, 1999).

2.1.5. Kemikleşme

Osteogenez, intramembranöz ve endokondral olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. İntramembranöz kemikleşmede bağ dokusu; endokondral kemikleşmede ise kırık dokusu oluşacak kemik için öncüllük eder. Her iki kemikleşmede de oluşan kemik dokusu primer kemik dokusudur. Primer kemik daha sonra yerini lameller kemiğe bırakır (Shapiro, 2008). Bazen bu yollardan biriyle osteogenez sağlanırken, çoğu kez iki yol birbirini takip etmektedir (Öber ve İzzetoğlu, 2006).

Ayrıca apozisyonel kemikleşme olarak adlandırılan ve önceden mevcut bir kemiğin üzerine yeni kemiğin birikmesi yoluyla gerçekleşen bir osteogenez şekli daha bulunmaktadır (Bostrom ve ark. , 2000).

İntramembranöz kemikleşme: Daha çok yassı kemiklerde görülen intramembranöz kemikleşme embriyoda kemiklerin oluşacağı yerde mezenkim dokusundan membran taslakların ortasından başlayarak çevreye doğru genişlemesiyle oluşur. İntramembranöz terimi kemiğin membranlar içerisinde gelişimini anlatmaktadır (Einhorn, 1998).

Osteogenez bir grup embriyonik kök hücrenin osteoblastlara farklılaşması ile başlar. Osteogenezin olacağı bölgede damarlanmada artış gözlenir. Osteoblastlar organik matriksi sentezlerler. Kan yolu ile ortama gelen mineraller salgılanan ALP ile kalsiyum fosfat bileşikler oluşturularak osteoid doku mineralize edilir. Lakünler içerisinde osteoblastlar osteositlere dönüşürler (Junquera ve Carnerio, 2003). Çevre mezenkim dokusundan osteoblastlar oluşan primer kemiğin etrafına gelirler ve trabekül oluşturmaya devam ederler. Trabekülün etrafındaki osteoblastlar lameller yapıda sekonder kemik oluştururlar. Bu esnada primer kemik merkezinde osteoklast aktivasyonu ile primer kemik yıkılmaya başlar. Sekonder kemik yapıya sahip lameller kemik dokusu birleşerek spongiöz kemiği oluşturur. İç kısımda kalan mezenkimal hücreler ise kemik iliğini oluşturur (Bancroft ve Stevens, 1996).

Endokondral kemikleşme: İskelet kemiklerinden klavikula dışında kalan uzun kemikler, pelvis, omurga ve kafa tabanı kemikleri bu tür kemikleşme ile oluşur. Endokondral kemikleşme, embriyolojik mezenkimal hücrelerin tip II kollajen ve proteoglikan içeren ekstraselüler kartilaj matriksi salgılayan kondrositlere dönüşerek oluşacak kemiğin taslağını oluşturması ve oluşan taslağın daha sonra kemik ile yer değiştirmesi şeklinde olur (Shapiro, 2008). Kemikleşme süreci içerisinde kartilaj model genişler. Kartilaj modelin kalsifikasyonu, kartilaj modelin ortasındaki bir grup kondrositin hipertrofisi ile diyafiz bölgesi oluşturmaları ve kartilaj modeli çevreleyen periosteum içindeki öncül hücrelerin oluşan diyafiz merkezi etrafına ince bir tabaka intramembranöz kemikleşme ile kemik oluşturması ile başlar. Periosteumdaki osteoklastlar kemik halkayı delerek foramen nutrisyumları oluştururlar ve bu kanallardan geçen kan damarları ile model içine osteoprogenitör hücreler ve hematopoetik hücreleri taşırlar. Kan yoluyla bölgeye taşınan Ca^{++} ve Fosfat ALP'nin etkisiyle birleşerek kıkırdak üzerine çökelir ve diyafiz merkezinde bir kemikleşme merkezi oluşur (Soydan, 1985; Young ve Heath, 2000; Sikavitsas ve ark., 2001; Junqueira ve Carnerio, 2006).

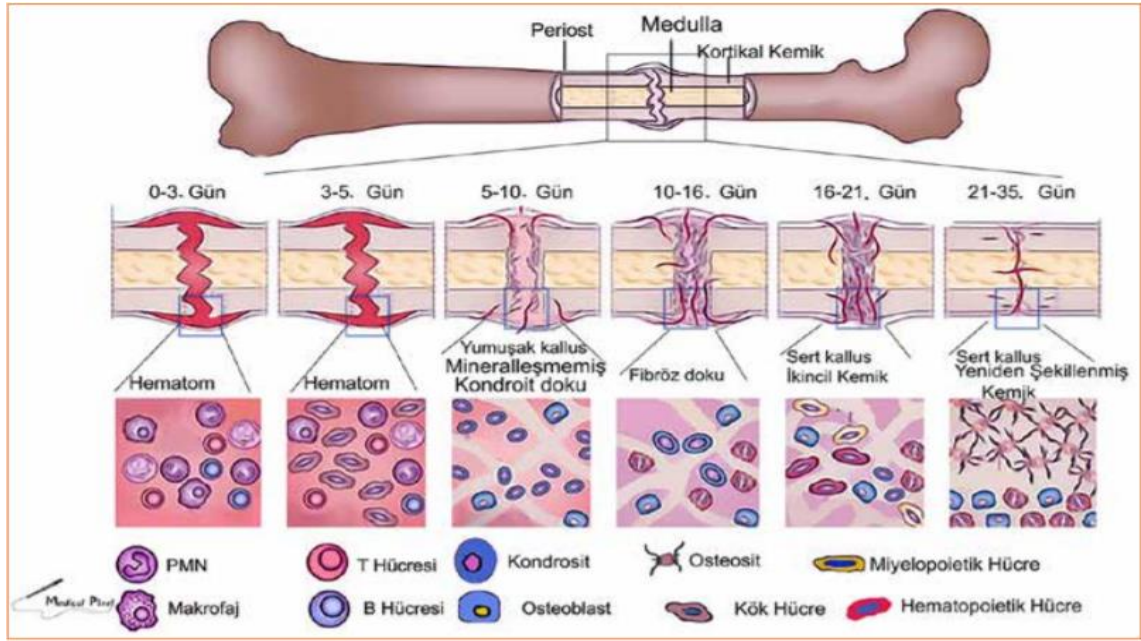
Bu aşamadan sonra kemik, orta kısmında kemikleşmenin devam ettiği ve her iki ucunda halen kıkırdak dokusundan oluşan epifizlerin bulunduğu bir yapı haline gelir. Büyüme gelişme devam ettiği sürece epifiz kıkırdağında kıkırdak oluşumu devam eder (Junqueira ve Carnerio, 2006).

Erişkin dönemde kemik devamlı remodeling ve oluşan mekanik ve kimyasal etkenlere karşı da rejenerasyon kapasitesine sahiptir. Kemik rejenerasyonu iskeletsel tamiri ve fonksiyonu sağlamak için farklı hücreleri, intraselüler ve ekstraselüler moleküler sinyalizasyon yollarını kapsayan iyi organize edilmiş biyolojik olaylar serisidir (Einhorn, 1998; Cho ve ark., 2002; Bates ve Ramachandron, 2007).

2.1.6. Kemik İyileşmesi

Organizmanın devamlılığını sürdürebilmesi için maruz kaldığı fiziksel ve kimyasal etkiler sonucunda oluşan bozulmalarda kendini yenileyebilmesi gerekir. Kemik dokusu bozulmalardan sonra kendini yenileyebilme özelliği en iyi olan dokulardandır. Kırık, kemiğin internal veya eksternal etkenler sonucu anatomik bütünlüğünün bozulmasıdır. Kemik iyileşmesi; biyokimyasal, biyomekanik, hücresel ve

hormonal cevaplardan oluşan karmaşık bir mekanizmadır. İyileşme süreci birbiri ardına gelen ve iç içe geçmiş depozisyon, yeniden biçimlenme veya şekillenme ve rezorbsiyon süreçlerinden oluşur (şekil 3). Kemikte, yumuşak doku iyileşmesinde görülen skar dokusu oluşmaz (Soydan, 1985; Kalfas, 2001; Hollinger ve ark., 2004; Bilezikian ve ark., 2008). Kemik dokusunda oluşan hasarlar embriyolojik kemik oluşumunda görülen intramembranöz ve endokondral mekanizmalar ile iyileşirler (Ferguson ve ark., 1999). Primer ve sekonder olmak üzere iki tip kırık iyileşmesi vardır (Canale, 2010).



Şekil 3. Sekonder kemik iyileşmesinin safhaları (Tanrıkulu ve Gönen, 2017)

Primer kemik iyileşmesi: Kırık fragmanlar arasında boşluk oluşmaksızın anatomik olarak uç uca getirilip fikse edildiği durumlarda sadece kortikal doku yanıtının olduğu iyileşme şeklidir. Bu tür iyileşmede kırık uçlarındaki osteoklastlar, içinde yeni kan damarlarının ilerleyebileceği haversian kanallarını oluşturmak üzere rezorpsiyona başlar ve tüneller açarlar. Bu damarlar daha sonra endotel hücreleri ve perivasküler mezenşimal hücrelerle döşenirler. Mezenşimal hücreler daha sonra osteoprogenitör hücrelere onlar da osteoblastlara dönüşürler ve osteogenez tamamlanır (Shapiro, 2008). Dış kallus oluşumu ve kırık dok formasyonu görülmez; bu yüzden embriyonel intramembranöz kemik oluşumuna benzetilmektedir (Brighton ve Hunt, 1997).

Sekonder kemik iyileşmesi ve kemik remodeling: Anatomik olmayan redüksiyonlarda ve rijit olmayan fiksasyonlar sonrası oluşan kırık iyileşmesinde sekonder iyileşme görülür (Canale, 2010). Kırık iyileşmesi fazları farklı araştırmacılar tarafından farklı şekillerde tanımlanmıştır. Thomas ve arkadaşları, (1998) iyileşme fazlarını hematoma oluşumu ve enflamasyon, anjiogenezis ve kırık oluşumu, kırıkta kalsifikasyonu, kırıkta kemik yerini kemiğin alması ve yeniden şekillenme olarak tanımlarken; Frost (1989), enflamasyon, yumuşak kallus oluşumu, sert kallus oluşumu ve remodeling olarak; Muller (2005) ise enflamasyon, proliferasyon ve remodelasyon olmak üzere 3 fazdan tanımlamıştır.

Enflamasyon dönemi: Kırık sonrası 1-4 günü kapsar. Kırık; matriks hasarına, hücrelerde ölüme, periost ve endosteumda yırtılmalara, kan damarlarında kopmalara sebep olur. Bütün doku iyileşmelerinde olduğu gibi ilk verilen yanıt enflamasyondur. Kırık uçlarını ve çevre dokuları da içeren büyük bir hematoma oluşur. Hematom kırık uçlarının bir arada tutulmasına yardım eder ve içindeki fibröz kan pıhtısı tamir hücrelerinin büyümesi için uygun ortamı oluşturur (Shapiro, 2008). Trombosit ve makrofajlar kırık bölgesine gelerek IL-6, IL-1, TNF- α ve prostaglandin E₂ (PGE₂) gibi inflamatuvar sitokinler salgırlar (Castillo ve ark., 2005; Tsiridis ve ark., 2007). Bu sistemler kemik iliği, periferik kan ve periosta bulunan mezenşimal hücreleri, kondroprogenitör ve osteoprogenitör hücreleri toplarlar.

Plateletler ve endotelial hücreler aynı zamanda bir ekstrasellüler immunoglobulin ailesi üyesi olan PECAM-1/ CD31 (platelet endotelial cell adhesion molecule-1)'i salgırlar. Bu moleküller; vasküler permeabilite, koagülasyon, lökosit transmigasyonu ve yara bölgesinin anjiogenezisinde rol alırlar (Park ve ark., 2010).

Mast hücrelerinin histamin ve PGE salgılaması sonucu venlerde vazodilatasyon ve arterlerde vazokonstriksiyon izlenir. Vazodilatasyon ve plazma eksudasyonuna bağlı olarak kırık bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem oluşur. Polimorfonükleer lenfositler ve monositler ödemli bölgeye göç ederler. Haversian sisteminin bozulması ve kan damarlarındaki vazokonstriksiyon kırık uçlarında nekroza sebep olur. Oluşan nekroz ve salgılanan prostaglandinler akut inflamatuvar sürecin başlamasında önemlidir (Ozaki, 2000; Webb ve Tricker, 2000; Prendergast ve Meulen 2001; Kılıçoğlu, 2002).

Proliferasyon evresi: Oluşan pıhtının rölatif hareketi ve kan akımının bozulmasından dolayı oluşan doku hipoksisi, kırık bölgesinde osteogenez oluşumunu engeller çünkü kemik, yüksek gerilimin ve düşük oksijenin olduğu bölgelerde oluşamaz. Böyle durumlarda kartilaj oluşumu görülür (Claes ve ark., 2002). Fibrin matriks içindeki trombositlerden transforme edici büyüme faktörü b2(TGF-b₂), TGF-b₃ ve büyüme farklılaşma faktörü 5 (GDF-5) salınır. Bu faktörler mezenşimal hücrelerin kondrositlere dönüşmesini sağlar. Kondrositler proliferasyon olarak tip 2 kollajen ve proteoglikanlar salgılayarak başlangıç kallus iskeletini oluştururlar. Kırık boşluğu kartilajla dolduğunda stabilite artar, gerilim azalır; VEGF ve diğer anjiyogenik faktörler tarafından düzenlenen yeni damarlanma oluşmaya başlar (Glowacki, 1998). Makrofaj ve osteoklastlar oluşan yumuşak kallusun rezorpsiyonu için yumuşak kallusa çekilirler (Castillo ve ark., 2005).

Tamir sürecinin bir sonraki aşaması; kırık uçları iyileşme dokusuyla stabil olduğu ve birbirine bağlandığı için artık ihtiyaç duyulmayan kallusun rezorpsiyonu ve yerine primer kemiğin oluşumudur. Bu süreç; kondrosit hipertrofisi, kartilaj matriks kalsifikasyonu, osteoprogenitör hücrelerin farklılaşması ve kalsifiye kartilaj çekirdekleri üzerine kemik doku oluşumu yani endokondreal kemikleşmedir (Castillo ve ark., 2005; Kan ve ark., 2005; Buckwalter ve ark., 2007).

Remodeling evresi: Kemiğin yeniden şekillenme evresi oluşan primer kemiğin lameller kemikle yer değiştirmesi ve kırık uçlarının stabilizasyonu için oluşturulan eksternal kallusun rezorpsiyonundan oluşur. Bu evre proliferasyon evresinin ortalarında başlayıp 4-16 hafta sürerken, yıllar boyunca da devam edebilir (Soydan, 1985).

2.1.7. Diş Çekim Soketinin İyileşmesi

Çekim soketinin iyileşmesi soket içindeki boşluğun, alveoler kemiğin bir kısmının kaybıyla, tamamen kemikle dolması sürecidir. (Darby ve ark., 2008; Darby ve 2009). Çekim soketinin iyileşmesi hem yumuşak hem de sert dokuyu ilgilendiren karmaşık bir süreçtir ve özelleşmiş bir sekonder yara iyileşmesine örnektir (Güngör ve ark., 1985).

Dişin sokettenden uzaklaştırılmasının hemen ardından hemoraji oluşmaktadır. Plateletler ilk 24 saatte tüm soketi kaplayan bir kan pıhtısı oluştururlar (Irinakis, 2006;

Darby ve ark., 2008). Pıhtı; mezenşimal hücrelerle birlikte büyüme faktörlerinin hareketlerini yönlendiren fiziksel bir matriks gibi davranır. Nötrofiller, daha sonra da makrofajlar çekim boşluğuna gelerek bakteri ve doku artıklarını parçalarlar. Büyüme faktörleri ve sitokin salgılayarak mezenşimal hücrelerin pıhtı içine migrasyonunu sağlarlar (Irinakis, 2006). Çekimden sonraki 48-72 saatler içinde granülasyon dokusu soket tabanından koronale doğru pıhtı içine infiltre olmaya başlar (Irinakis, 2006; Darby ve ark., 2008). Soketin koronal kısmındaki granülasyon dokusu ağız içindeki enfeksiyöz materyallerin soket içine girmemesi için bariyer oluşturur (Cardaropoli ve ark., 2003). Dördüncü günde soket etrafında epitel proliferasyonu ve immatür bağ dokusu görülür. Çekimden 1 hafta sonra pıhtı tamamen granülasyon dokusu ile yer değiştirir (Darby ve ark., 2008). Çekimden 2 hafta sonra, çekim soketinin tabanında osteoid doku görülmeye başlanır ve çekimden 3-4 hafta sonra çekim soketi tamamen osteoid doku ile dolmuş olur. Normal radyografik kemik yoğunluğuna çekimden 100 gün sonra ulaşılır. Kemik hiçbir zaman komşu dişlerin alveol kemik seviyesine kadar dolmaz (Young ve Heath, 2000; Webb ve Tricker, 2000; Hollinger ve ark., 2004; Darby ve ark., 2008; Bilezikan ve ark., 2008; Darby ve ark., 2009).

2.1.8. Kemik İyileşmesinin Moleküler Mekanizması

Kırık iyileşmesi sırasında gerçekleşen biyolojik süreçler sinyal molekülleri tarafından organize edilir. Bu moleküller üç grupta incelenebilir.

Pro-İnflamatuvar Sitokinler: İnflamatuvar sitokinler, tamir sürecinin başlamasına öncülük ederler. Bu sitokinler yaralanmadan hemen sonra kısa bir süre için üretilir ve etki gösterirler. IL-1, IL-6 ve tümör nekrotizan faktör beta (TNF- β) inflamatuvar hücreleri uyararak, ekstrasellüler matriks sentezini artırarak ve anjiogenezi stimüle ederek onarımı hızlandırır (Kon ve ark., 2001). Bu moleküller kırık bölgesine makrofajlar ve inflamatuvar hücreler tarafından salınır. İlk 24 saat içinde pik yaparlar ve sonrasında üçüncü güne kadar hızlı bir şekilde fark edilemeyecek seviyeye inerler (Kon ve ark., 2001; Cho ve ark., 2002). IL-1 ve IL-6 seviyesi kemik remodelinginde sekonder kemik iyileşmesi sırasında artar. Endokondral kemikleşmenin bir dönemi olan kırıkta kallus rezorpsiyonu sırasında ise TNF- β salınımı artar. (Gerstenfeld ve ark., 2003a). TNF- β eksikliğinde kartilaj rezorpsiyonu gecikirken, diyabetik iyileşme gibi durumlarda

fazlalığında erken kartilaj rezorpsiyonu sonucu kemik iyileşmesinde bozulma olur. (Kayal ve ark., 2007).

Osteoklastogeneziste rol oynayan nükleer faktör-kappa B ligandı reseptör aktivatörü (RANKL), osteoprotegrin (OPG) ve makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) salınımı kırık oluşumundan hemen sonra ve mineralize kartilajın rezorpsiyon sürecinde artar. Sekonder kemik oluşumu ve remodeling sırasında RANKL, OPG ve M-CSF seviyeleri mineralize kartilajın rezorpsiyonunda artış gösterir (Gerstenfeld ve ark., 2003b).

Transforme Edici Büyüme Faktörü (TGF) Süper Ailesi Üyeleri:

TGF ailesinde TGF- β , BMP, büyüme farklılaşma faktörü (GDF), inhibin ve aktivin yer alır (Cho ve ark., 2002a).

Kemik Morfojenik Proteinleri: BMP'ler, kemik iyileşmesi döneminde mezenkimal hücreler, osteoklaslar ve kondrositler tarafından üretilirler. Kemotaksi, mezenkimal hücre proliferasyonu ve farklılaşması, anjiogenezis ve ekstrasellüler matriks sentezinde yer alırlar (Reddi, 2001).

Sıçanlarda kırık iyileşmesiyle ilgili yapılan çalışmalarda BMP-2'nin ilk 24 saatte pik yaptığı görülmüştür. Bu sonuç BMP-2'nin tamir sürecinin başlamasında rol oynadığını göstermektedir. İn vitro yapılan başka bir çalışmada ise BMP-2'nin salınımının engellenmesinin mezenşimal kök hücrelerin osteoblastlara dönüşümünü engellediği gösterilmiştir (Edgar ve ark. 2007).

BMP -3, -4, -7, -8 varlığı kalsifiye kırıkta rezorpsiyonu ve osteoblastik aktivitenin arttığı dönemle sınırlıdır. Ratlarda yapılan bir çalışmada BMP -5, -6'nın kırık iyileşmesinin 3. ve 21. günleri arasında salınımı bu moleküllerin hem endokondral hem de intramembranöz kemikleşmede rol aldıklarını göstermiştir (Cho ve ark., 2002). Cheng ve ark. (2003) BMP -2, -6, -9'un mezenkimal hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasında; diğer BMP'lerin ise osteoblast maturasyonunda rol aldığını öne sürmüşlerdir.

Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta: Degranüle trombositler tarafından yaralanmadan hemen sonra üretilmeleri kallus oluşumunda rol aldıklarını

düşündürmektedir (Bolander, 1992). Kırık iyileşmesinin geç dönemlerinde osteoblastlar ve kondrositler tarafından üretilirler ve hücrelerin proliferasyonunu hızlandırırlar (Lieberman ve ark., 2002). Endokondral kemik formasyonunda ve kondrogeneziste önemli rol oynarlar (Barnes ve ark., 1999). Ekstrasellüler matriks proteinlerinin salınımını indüklerler (Sandberg ve ark., 1993). Farelerde yapılan bir deneyde tip 2 kollajen salınımının arttığı 7. günde TGF- β 2 ve TGF- β 3'ün seviyesinin pik yaptığı fakat TGF- β 1 seviyesinin kırık iyileşmesince sabit kaldığı görülmüştür. TGF- β 2 ve TGF- β 3'ün kondrogenezisin ilk döneminde pik yapması kırık iyileşmesinde daha kritik bir rol oynadığını düşündürmektedir (Cho ve ark., 2002a).

Anjiogenik Faktörler ve Matrix Matelloproteinazlar

Anjiogenezisde rol alan iki farklı yol vardır (Suri ve ark., 1996).

1-) VEGF

2-) Anjiopietin mekanizması

VEGF'nin endokondral kemik oluşumu ve yeni damarlanmada önemli bir rol oynadığı ortaya koyulmuştur (Gerber ve ark., 1999 ; Street ve ark., 2002). Osteoblastların yüksek miktarda VEGF salgıladığı ve bu yüzden anjiogenezisin kırık iyileşmesindeki primer düzenleyicisi olduğu bilinmektedir. Birçok çalışma BMP'lerin VEGF salınımını indüklediğini göstermektedir. Bu durum iki aile arasındaki ilişkiyi ifade etmektedir (Yeh ve Lee, 1999 ; Deckers ve ark., 2002).

Vasküler morfogenezik protein olan anjiopietin'in iki farklı formu olan anjiopietin-1 ve anjiopietin-2, büyük damarların oluşumunda ve mevcut damarların kollateral dallarının gelişiminde etkindir. Kırık iyileşmesindeki rolü VEGF kadar net bir şekilde ortaya koyulamamıştır. Anjiopietin-1 salınımının kırık iyileşmesinin başlangıç döneminde artması, periosttaki damarların büyümesinin kırık iyileşmesi üzerine önemli rol aldığını göstermektedir (Lehmann ve ark., 2005).

Gerstenfeld ve ark. (2003b) yaptığı kırık iyileşmesinde anjiogenik düzenleyicilerin salınım miktarı ile ilgili çalışmasında en fazla salınan faktörlerin anjiopietin-2, epitelyal pigment faktörü (PEDF), pleiotrofin, Tie-1 ve vasküler büyüme endotelyal büyüme inhibitörü olduğunu göstermişlerdir. Kırık iyileşmesi sırasında saptanan VEGF gen ailesi üyeleri VEGF-D, VEGF-A ve VEGF-C dir. Bu faktörler

endokondral kemikleşmede kartilaj dokunun kalsifikasyonunun geç döneminde, rezorpsiyon başlamak üzereyken, pik noktaya çıkarlar. Kondrositlerden yapılan TNF- β salınımı anjiopietin ve VEGF salınımını düzenleyici etki göstererek kartilajın devaskularizasyonunu kontrol ederler (Al Aql ve ark., 2008).

Matrix Metalloproteinazlar

Endokondral kemikleşme ve yeniden şekillenme aşamaları sırasında, matrix metalloproteinazlar (MMP'ler), hücre dışı kıkırdak ve kemik matriksini yıkarak, yeni oluşturulan kemiğin vasküler invazyonuna olanak sağlar. MMP ailesi üyeleri ve metalloproteinazların doku inhibitörleri olan düzenleyicileri arasındaki dengesizlikler kemik iyileşmesini bozan moleküler patogenez içinde sayılmaktadırlar (Zi-chuan ve ark., 2018).

MMP-13 fonksiyonu bozulmuş farelerde, iyileşme kallusuna kondroklast alımı bozulur, bu nedenle kıkırdak rezorpsiyonu yavaşlar. Benzer bir fenomen MMP-9 fonksiyonu bozulmuş farelerde de gözlenmiştir, yıkımı yavaşlayan inatçı kıkırdak, yeni üretilen kemiğe vasküler penetrasyonu engellemiştir. MMP-13 ve MMP-9 fonksiyonu bozulmuş farelerin aksine, MMP-2 fonksiyonu baskılanmış fareler, kondroklast fonksiyonunda veya kıkırdak rezorpsiyonunda hiçbir kusur sergilemez. Bu bulgular MMP-13 ve MMP-9'un hem kıkırdak hem de kemik remodelasyonunu etkilediğini gösterirken, MMP-2, kallustaki yeni kemiğin yeniden biçimlenmesini geciktirmektedir (Zi-chuan ve ark., 2018).

2.1.9. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Hastaya bağlı faktörler

Non steroid antiinflamatuar ilaçlar (NSAID)

Selektif olarak siklooksijenaz-2 (COX-2) yolunu inhibe ederek inflamatuvar yanıtın baskılanmasını sağlayan NSAID'ler kırık onarımının inflamatuvar safhasında sentezlenen; hücre göçü ve farklılaşmasında etkili prostaglandinlerin (PGE-2 gibi) sentezini azaltmaktadır.

Yapılan araştırmalarda COX-2 engelli farelerde normale göre gecikmiş kemik iyileşmesi gözlenmiştir. Ayrıca kaynaşmamış bölgelerde farklılaşmamış MSC'ler görülmüştür. COX-2 engelli farelerin kemik iliğinden elde edilen mezenşimal

hücrelerden osteoblast oluşumunu incelemek için yapılan in vitro bir deneyde; PGE₂ veya BMP ilavesinin kontrol grubuna göre çalışma gruplarında osteoblastogenezisi stimüle ettiği gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2002).

Klinik çalışmalarda, kırık oluşumundan hemen sonra NSAID alan hastalarda kırık iyileşmesinde yavaşlama veya nonunion gözlenmiştir (Dimitriou ve ark., 2005; Kwong ve Harris, 2008).

Janssen ve ark. (2017) yapmış oldukları bir hayvan çalışmasında NSAID alımının gecikmiş kemik kırığı iyileşmesi, büyüme plak gelişiminde değişiklikler ve mineralizasyon progresyonu yaptığını; buna ek olarak, ektopik olarak indüklenen kırık dokusunun kondrojenik farklılaşmasının ciddi şekilde bozulduğunu; sonuç olarak, kırık iyileşmesinde NSAID alımının endokondral ossifikasyonun kondrojenik fazını bozduğunu bulmuşlardır.

Sigara Kullanımı

Nikotin, vazokonstriksiyon ve hücrel iyileşme bozukluğu yaparak osteogenezisi bozar. Hem hayvan hem de klinik olarak yapılan çalışmalarda nikotinin kartilaj farklılaşmasını yavaşlatarak kemik iyileşmesinde gecikmeye sebep olduğu bulunmuştur. Açık tibia kırıklarında sigara kullanan bireylerin kırık kaynaşmama olasılığının %37 daha yüksek olduğu bulunmuştur (Castillo ve ark., 2005). Ayrıca açık tibia kırıklarında kırık iyileşmesinde sigara kullanımının kırık iyileşmesini 4 hafta kadar geciktirdiği bulunmuştur (Dimitriou ve ark., 2005; Kwong ve Harris, 2008).

Ratlar üzerinde pasif sigara içiminin femur fraktürü üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; tütün dumanına maruz bırakılan ratlarda, azalmış olgunluk, yoğunluk ve mekanik direnç ile karakterize olan kallus ve gecikmiş kırık iyileşmesi göstermiştir (Santiago ve ark., 2017).

İn vitro osteogenezis ve in vivo osteoindüksiyon açısından nikotin ve rekombinant insan kemik morfogenetik proteini 2 (rhBMP-2) arasındaki etkileşimi araştıran bir çalışmada; nikotinin rhBMP-2'nin in vitro uyarıcı etkisini inhibe etmediğini, ancak yüksek miktarda nikotinin in vivo olarak VEGF taşıyan hücre sayısını azaltıp vaskülarizasyonu olumsuz etkileyerek kemik oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Tamura ve ark., 2014).

Yaş

Yaşla beraber vücut metabolizma hızının düşmesi, hormonal değişiklikler ve seyreden kronik rahatsızlıklar yaşlılarda kırık iyileşmesinin uzamasını ve/veya bozulmasını sağlamaktadır. Yaşlı hastalarda kırık oluşuma sebep olabilecek çok sayıda faktör olmasına rağmen yaş, kırık iyileşmesini geciktiren bağımsız bir faktördür. Ratlarda yapılan çalışmalarda, yaşlı ratlarda BMP-2 inhibitörü seviyesinin değişmemesine rağmen BMP-2 salınımında azalma olduğu gösterilmiştir (Kwong ve Harris, 2008).

Diyabet

Kemik iyileşmesi genellikle skarlaşma olmaksızın olur. Bununla birlikte; diabetes mellitus gibi hastalıklar, vücudun dış etkenlere karşı verdiği cevapların bozulmasına neden olurlar. TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-18 dahil pro-inflamatuar mediatörler diabetes mellitusta lokal olarak artar ve diyabetik komplikasyonlara katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Şeker hastaları, bir kez indüklenmiş inflamasyonun aşağı regülasyonunda güçlük çekerler (Hongli ve ark., 2015). Artmış TNF seviyeleri diyabetiklerin diğer inflamatuvar genleri aşağı regüle etme kapasitesini sınırlar ve diyabetik hayvanlardaki kemik remodelingini azalttığı gösterilen apoptozis artırabilir (Pacios ve ark., 2013)

Diyabetik hastalarda kırıkların iyileşmesi % 87 oranında uzar (Loder, 1988) ve union, nonunion, yeniden yerleşim veya psödoartroz gibi komplikasyonlar açısından 3-4 kat daha yüksek bir riski vardır (Folk ve ark., 1999;). Kendiliğinden diyabetik olan hayvanlar üzerinde yapılmış bir çalışmada, diyabetik kırık iyileşmesinin azalmış kemik apozisyonu ve mineralizasyonu ile karakterize olduğu ortaya çıkmıştır (Follak ve ark., 2005). Kemik kırığı iyileşmesinin onarım evresi, periosteal prekürsör hücrelerin proliferasyonu ve kondroblastik diferansiyasyonu ile başlatılır ve yaralı kemik çevresinde hiyalin kırıkta kallus oluşur. Kırıkta hücrelerinin apoptozisindeki dengesizlikler, kırıkta erken çıkarılması, düşük osteoblast farklılaşması, fonksiyonu ve vaskülarizasyon değişikliklerinin kırıkta kemiğe dönüşümünü etkilediği gösterilmiştir (Bahney ve ark., 2015). Anormal osteoklast aktivitesi osseöz kallusun yeniden biçimlenmesini bozmaktadır (Kayal ve ark., 2010). İnsülin yetersizliği, hiperglisemi ve oksidatif stresin, Tip 1DM ve Tip 2DM'de kırık iyileşmesini etkileyen

mekanizmalar olduğu öne sürülmüştür. Diyabetik hastalarda osteoblast farklılaşmasının azalması indirekt olarak osteoklast aktivitesini artırabilir ve kondrositlerin ve osteoblastların apoptozunu değiştirebilir (Sheweita ve Kholshhal, 2007; Botushanov ve Orbetzova, 2009; Kayal ve ark., 2010; Stolzing ve ark., 2010).

Aynı zamanda, tip 1 diyabette osteoprogenitor hücrelerin eksikliği ortaya koyulmuştur(Beam ve ark., 2002; Tyndall ve ark., 2003). Nedenleri büyük oranda bilinmemekle birlikte, önemli büyüme faktörlerinin ekspresyonunun sistemik diabetes mellitus ile azaldığı görülmüştür(Gandhi ve ark., 2006, Behr ve ark., 2010; 2011). Diyabetik fare kökenli unikortikal tibia defekti modelinde Fibroblast Büyüme Faktörü 9'un (FGF-9) ve Vasküler Endotel Büyüme Faktörünün (VEGF) lokal olarak ilave edilmesi, diyabetik kontrol grubu hayvanlarıyla karşılaştırıldığında kemik rejenerasyonunun, anjiyogenezisin, proliferasyonun ve osteojenik farklılaşmanın önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (Wallner ve ark., 2015).

Bifosfonatlar

Post-menopozal osteoporozis, paget hastalığı gibi kemik metabolizma hastalıklarında ve multipl miyelom, meme ve prostat kanserlerinin kemik metastazlarının önlenmesinde kullanılan; osteoklast fonksiyonunu bozarak kemik remodelinginin ve modelinginin inhibe edilmesi yoluyla etki eden anti-rezobtif ve anti-tümörosidal ilaçlardır (Sharma ve ark., 2013). Osteoklast fonksiyonunu bozduğu için kırık iyileşmesinin endokondral iyileşmede kartilaj rezorbsiyonu safhasında bozulmaya sebep olurlar (Dimitriou ve ark., 2005). Yaptığımız deneysel çalışmada bir bifosfanat türü olan zoledronik asitin bir sekonder kemik iyileşmesi türü olan diş çekim soketi iyileşmesi üzerine olan etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

2.2. BİFOSFONATLAR

2.2.1. Bifosfonatların Tarihçesi

Bifosfonatlar; paget hastalığı, multiple miyelom, osteoporoz gibi kalsiyum metabolizması hastalıklarında kullanılan anti-osteoklastik ve antirezorbtif etkilere sahip bir grup farmakolojik ajandır. Alman kimyager Menshutkin tarafından sentezlenmiş ve ilk olarak 1895'te endüstride boru hattı üzerine Ca^{++} tuzlarının çökmesini engellemekte kullanılmıştır (Menschutkin, 1865; Gomez ve ark., 2008). Bifosfonatların in vitro olarak anti-rezorbtif etkilerinin olduğu 1968 yılında Fleisch tarafından ortaya koyulmasının ardından; bifosfonatlar böbrek taşlarının oluşumunu engellemek üzere kullanılmaya başlanmıştır. 1971 yılında iskelet ve kalsiyum metabolizması üzerine etkinliği gösterilen etidronat ilk kez paget hastalığının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Smith ve Russell, 1971). Kemik taramalarında tanı amaçlı olarak teknyum-99 gibi radyoizotoplarla kullanılan bifosfonatlar; kalsiyum tuzlarının çökmesine engel olan kimyasal etkinliklerinden dolayı diş macunlarının içine anti-tartar özellik kazandırmak için koyulmuşlardır (Fogelman ve ark., 1978; Blomen ve ark., 1995).

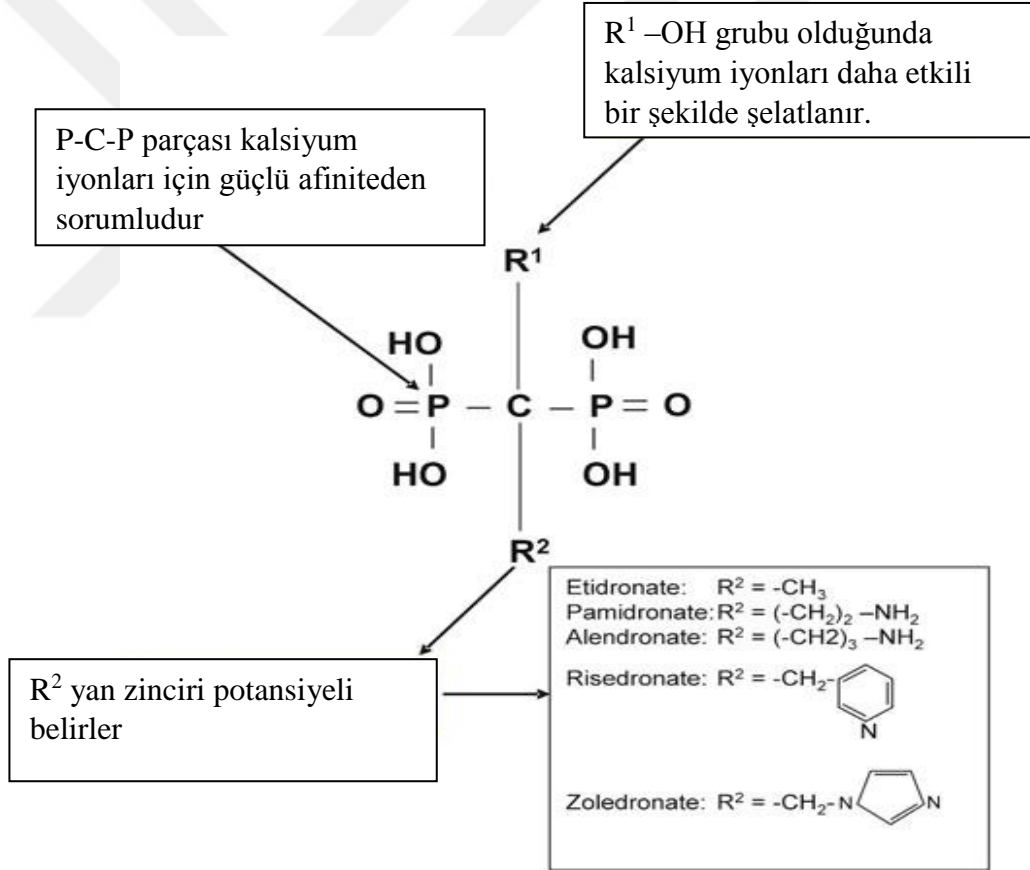
1995 yılında nitrojen içerikli pamidronat FDA onayı alarak osteolitik metastaz, hiperkalsemi, multiple myelom gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Aynı yıl içinde alendronat ve 2001 yılında ise risedronat FDA onayı alarak medikal tedavilerde yerlerini almışlardır (Russell, 2011). En güçlü nitrojen içerikli bifosfonat olan zoledronat ise FDA onayı aldığı 2001 yılından beri önce maligniteye bağlı hiperkalsemi tedavisinde kullanılmış daha sonra ise antineoplastik ajan olarak multiple myelom ve kemik metastazı olan tümörlerin tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Russell, 2011).

2.2.2. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı

Bifosfonatlar, hidrolize edilemeyen sentetik pirofosfatların sabit analoglarıdır. Temel olarak bifosfonatlar sentetik pirofosfatlar içindeki oksijen atomunun (P-O-P), karbon atomu ile (P-C-P) yer değiştirmesiyle oluşurlar (Rodan ve Reszka, 2002) (şekil 4). Her iki bileşiminde hidroksiapatit kristallerine karşı yüksek afinitesi vardır (Rodan ve

Fleisch, 2006). Bifosfonatlar hidroksiapatit kristallerinin çözülmesini engelleyerek antirezorbtif etki gösterirler. Bifosfonat ajanın hidroksiapatite bağlanarak hidrolize dirençli hale gelmesinden dolayı ajanın kemikteki yarılanma ömrü yaklaşık 10 yıl kadardır (Owen ve ark., 2007; Marx ve ark., 2008).

Bifosfonatların karbon atomları üzerine, yan zincirlerin bağlanması veya fosfat gruplarının esterleşmesi ile değişik bifosfonat ajanları oluşturulabilmektedir. Bifosfonatların biyolojik etkinlikleri karbon atomu üzerindeki iki yan zincirin değiştirilmesi ile değiştirilebilir. Karbon atomu üzerindeki R₁ yan zinciri molekülün kalsiyum kristal afinitesini etkilerken; R₂ yan zinciri molekülün hücresel düzeydeki antirezorbtif potansiyelini ve etkinliğini değiştirir (Papapoulos, 2008). Her bir bifosfonat kendine özgü yan zinciri sayesinde kendine özgü etkinliğe sahiptir (şekil 4).



Şekil 4. Bifosfonatların kimyasal yapısı (Giorgio Iannetti, Bisphosphonates and Osteonecrosis of the Jaw: A Multidisciplinary Approach, 2012)

Klasik olarak bifosfonatlar R₂ yan zincirleri içinde nitrojen atomunun bulunup bulunmamasına göre nitrojen içeren bifosfonatlar ve nitrojen içermeyen bifosfonatlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Ancak Russell ve ark. (2008) nitrojen içeren bifosfonatları alkil-amino bifosfonatlar ve heterosiklik bifosfonatlar olmak üzere ikiye ayırmışlardır (Tablo 1).

Tablo -1. Bifosfonatların sınıflandırılması ve etki şekli (Sharma ve ark., 2013)

Jenerasyon	Tip	Örnek	Etki şekli
Birinci kuşak	NNBP	Etidronat Clodronat Tiludronat	Osteoklast fonksiyonunu bozan bir ATP türevi oluşturur ve osteoklastik apoptozu indükler
İkinci kuşak	Alkil-amino NBP	Pamidronat Alendronat Ibandronat Olpadronat	Farnesil pirofosfat sentaz (FPPS) enzimini inhibe ederek mevalonat yolu vasıtasıyla sterol sentezini inhibe eder
Üçüncü kuşak	Heterosiklik NBP	Risedronat Zoledronat	FPP enzimi inhibe eder ve yapısal değişiklikleri stabilize eder

2.2.3. Bifosfonatların Farmakolojik Özellikleri

2.2.3.1. Farmakokinetik Özellikleri

Bifosfonatlar yağda çözünmedikleri için oral yoldan alındıklarında %1'i emilir. Geri kalanı ise hızla böbreklerden atılır. Plazmaya geçebilen dozun kemiklere bağlanma oranı her ajan için farklıdır. Bifosfonatlar serbest minerallere de yüksek afinite gösterirler. Eğer ajan alınımıyla beraber diyetle Ca alınırsa; plazmadaki bifosfonat kalsiyuma bağlanır ve kemiklere geçemez böbrekler yoluyla dışarı atılır (Kayaalp 2002; Kimmel 2007). Plazmadaki bifosfonat ajanların kemiklere tutunma oranı; klodronat için %20 iken, etidronat için %50, alendronat, pamidronat ve zoledronat için daha fazladır (Leu ve ark., 2006). Bifosfonatların dolaşımdaki yarılanma ömrü kısa olup 30

dk- 2 saat arasındadır; ancak kemiğe tutunduklarında yarı ömürleri 10-12 yıldır (Bryson ve ark., 2009).

Bifosfonatlar kimyasal ve enzimatik hidrolize dayanıklıdır. Fosfat kristallerine yüksek afinite ile bağlanırlar; böylece kristalin büyümesini, kümelenmesini (agregasyonunu) ve çözünmesini inhibe ederler. İn vivo ve in vitro olarak osteoklastların kemik rezorpsiyonunu inhibe ettikleri gösterilmiştir. Kemiğin hidroksiapatit kristaline bağlanırlar ve osteoklastların bifosfonat içeren hidroksiapatit kristallerini fagosite etmelerini ve metabolik etkinliklerini inhibe ederek daha fazla kemik rezorbe etmelerini önlerler (Kayaalp, 2002).

Günümüzde bifosfonatların rezorpsiyonu inhibe etme özelliklerinin pirofosfat benzeri kimyasal yapılarından dolayı mineral içeriğe bağlanmalarından ziyade enzim aktivitesini bozmasından kaynaklandığı bilinmektedir. (Papapoulos 2006, Russell 2006).

Nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonatların metabolizmaları ve atılımları farklılık gösterir. Nitrojen içermeyen bifosfonatlar hidrolize edilemeyen, sitotoksik adenozin trifosfat (ATP)'ın analoglarına metabolize edilirler. Nitrojen içeren bifosfonatlar ise metabolize olmazlar; doğrudan kemiğe bağlanırlar. Bağlanmayan ajanlar ise böbrekler yoluyla atılırlar (Cremers ve Papapoulos, 2011; Papapoulos, 2006; Russell 2011).

2.2.3.2. Farmakodinamik Özellikleri

Bifosfonatların temel biyolojik etkileri kemik rezorpsiyonunu ve remodelingini inhibe etmeleridir. Bunu osteoklast fonksiyonunu bozarak yaparlar (Marx ve ark., 2005).

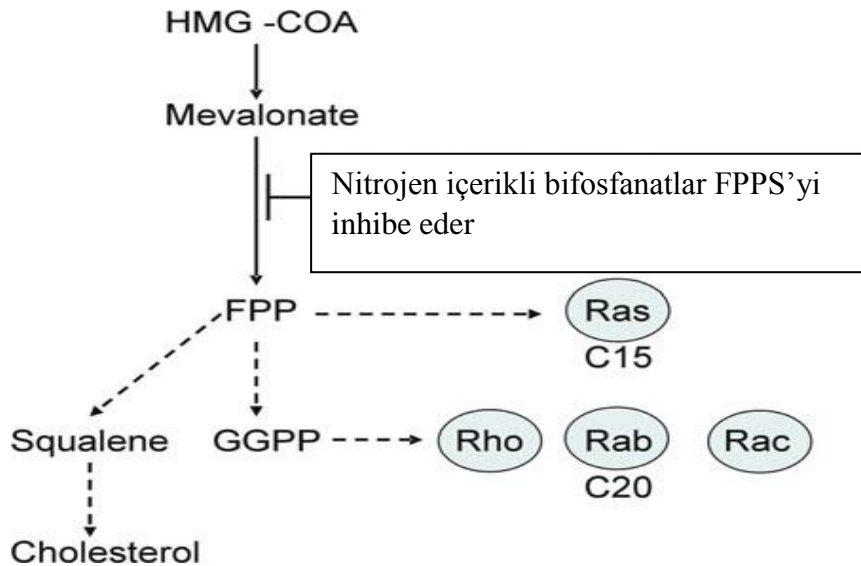
Bifosfonatların kemik metabolizması üzerine etkileri dokusal, hücrel ve moleküler düzeyde incelenmektedir.

Doku düzeyinde tüm bifosfonatların kemik turn over'ı üzerine inhibe edici özelliği olduğu bilinmektedir (Kayaalp, 2002).

Hücrel düzeyde ise primer olarak osteoklast fonksiyonunu bozmakla beraber osteoblastlar ve osteositler üzerine de etkisi olduğu bilinmektedir (Rodan ve Fleisch, 1996; Plotkin ve ark., 1999; Plotkin ve ark., 2005; Follet ve ark., 2007; Allen ve Burr, 2008; Allen ve ark., 2008). Bu etki kemik rezorpsiyon ve formasyonu arasındaki

ilişkiden kaynaklanmaktadır. Kemik rezorbsiyonunun baskılanması; kemik yapım alanlarında etkilenmemiş osteoblastların varlığının gösterilmesine karşın kemik formasyonundaki azalmayla olmaktadır. Bu durum; bifosfonat ajanın osteoblastlar üzerine indirekt etkisini ispatlamaktadır (Boyce ve ark., 1995; Eriksen ve ark., 2002).

Moleküler düzeyde nitrojen içermeyen bifosfonatlar kemik matriksinde birikirler ve kemik rezorbsiyonu esnasında serbestleşirler. Serbestleşen bifosfonatları osteoklastlar fagosite ederler ve hidrolize edilemeyen, metilen içerikli sitotoksik ATP analogu olan AppCCl₂P'ye metabolize edilirler (Frith ve ark., 1997). ATP'nin toksik analogları osteoklast içinde birikir ve yüksek konsantrasyona ulaştığında ATP bağımlı adenin nükleotid translokaz enzimini inhibe ederek mitokondrial membran potansiyelinin kaybına ve apoptoza sebep olur (Frith ve ark., 1997). Bifosfonatların kemiğe olan yüksek afinitesi ve kemik remodelingi esnasında salınması metabolitlerin sitotoksik konsantrasyonlarının osteoklastlar içinde birikmesini sağlar. Nitrojen içeren bifosfonatlarda ise bifosfonat fagosite edildikten sonra serumda kolesterol oluşmasını sağlayan yolak üzerindeki mevalonat'ın oluşumunu farnesil-profosfat'ın (FPP) oluşmasını engelleyerek baskılar (şekil 5). FPP aynı zamanda FPP sentaz, Rab, Rac, Ras ve Rho gibi küçük GTPaz'ların prenilasyonunu stimüle eder (Magnin ve ark., 1995; Luckman ve ark., 1998a; Luckman ve ark., 1998b).



Şekil 5. Nitrojen içerikli bifosfonatların etki mekanizması (Giorgio Iannetti, Bisphosphonates and Osteonecrosis of the Jaw: A Multidisciplinary Approach, 2012)

Bifosfonatların R grubu içindeki varyasyonları (alkil veya heterosiklik olmaları) ajanın FPP üzerine etkinliğini büyük ölçüde değiştirir (van Beek ve ark., 1998, 1999; Dunford ve ark., 2001, Szabo ve ark., 2002 Sanders ve ark., 2003, 2005). Yapılan araştırmalara göre en yüksek FPP sentaz inhibisyonu gücü zoledronik asittir. Bunu sırasıyla risedronat ve ibandronat takip eder (Green ve ark., 1994).

Küçük GTPaz'lar osteoklast fonksiyonunda morfoloji, sitoskeletal düzenlenme, veziküler taşıma ve hücre kenarı kıvrımlılığı gibi bazı yapısal özelliklerin ve süreçlerin pozitif regülatif aktivasyonunda önemli olan sinyal proteinleridir (Alakangas ve ark., 2002; Pavlos ve ark., 2005). Veziküler taşıma, kemik rezorbsiyonunda kullanılan enzimlerin konsantrasyonundan ve transportundan sorumludur. Kollajenin demineralizasyonu ve ardından kollajenöz matriksin çözülmesiyle oluşan kemik rezorbsiyonu; osteoklastların kıvrımlı veya fırçamsı kenarlarında oluşur (Mulari ve ark., 2003). Osteoklast içinde membranla tamamen ayrılmış kıvrımlı kenar, hücre ve kemik yüzeyi arasında asidite bir alan oluşturur. Veziküler taşıma ve membran kıvrımlılığı inhibe olduğunda kemik rezorbsiyonunu kolaylaştıran bu özellikler de azalmış olur. Ayrıca mononükleer fagositlerin; TRAP-positif (tartrat-resistan asit fosfataz/ tartrate-resistant acid phosphanate) pre-osteoklastlara erken differansiasyonlarında Rho ve Rac'ın geranilgeranilasyonu gerekmektedir (Zhang ve ar., 1995; Coxon ve ark., 2005; Wao ve ark. 2005). Rho ve Rac, 100 µM bifosfonat konsantrasyonu olsa dahi apoptazisi regüle edebilmektedir (Stark ve ark.,1998; Suri ve ark., 2001; Fujita ve ark., 2005).

Sonuç olarak; temel biyolojik buluşlar osteoklastlardaki FPP sentaz inhibisyonunun doza bağımlı olarak kemik rezorbsiyonunu 3 şekilde azalttığını göstermişlerdir. Düşük konsantrasyonlarda; kemik mineral çözülmesi ve kollajen bozulmasını sağlayan hücre sitoskeletal yapı, veziküler taşıma ve membran kıvrımlılığını içeren fonksiyonel aktiviteler inhibe edilirken; göreceli olarak daha yüksek konsantrasyonlarda osteoklast diferansiyasyonu engellenir ve 100 µM'nin üzerindeki bifofonat konsantrasyonlarında ise osteoklast apoptozisi ortaya çıkar (Kimmel, 2007).

2.2.4. Endikasyonları

Bifosfonatlar sahip oldukları antirezorptif özellikleri ve kemik turn overını düşürme yeteneklerinden dolayı osteoporoz, paget hastalığı gibi kemik metabolizma hastalıkları, maligniteye bağlı hiperkalsemi ve multiple myelom, meme ve prostat kanserlerinin kemik metastazlarının engellenmesinde kullanılırlar (Fleisch, 1998; Hillner ve ark., 2000; Petcu ve ark., 2002; Reid ve ark., 2005). Bifosfonatların bu hastalıkların tedavisinde kullanılmalarına neden olan 3 farklı özellikleri vardır (Tablo 2).

Tablo-2. Bifosfonatların potansiyelleri, uygulama şekilleri ve endikasyonları/NNBP: non-nitrojen bifosfonat/ NBP:nitrojenli bifosfonat (Sharma ve ark., 2013)

Bifosfanat tipi	Potansiyeli	Uygulama şekli	Ana Endikasyonu
NNBP			
Etidronat	1	Oral	Osteoporoz, Paget hastalığı
Klodronat	10	Oral/ IV	Osteoporoz, Paget hastalığı
Tiludronat	10	Oral	Paget hastalığı
NBP			
Pamidronat	100	IV	Meme kanseri ve multibl miyelomun osteolitik kemik metastazları, Paget hastalığı
Alendronat	500	Oral	Osteoporoz, Paget hastalığı
İbandronat	1000	Oral / IV	Osteoporoz
Risedronat	2000	Oral / IV	Osteoporoz, Paget hastalığı, multibl miyelomun osteolitik lezyonları, malignensiye bağlı hiperkalsemi
Zoledronat	10000	IV	Multiple miyelomun osteolitik lezyonları ve solid tümörlerin metastazları, malignensiye bağlı hiperkalsemi

1. Antirezorbtif Etkileri: Bifosfonat grubu ilaçların en önemli ve baskın özelliği olan antirezorbtif etkileri doza ve kemik turn over hızına bağlı olarak değişir. Oral olarak alınan bifosfonatlar kemik rezorbsiyonunu bir ayda %50, üç ayda ise %50-70 seviyesinde baskılar. Bu da post-menopozal kadınların kemik turn over hızını pre-menopozal kadınların kemik turn over hızı seviyesine getirir ve 1 yıllık tedaviden sonra turn over hızı sabitlenir (Chesnut ve ark., 1995; Miller ve ark., 2005).

Yetişkinlik dönemi düşük kemik yoğunluğunun % 60-70 kadarı genetik geçiş gösterir; osteoporozlu hastalarda kemik mineral yoğunluğu (BMD) hücre düzeyinde önemli ölçüde düşüktür (Garnero ve ark., 2000; Giguere ve Rousseau 2000; Recker ve Dong 2002). Post-menopozal dönemde alınan bifosfonat tedavisi BMD seviyesini henüz tam açıklanamayan bir mekanizmayla yükseltir. BMD'deki yükselme osteoporozdan kaynaklanan vertebra kırık riskini azaltır (Wasnich ve Miller, 2000). Günde bir kez alınan oral alendronat, risedronat ve ibandronat omurga kırığı riskini önemli ölçüde azaltır (Reginster ve ark., 2000; McClung ve ark., 2001; Reginster 2005). Yılda 1 kere 5 mg intravenöz olarak verilen zoledronik asit ve oral aledronat (10 mg/gün) kalça kırığı riskini %40-51 arasında düşürür (Black ve ark., 2007).

2. Antitümör Etkileri: Bifosfonatlar, osteoklastların kemik rezorbsiyonunu ve osteoklastogenezisi inhibe ederek kemiği tümör hücrelerinin büyümesi için daha az elverişli bir hale getirir ve kemikte tümörün büyümesini stimüle eden ILGF-1 (insülin-benzeri büyüme faktörü-1), ILGF-2, BMP gibi büyüme faktörlerinin salınımını azaltır. Buna ek olarak, doğrudan tümör hücrelerinin büyümesini, hayatta kalmasını ve tümör hücrelerinin kemiğe kolonize olmasını engeller (Green, 2004; Korpal ve ark., 2009; Zekri ve ark., 2014). Hem nitrojenli bifosfonatlar hem de nitrojen içermeyen bifosfonatlar kaspaz aktivasyonu ile osteoklastlar ve tümör hücrelerinin apoptozisini indükler (Benford ve ark., 2001; Tassone ve ark., 2003; Zwolak ve ark., 2010). Mitokondrial ATP/ADP translokazını bozan ATP analoglarının üretimi, apoptozisi indükleyen mekanizmalardan biridir. Zoledronik asitin insan meme kanseri hücre kültüründe (MDA-MB-231 ve MCF-7) apoptoza neden olan mekanizmasını araştıran bir çalışmada; apoptozisin mitokondrilerden sitokrom C serbest bırakılması ile

sonrasında kaspaz-3 aktivasyonu sonucu olduğu gösterilmiştir (Senaratne ve ark., 2002). Bifosfonatlar sitokrom C'nin serbestleşmesini, önemli bir apoptotik düzenleyici proteini olan, Bcl-2'nin salınımını azaltarak sağlamaktadır (Senaratne ve ark., 2002). Bifosfonatların aynı zamanda ECM proteinlerine tümör hücrelerinin adezyonunu ve bu hücrelerin invazyon ve metastazını engellediği gösterilmiştir (Magnetto ve ark., 1999). Bifosfonatların prostat kanserinin kemik metastazı üzerindeki baskılayıcı etkisinin altındaki mekanizmaları anlamaya yönelik yapılan bir çalışmada; nitrojen içeren bisfosfonatların prostat kanseri PC-3 hücrelerinde apoptozu indüklediği ve invazyonu engellediği bulunmuştur. Mevalonat yolağının inhibisyonu yoluyla protein prenilasyonunun bastırılmasından kaynaklı olarak; bisfosfonatlarla ön-tedavinin, antikanser ilaçlar tarafından uyarılan hücre ölümünü arttırdığı ve nitrojen içeren bifosfonatlar ile tedavi edildiğinde, apoptoz veya invazyon ile ilgili faktörlerin (bcl-2, protein kinaz C (PKC), aminopeptidaz-N (AP-N) ve ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (uPA)) ekspresyonunu azaltmıştır (Yakugaku, 2012). Boisser ve ark. (2000) MatrigelTM kullanarak yaptıkları in vitro deneylerde; bifosfanatın insan göğüs ve prostat kanser hücrelerinin ECM'ye olan invazyon yeteneğini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bifosfanatların tümör hücre kültürü tarafından üretilen MMP'lerin aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Hekkila ve ark., 2002). Bir çalışmada zoledronik asitin PC-3 hücreleri tarafından MMP-2 ve MMP-9 üretimini engellediği gösterilmiştir (Corey ve ark., 2003). Bu veriler kemiğin tümör hücreleri tarafından istilasının nasıl inhibe edildiği hakkında fikir verirken; bu etkinin protein prenilasyonu ile ilişkisini tam olarak aydınlatamamıştır.

Tümör hücrelerinin ECM proteinlerine adezyonunun ve invazyonunun engellenmesinde protein prenilasyonu inhibisyonu sürecini aydınlatmak için araştırmalar yapılmıştır. Pickering ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada zoledronik asitin, doza bağlı olarak, MCF-7, MDA-MB-231 hücrelerinin matriks proteinlerine adezyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu inhibisyon, farnesol, geranilgeraniol ya da geniş spektrumlu bir kaspaz inhibitörünün ortama eklenmesiyle ortadan kalkmıştır. Benzer bulgular alendronat için de rapor edilmiştir. Alendronat için yapılan bir çalışmada hücrelerin invazyon üzerine olan inhibitör etkisi geranilgeraniol ve trans-trans-farnesol ilavesi ile bozulmuştur (Virtanen ve ark., 2002). Bu araştırmalar, mevalonat yolunun inhibisyonu ve kaspaz aktivitesinin indüksiyonunun, nitrojenli

bifosfonatların tümör hücrelerinin ECM'ye adezyonunun ve invazyonunun üzerine olan etkisinin temelini oluşturduğunu göstermişlerdir.

Ras mutasyonunun, tümörün normal meme epitel hücrelerinin ekstraselüler matriksine adezyon ve invazyonu artırdığı görülmüştür. Bu durum Ras aktivasyonunun meme kanseri tümör hücrelerinin metastatik potansiyelini artırdığını düşündürmüştür (Pickering ve ark., 2003). Sonuç olarak nitrojen içeren en güçlü bifosfonat olan zoledronik asitin, protein prenilasyonu ve Ras sinyalizasyonunu inhibe ederek tümör hücrelerinin metastatik potansiyelini azalttığı bilinmektedir.

3. Anti-Anjiogenik Etkileri: Anjiogenezis, solid tümörlerin büyümesi ve metastazı için oldukça önemlidir (Folkman, 1971). Malign tümörlerde yeni damarların oluşturulması tümör hücrelerinin kendi salgıladığı moleküller, VEGF ve bFGF gibi endojenöz pro-anjiogenik faktörlerin bulunduğu karmaşık bir ağ tarafından yönetilir ve düzenlenir. Dolayısıyla, anjiyogenezisin inhibisyonu malign tümörlerin tedavisinde umut vaadeden bir stratejidir. Birkaç araştırmacı nitrojenli bifosfonatların anjiogenezisi baskıladığını göstermişlerdir (Fournier ve ark., 2002; Hamma- Kourbali ve ark., 2003; Clezardin ve ark 2005). Bu baskılanma sadece mekanizma tabanlı olmamakla beraber endotelial hücre adezyonu, migrasyon ve canlılığını da içermektedir (Hasmim ve ark., 2007). Zoledronik asitin insan periferik kan mononükleer hücre kültüründe hücrelerin endotelial progenitör hücrelere farklılaşmasını engellediğini gösteren çalışmalar vardır (Yamada ve ark., 2009). Ön deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan pre-klinik anjiogenezis modeli olan tavuk embriyosu korioallantoik membranı ya da insan umbilikal kord endotelial hücreleri (HUVECs) ile yapılan çalışmalarda; kemik ve renal doku yan etkileri dikkate alınmadığında proliferen olan kan damarları bölgesinde yüksek bifosfonat konsantrasyonuna ulaşılabilir. Genellikle 10 µM veya daha yüksek olan etkili konsantrasyona, iskeletsel olmayan bir dokuda in vivo olarak ulaşmak çok zordur. Bu bilgiler ışığında; anjiogenezisin aktif olduğu bölgede etkili konsantrasyona ulaşıldığında, nitrojenli bifosfonatların FPP sentaz inhibisyonuna benzer bir şekilde etki ettiği düşünülmektedir (Kimmel, 2007). Yapılan başka bir çalışmada HUVEC ve endotelial progenitör hücrelerin sayısının bifosfonat verilmeyen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; bifosfanatların verilmesinden sonra önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Klodronat ve ibandronatın engelleyici etkisi nitrojen içeren pamidronat ve

zoledronata göre daha az bulunmuştur (Ziebart ve ark., 2011). Nitrojen içeren bifosfonatların anjiogenezisi direkt etki ile inhibe ettiğine dair bazı ip uçları vardır. Santini ve ark. (2007), zoledronik asitle tedavi edilen kemik metastazlı kanser hastalarında sirküle olan VEGF seviyesinin azalmış olduğunu göstermişlerdir. VEGF seviyesindeki bu düşüşün SREs'deki (skeletal-related events/ iskeletle ilişkili olaylar) azalma ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (Vincenzi ve ark., 2005).

2.2.5. Bifosfonatların Kontrendikasyonları

Bifosfonatların hamilelerde, emziren kadınlarda ve aminoglikozid grubu antibiyotik kullanan hastalarda hipokalsemi gelişme riskinden dolayı kullanımı kontrendikedir.

Renal yetmezliği olan hastalarda plazma ve kreatin klirens değeri kontrol altında tutularak kullanılması gerekir (Kayaalp, 2002).

2.2.6. Bifosfonatların Yan Etkileri

Bifosfonatların yan etkileri 5 başlık altında toplanabilir: (Kimmel, 2007)

- 1- Oral Biyoyararlanım, Gıda Etkileşimi ve Özofajit
- 2- Mikroçatlaklar
- 3- Akut faz reaksiyonları
- 4- Renal etkileri
- 5- Anti-Anjiogenezis

Alendronat, risedronat ve ibandronatın oral biyoyararlanımı % 0,6-1 arasında değişir (Mitchell ve ark., 2001). Her üçünde gıda etkileşimi ile biyoyararlanımları azalır. Bu yüzden oral bifosfanat alımı aç karnına yapılmalıdır ve yaklaşık 60 dk boyunca gıda alımı engellenmelidir. Tüm nitrojenli bifosfonatlar oral yoldan alınabilirler. Oral alımda, muhtemelen FPP sentazın inhibisyonuna bağlı olarak hastaların önemli bir çoğunluğunda özofajit oluşmaktadır (Graham, 2002).

Köpeklerde yapılan birkaç klinik öncesi çalışmada, osteoporoz için kullanılan dozun biraz üstünde oluşan bifosfonat konsantrasyonunda kemik remodeling oranının düştüğü ve kemik mikroçatlaklarının oluştuğu görülmüştür. Kemik hasarını temsil eden bu mikro çatlakların kemik direncini düşürdüğü öne sürülmüştür. Ancak; genel olarak,

ajan uygulanmamış daha az mikroçatlakların olduğu köpek kemiklerine karşın artmış kemik mikroçatlaklarının olduğu kemiklerin mukavemetin daha fazla olduğu gösterilmiştir (Mashiba ve ark., 2001; Komatsubara ve ark., 2004).

Nitrojenli bifosfonatlar in vivo olarak gribe benzer belirtiler ve ateş klinik semptomlarını verebilirler (Kayaalp, 2002).

Zoledronat ve pamidronat intravenöz olarak verildiğinde serum kreatininde geçici bir yükselme meydana gelmektedir. Bu durumun akut tübüler yaralanmalarda görülen mevalonat yolundaki bozulmaya benzer şekilde; verilen bifosfanatın FPP sentaz inhibisyonu yapmasından dolayı oluşan renal toksisiteye bağlı olduğu düşünülmektedir (Pfister ve ark., 2005).

Bifosfonatların anti-anjiogenik yan etkilerine bağlı olarak görülen en büyük yan etkisi bifosfonata bağlı çene kemiği osteonekrozu (BRONJ)'dur. Halen BRONJ'un histopatolojisi tam anlaşılamamış olmakla beraber kesin bir tedavi protokolü de oluşturulamamıştır (Khan ve ark., 2015).

2.2.7. Bifosfonatlara Bağlı Çene Osteonekrozu (BRONJ)

2.2.7.1. BRONJ Tanımı ve Tarihçesi

Çene osteonekrozunu (ONJ) tanımlayan ilk makale 2003 yılında yayınlanmıştır (Marx, 2003); ONJ'un hakemli dergilerdeki ilk tanımlanması Ruggiero ve ark. tarafından 2004 yılında yapılmıştır. 2007'de ONJ'un tanımı Amerikan Oral ve Maksillofasial Cerrahi Derneği (AAOMS) tarafından resmileştirilmiştir. AAOMS, ONJ'u hastanın anamnezinde alınmış veya alınmakta olan bifosfonat hikayesi ve baş boyun bölgesine alınmış bir radyoterapi olmaksızın; maksillofasiyal bölgede bir klinisyen tarafından tedavi edilmesine karşın 8 haftadır iyileşmeyen nekroze kemik varlığı şeklinde tanımlamıştır (AAOMS Konsensusu, 2007).

Yakın zamanda, bifosfonat kullanımı olmadığı halde; anti-anjiogenik bir ajan olan denosumab (Dmab) alımıyla oluşmuş ONJ vakaları tanımlanmıştır. Bu durum ONJ tanımlaması içine Dmab tanımlamasının da alınması gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Bu yüzden 2014 yılında AAOMS, ONJ tanımını güncellemiş ve "çenelere alınmış radyoterapi ve çenelerde kemik metastazı olmaksızın (Ruggiero ve ark., 2014); halen alınan veya önceden alınmış anti-rezobtif ve anti-anjiogenik ajan kullanımı ile beraber,

maxillofasial bölgede bir klinisyen tarafından tedavi edilmesine karşın, 8 hafta veya daha uzun süredir var olan, açık nekrotik kemik veya intra-oral ya da ekstra-oral fistülle beraber seyreden kemik nekrozu” olarak tanımlamıştır.

2.2.7.2. ONJ Teşhisi

Klinik bulgular: ONJ'un ayırıcı teşhisinin alveoler osteitis, sinüzitis, gingivitis/periodontitis, periapikal patolojiler ve semento-osseoz displazinin sekestrasyon gösteren bazı formları gibi daha önceden tanımlanmış, bilinen klinik patolojilerden yapılması gerekir (Khan ve ark., 2015).

Hasta öyküsü ve klinik muayene ONJ için en hassas tanı araçları olma değerini korumaktadır. Yapılan tedavilere karşın, oral bölgede 8 hafta veya daha uzun süredir var olan açığa çıkmış kemiğin varlığı teşhis için en tutarlı ONJ kriteridir (Khan ve ark., 2015).

Açık ve nekrotik kemik alanları haftalar, aylar hatta yıllar boyunca asemptomatik kalabilirler (Allen ve ark., 2009). Bu lezyonlar sıklıkla çevrelerindeki dokuların iltihaplanması sonrasında semptomatik hale gelirler. Ağrı, dişlerin hareketliliği, mukozal şişlik, eritem, ülserasyon, parestezi hatta ilgili trigeminal sinir dalının anestezisini de içeren işaret ve semptomlar; klinik olarak osteonekroz gelişiminden önce ortaya çıkabilir (Fedele ve ark., 2010; Sharma ve ark., 2013). Bazı hastalarda, oluşan inflamasyonun nörovasküler demete baskı yapmasından dolayı ilgili bölgede bozulmuş duyu algısı oluşabilir (Otto ve ark., 2009; Zadik ve ark., 2012). Bu semptomlar spontan olarak oluşabileceği gibi çoğunlukla dentoalveolar cerrahi sonrasında ortaya çıkmaktadır (Ferlito ve ark., 2011; Scoletta ve ark., 2011; Barasch ve ark., 2011; Schubert ve ark., 2012; Saad ve ark., 2012; Fitzpatrick ve ark., 2012). İntra-oral veya ekstra-oral fistüller nekrotik mandibula ya da maksillanın sekonder enfeksiyonundan dolayı oluşmaktadır (Phal ve ark., 2007). Maksiller kemik tutulumu olan hastalarda, osteonekroza bağlı oro-antral fistül oluşumuyla veya oluşmaksızın seyreden kronik maksiller sinüzit görülebilir (Maurer ve ark., 2011). Tablo 3'de BRONJ için ana risk faktörleri özetlenmiştir.

Evrelendirilmesi: ONJ hastalarının teşhisinde radyolojik değerlendirmeden çok klinik semptom ve bulguların varlığı göz önüne alınmaktadır. Birçok ONJ hastasında

radyolojik bulgular normal sınırlardadır veya osteoradyonekroz ya da osteomyelitte izlenen radyografik belirtilerle benzerlik gösterir. İlk sınıflandırma klinik görünüşlere bakarak Marx tarafından 2009 yılında yapılmıştır (Marx, 2009). Bu sınıflandırma aynı yıl AAOMS tarafından yayınlanan bir rapor ile resmileştirilmiştir (Ruggiero ve ark., 2010). Yapılan bu sınıflamada beş ayrı evrelendirme yapılmıştır:

“risk altındakiler”: Oral ya da intravenöz olarak bifosfonat tedavisi gördüğü halde nekrotik kemik belirtisi olmayan hastalar.

Evre 0: Klinik olarak nekrotik kemik oluşumu yok fakat spesifik olmayan klinik bulgu ve semptomları olan hastalar

Evre 1: Asemptomatik ve enfeksiyon belirtisi olmayan ekspoze ve nekrotik kemik varlığı olan hastalar

Evre 2: Klinik olarak enfeksiyon bulguları ve ağrılı ekspoze ve nekrotik kemiği olan hastalar

Evre 3: Ağrılı, enfeksiyonlu ekspoze ve nekrotik kemikle beraber aşağıdakilerden bir ya da bir kaçının bulunduğu vakalar;

-Ekspoze ve nekrotik kemiğin alveolar kemik sınırını aştığı vakalar (mandibulanın alt sınırına veya ramusuna ulaşmış; maksillada sinüs ve zigomatik kemiğe ulaşmış nekrotik alan)

-Patolojik fraktür

-Ekstra-oral fistül

-Ora-antral, ora-nasal açıklık

-Mandibulanın inferior sınırı veya sinüs tabanını etkileyen osteolizis

Antirezorbtif tedavi gören veya görmeyen hastalarda, klinik olarak ekspoze kemiğin olmadığı, yaygın periapikal ya da periodontal hastalıklarla açıklanamayan spesifik olmayan oral bulgu ya da semptomlar gelişebilir. Bu semptomlar arasında ağrı, fistül oluşumu, apse oluşumu, bozulmuş duyusal fonksiyon veya alveolar kemik sınırlarının ötesine geçen radyografik bulgular görülebilir. AAOMS tarafından ONJ için kullanılan “evre 0” terimi, bu bulgu ve semptomlardan birini veya hepsini içeren antirezorbtif tedavi gören hastalar için kullanılır (Khan ve ark., 2008).

Tablo-3. BRONJ için ana risk faktörleri (Giorgio Iannetti, Bisphosphonates and Osteonecrosis of the Jaw: A Multidisciplinary Approach, 2012)

Bifosfonatlara bağlı risk faktörleri
Potansiyelleri
Tedavi süresi
Anti-anjiogenik özellikleri
Yumuşak doku toksisitesi
Lokal risk faktörleri
Dentoalveoler cerrahi ya da travma
Lokal anatomik yapı: ekzostoz, prominens
Eşlik eden endodontitis, periodontitis, enfeksiyonlar

Schiodt ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada; ONJ'un ekspozite kemik olmadan oluşan bir şekli olduğu ve bu şeklinin sahip olduğu karakteristiklere bağlı olarak evre 1,2 ya da 3 içinde sınıflandırılabilceğini söylemişlerdir. ONJ mandibulada maksillaya göre daha fazla görülür (%65 mandibula, %28,4 maksilla, % 6,5 maksilla ve mandibulanın beraber tutulumu, %0,1 diğer lokasyonlar) ve genellikle mylohiyoid kenar, torus ve ekzositozlar gibi mukozanın ince olduğu yerleri tercih eder (Ruggiero ve ark., 2004, 2006; Marx ve ark., 2005). Lezyonlar iyileşmemiş alveol soketinden, ekspozite nekrotik kemiğin maksilla ya da mandibulanın geniş bir bölümünü kapsadığı tabloya kadar değişik büyüklüklerde olabilirler (Sharma ve ark., 2013). Ekspozite kemik tipik bir iltihaplı eritematöz mukoza ile çevrilidir. Ekspozite kemiğin pürülan akıntısı sekonder enfeksiyonun olduğu vakalarda görülür (Bisdas ve ark., 2008; Popovic ve Kocar, 2010). Her ne kadar ONJ'un çene kemiklerini etkilediği söylene de birkaç hastada dış kulak yolunun osteonekrozu rapor edilmiştir (Polizzotto ve ark., 2006; Bast ve ark., 2012; Kharazmi ve ark., 2013; Salzman ve ark., 2013; Wickham ve ark., 2013;).

Oral bifosfanat tedavisi gören osteoporozlu hastalarda, ONJ görülme prevalansı %0-0,04 arasındadır (Mavrokokki ve ark. 2007; Cartsos ve ark., 2008; Grant ve ark., 2008; Sedghizadeh ve ark., 2009; Hong ve ark., 2010; LO ve ark., 2010; Fellows ve ark., 2011; Iwamoto ve ark., 2011; Malden ve ark., 2012; Taylor ve ark., 2013;

Yamazaki ve ark., 2012). Yüksek dozda intravenöz bifosfonat tedavisi alan hastalarda ONJ gelişme riski,; düşük doz oral veya intravenöz bifosfonat tedavisi gören hastalara göre önemli ölçüde fazladır. Bu prevalans %0-0,3 arasında değişir(Lyles ve ark., 2007; Cartsos ve ark., 2008; Fellows ve ark., 2011; Powel ve ark., 2012; Sieber ve ark., 2013).

ONJ insidans ve prevalansı: Oral bifosfonat tedavisi alan osteoporozlu hastalarda, ONJ görülme insidansı 100.000 hasta/yılda 1,04-69 arasında değişir (Etminan ve ark., 2008; Khan ve ark., 2011; Tennis ve ark., 2012; Ulmner ve ark., 2014). Denosumab tedavisi olan hastalarda ONJ görülme ihtimali 100.000 hasta/yılda 0-30,2 arasında değişir (Cummings ve ark., 2009; Papapoulos ve ark., 2012; Orwoll ve ark., 2012; Bone ve ark., 2013).

Zoledronik asidin 5 mg/yıl IV olarak verildiği osteoporozlu hastalarla osteoporoz için kullanılan diğer tedavi yöntemlerinin (glukokortikoid kullanımı, oral alendronat, oral risedronat, plasebo) 2 yıllık takibinin yapıldığı çalışmalarda 14.200 hasta içinden ONJ gelişme insidansının 1'den küçük olduğu gösterilmiştir (McClung ve ark., 2009; Grbic ve ark., 2010; Sambrook ve ark., 2012; Boonen ve ark., 2012).

Denosumabın post-menapozal osteoporoz üzerine etkisini araştıran faz 2 ve faz 3 klinik deneylerde, denosumab ve plasebo gruplarındaki 16.000 hastanın bir yıllık takibinde hiçbir ONJ bulgusuna rastlanamamıştır (Lewiecki ve ark., 2007; Bone ve ark., 2008; Miller ve ark., 2008; Cummings ve ark., 2009; Kendler ve ark., 2010).

Kemik metastazı olan onkoloji hastalarının osteoklast inhibisyonuna olan ihtiyacı osteoporozlu hastalardan daha yüksek olduğu için kullanılan bifosfonatların doz ve potansiyelleri de daha yüksektir; bu yüzden onkoloji hastalarının ONJ prevalansı osteoporoz hastalarından daha fazladır (Khan, 2015). Onkoloji hastalarında ONJ görülme prevalansı %0-0.18 arasında değişir (Khan ve ark., 2015). Bifosfonatlarla tedavi edilen onkoloji hastalarında ONJ gelişme insidansı 100.000 hasta/yılda 0-12.2 arasındadır (Khan ve ark., 2015) ve Dmab ile tedavi edilen onkoloji hastalarında ONJ gelişme insidansı ise 100.000 hasta/yılda 0-2.3 arasında değişir. Aylık 4 mg zoledronik asitle 120 mg Dmab tedavisinin onkoloji hastalarında kemik metastazının engellenmesi üzerine etkisini araştıran faz III, randomize, plasebo ve kontrol grubu içeren çalışmalar bir araya getirilerek ONJ oluşumu açısından değerlendirilmiştirbu çalışmalarda ONJ insidansı yaklaşık olarak %1-2 arasında bulunmuştur (Khan ve ark., 2015). Dmab ile ilgili çalışmalarda, BP'lerle karşılaştırıldığında, BP ile benzer veya biraz daha yüksek

oranda ONJ insidansı görülürken; bu sonuç istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Zadik ve ark., 2012). Onkoloji hastalarında vaskülarizasyonu azaltmak için kullanılan ve VEGF'yi tanıyarak bloke eden insana uygun monoklonal antikör olan bevacizumab'ın (Avastin^R, Roche) kullanıldığı hastalarda ONJ oluştuğunu rapor eden birkaç araştırmacı vardır (Christodoulou ve ark., 2009; Brunamonti ve ark., 2012; Pakosch ve ark., 2013). Yalnız bifosfonat alan hastalarda ONJ prevalansı % 1,1 olmakla beraber tedaviye bir anti-anjiogenik ajanın (bevacizumab ve sunitinip gibi) eklenmesiyle bu durumun % 16'ya ulaştığını rapor etmişlerdir.

Radyolojik bulgular: ONJ'un klinik teşhisi hasta öyküsü ve fizik muayeneye dayanır. ONJ'un radyografik özellikleri nispeten non-spesifiktir. Düz film grafileri, dekalsifikasyonun derecesinin azlığına bağlı olarak erken dönemlerde genellikle belirti vermez (Hutchinson ve ark., 2010). Çekim bölgelerindeki yetersiz ossifikasyon, ONJ'un erken radyografik belirtilerinden sayılabilir. Bilgisayarlı tomografi (BT) bulguları non-spesifik olmakla beraber; fokal skleroze alanlar, kalınlaşmış lamina dura, erken sekestr oluşumu ve periosteal kemik reaksiyonu bulguları görülebilir (Dore ve ark., 2009; Treister ve ark., 2010; Stockman ve ark., 2010; Torres ve ark., 2011). BT, ONJ'un sınırlarının belirlenmesinde önemlidir ve cerrahi planlamada yardımcı olur (Arce ve ark., 2009; Treister ve ark., 2010). BT'de kemik taraması ile daha sonradan nekroz gelişecek alanlar önceden belirlenebilir (O'Ryan ve ark., 2009). ONJ riski olan hastalarda nükleer kemik taraması yapılmasının faydalarının anlaşılması için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Dental radyografik değerlendirmede sıklıkla kullanılan periapikal radyografi, bite-wing radyografi ve panoramik radyografi (OPG); ONJ'un erken teşhisinde kullanılan lamina dura kalınlaşması, alveoler kemiğin artmış trabeküler densitesi ve periodontal aralığın genişlemesi gibi bulguların saptanmasında kullanılan ucuz, düşük radyasyon dozu içeren ve kolay ulaşılabilir radyogramlardır (Suei, 2013). OPG ayrıca baş boyun bölgesinin geniş bir alanını içine alarak çekim yaptığından geniş sekestrasyonlar ve mandibular kanal ya da sinüs tabanı kortikal kemiğinde görülen değişiklikler de görülebilir (Phal ve ark., 2007; Bianchi ve ark., 2007; Bedogni ve ark., 2008; Arce ve ark., 2009; Treister ve ark., 2010).

BT'nin, ONJ'un 2 boyutlu görüntülenmesine göre daha belirgin avantajları vardır. Maksilla ve mandibulanın kortikal ve trabeküler yapısının incelenmesinin yanı sıra; ONJ'un erken teşhisinde yardımcı olan periosteal kemik reaksiyonu, sekestr varlığı ve komşu vital yapıların bütünlüğü de değerlendirilebilir (Bianchi ve ark., 2007; Stockmann ve ark., 2010). ONJ hastalarında sık görülen BT bulguları; diffüz osteoskleroz, osteoliz alanları, korteks erozyonu, artmış periosteal kemik formasyonu ve sekestrasyonlardır. Potansiyel fistül oluşumu ve bozulmuş çekim soketi iyileşmesi de görülebilir (Phal ve ark., 2007; Bianchi ve ark., 2007; Fatterpekar ve ark., 2011). Tipik olarak bu radyografik değişiklikler, klinik olarak ekspozite kemiğin oluşmasının öncesindedir. ONJ'un erken evrelerinde görülen artmış trabeküler yoğunluk, panoramik radyografide teşhis edilememesine rağmen; BT'de fark edilebilir (Taguchi ve ark., 2013).

Konik ışınli bilgisayarlı tomografi (KIBT), yüzün osseöz yapılarının değerlendirilmesinde BT ile benzer avantajlar sağlarken çok daha az radyasyon dozu içerir. KIBT, küçük görüş alanı kullanılarak çekilirse periodontal ve periapikal hastalıkların teşhisinde, düz grafilere göre daha iyi bir inceleme imkânı sağlar (Tetradis ve ark., 2010; Scarfe ve ark., 2012). KIBT kullanımı ile ONJ teşhisini içeren kesin bir çalışma bulunmamaktadır. KIBT'nin en büyük dezavantajı düşük kontrast çözünürlüğü ve zayıf yumuşak doku ayrıntısıdır. Bununla birlikte KIBT'nin kemik yapıların görüntüsünü oluşturma kapasitesi BT ile hemen hemen aynıdır (Scarfe ve ark., 2012). KIBT'nin osteonekrotik alan bulguları, BT ile aynıdır ve artmış kemik yoğunluğu, osteolizis, kortikal erozyon, sekestrasyon ve periosteal kemik reaksiyonunu içerir (Treister ve ark., 2010; Torres ve ark., 2012; Wilde ve ark., 2012).

Manyetik rezonans görüntüleme (MRI), ONJ'un osseöz değişikliklerini incelemede BT ile eşit avantajlar sağlamakla beraber; ONJ'un erken dönem kemik iliği değişimlerinin ve nekrotik alanı çevreleyen yumuşak dokudaki değişikliklerin tanımlanmasında daha üstün özelliklerinin olduğu düşünülmektedir. MRI'nın en tutarlı ve en erken özelliklerinden biri; ONJ'un klinik bulguları ortaya çıkmadan fark edilebilen T1 ağırlıklı kemik iliği sinyal yoğunluğundaki azalmadır (Chiandussi ve ark., 2006; Bedogni ve ark., 2008; Krishnan ve ark., 2009; Stockmann ve ark., 2010).

Khan ve ark., (2015) yapmış oldukları çalışmada; ONJ hastalarında radyografik görüntüleme ile değerlendirmeyi şöyle önermişlerdir: Düşük doz antirezorbtif tedavi

alan ve ONJ belirti ve bulguları olmayan hastalarda ek olarak radyografik değerlendirmeye gerek görmemişler; yüksek dozda antirezorbtif tedavi alan ve ONJ için risk taşıyan fakat ONJ'un klinik belirti ve bulguları bulunmayan hastalarda ise periapikal ve bite-wing radyografi ile risk alanlarının incelenmesini ve panoramik grafi ile maksilla ve mandibulanın tamamının değerlendirilmesini önermişlerdir. Düşük ya da yüksek dozda antirezorbtif tedavi gören ve ONJ'un klinik semptom ve bulguları bulunan hastalarda rutin radyografilere KIBT veya BT'nin eklenmesinin; maksilla ve mandibulada oluşabilecek erken dönem kortikal ve trabeküler yapısal değişikliklerin teşhisi ve muhtemel sekestr ya da fistül oluşumunun değerlendirilmesinin sağlanması açısından katkıda bulunacağını söylemişlerdir. Konservatif tedavi uygulanan evre 1 ve 2 hastalarında tedavinin seyrinin belirlenmesi açısından BT ve küçük görüş alanlı yüksek çözünürlüklü KIBT görüntülemenin etkilenmiş kemik çevresindeki nekrotik alanın belirlenmesi açısından yararlı olacağını; evre 2 ve 3 hastalarında cerrahi tedavi planlanmadan önce MRI ve kemik taramasının cerrahi sınırların belirlenmesi için kullanılmasını önermişlerdir.

Serum CTX seviyesi: Marx ve ark., (2007) yaptıkları bir çalışmayla; kemik rezorbsiyon seviyesinin belirlenmesinin prognozun değerlendirilmesi açısından faydalı olacağını söylemişlerdir. Bifosfonat tedavisi sonrası ONJ gelişen düşük kemik yoğunluğu olan 30 kadın hastanın bulunduğu bir çalışma rapor etmişlerdir. Çalışmada bulunan hastaların 17'si halen bifosfonat kullanırken değerlendirilmiş ve 30-102 pg/ml C-terminal telopeptid serum seviyesine sahip oldukları bulunmuştur (ortalama 73 pg/ml). BP'lerin kesilmesinden 6 ay sonra serum CTX değeri 162'den 343 pg/ml 'ye (ortalama 228 pg/ml) yükselmiştir bu da ortalama ayda 26 pg/ml'ye denk gelmektedir. Takip edilen hastaların tamamı 18 ay içinde tamamen iyileşmiştir ve yazarlar bunu göreceli olarak daha fazla kemik döngüsüne sahip olmalarına bağlamışlardır. Bu mümkün olmakla beraber hastaların BP tedavisi almadığı bir dönemde değerlendirilmesine bağlı olarak hipotez resmi olarak ispatlanamamıştır. Marx, yayınlamış olduğu kriterlerde ONJ gelişme riskini serum değerleri; CTX < 100 pg/ml ise yüksek risk, CTX 100-150 pg/ml arasında ise orta risk ve CTX > 150 pg/ml ise düşük risk olmak üzere belirlemiştir. Serum CTX değerinin ONJ teşhisi ve prognozundaki yerini araştıran diğer araştırmacılar CTX ile ONJ oluşumu arasında bir korelasyon

bulamamışlardır (Bagan ve ark., 2008; Kwon ve ark., 2009;2011; Kunchur ve ark., 2009; Lee ve ark., 2010; Atalay ve ark., 2011; O'Connell ve ark., 2012).

N-terminal telopeptid (NTX) ve ALP gibi bazı biyomarkırların; ONJ teşhisi ve oluşumuna olan etkinlikleri araştırılmış ve bu markırlarla ONJ teşhisi arasında bir korelasyon bulunamamıştır (Lehrer ve ark., 2008;2009; Morris ve ark., 2012).

2.2.7.3. ONJ'un Patofizyolojisi

ONJ için ampirik temelli tedavi yöntemlerine yol açan birçok hipotez öne sürülmüştür. Ancak ONJ'un patofizyolojisinin tek bir hipotezle açıklanabilmesi ve tüm hastalara aynı tedavi türünün uygulanması mümkün değildir (Aghaloo ve ark., 2015). ONJ'un patofizyolojisi tam olarak açıklanamamakla beraber öne sürülen 5 ayrı hipotez vardır.

Kemik remodelinginin inhibisyonu: Osteoklast aktivitesi, RANK/RANKL/OPG sinyalizasyon mekanizmasıyla sıkı bir şekilde düzenlenir. Kanser hastalarında tümör hücreleri, büyüme faktörleri ve sitokin salgılayarak osteoblastlardan RANKL salınımını uyarır ve kemik rezorbsiyonuna neden olur böylece kemik içerisinde tümör hücrelerinin varlığını ve büyümesini sağlar (Baum'huin ve ark., 2007). Osteoklast farklılaşması ve fonksiyonu, tüm iskelet bölgelerinde kemik iyileşmesi ve remodelinginde hayati rol oynamakla birlikte, ONJ sadece maksiller ve mandibuler kemikte görülür (Aghaloo ve ark., 2011). Bu durum alveoler kemiğin iskeletin diğer kemiklerine göre daha yüksek remodeling oranına sahip olmasıyla açıklanabilir (Huja ve ark., 2006; Reinwald ve ark., 2008). Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda kemik sintigrafisinde BP ya da Dmab kullanımında diğer kemiklerde etkilenme olmaksızın maksillada kemik döngüsünün arttığı izlenmiştir (Ristow ve ark., 2014). Sonuç olarak BP'lerin birincil etki mekanizması osteoklast fonksiyonunu inhibe etmek olduğundan, bozulmuş kemik remodelinginin ONJ gelişimi için predispozan faktör olması beklenen bir durumdur (Ito ve ark., 1999; Suzuki ve ark., 2006; Kimmel, 2007; Baron ve ark., 2011).

Enflamasyon ve enfeksiyon varlığı: Enfekte dental patolojisi bulunan hayvan modellerinde ONJ gelişmiştir bu durum; dental inflamasyon ve enfeksiyonun sistemik anti-rezorbatif alımında ONJ gelişimi için etkili olduğunu göstermiştir (Mawardi ve ark., 2009; Lopez-Jornet ve ark., 2011; Aguirre ve ark., 2012; Aghaloo ve ark., 2011, 2013;

Kang ve ark., 2013; de Molon ve ark., 2014). Multiple myelom ve metastatik kanser hastalarında, etkili oral hijyen kontrolünün ONJ insidansını azalttığı bulunmuştur (Ripamonti ve ark., 2009; Dimopoulos ve ark., 2009). Ekspozite kemiğin histolojik incelemelerinin yapıldığı çalışmalarda Aktinomiçes türlerine rastlanmıştır. Ancak bakterilerin mi enfeksiyonu tetiklediği yoksa; nekroze kemiğin mi bir biyofilm tabakası geliştirdiği tam olarak aydınlatılamamıştır (Hansen ve ark., 2006; Sedghizadeh ve ark., 2008).

Anjiogenezisin inhibisyonu: Anti-anjiogenik tedaviler, VEGF gibi vasküler sinyalizasyon moleküllerinin inhibisyonuyla tümör invazyonunun ve metastazların engellenmesinde aktif bir şekilde kullanılmaktadır (Sedghizadeh ve ark., 2008). Zoledronik asit, tümör invazyon ve metastazında etkili olan endotel hücrelerinin; proliferasyon, adezyon ve migrasyonunu engelleyen en etkili nitrojen içerikli bifosfonattır (Santini ve ark., 2003; McLeod ve ark., 2012). Buna ek olarak tüm nitrojen içerikli BP'ler in vivo olarak mikro damar yoğunluğunu azaltırlar (Pabst ve ark., 2014). Son zamanlarda tiroksi kinaz ve anti-VEGF monoklonal antikolar gibi yeni anti-anjiogenik tedavilerin ONJ oluşturduğu rapor edilmiştir (Guarneri ve ark., 2012; Santos-silva ve ark., 2013). Anjiogenezisin ONJ oluşum sürecinde yer aldığına dair kanıtlar olmasına karşın; post-mortem örneklerde yapılan histopatolojik çalışmalarda normal vaskülarizasyona sahip ONJ sahaları gösterilmiştir (Hellstein ve ark., 2011). En önemlisi Dmab anjiogenezisle ilişkili değildir. Bu nedenle, tek başına anjiogenezisin ONJ gelişiminde etkili olması mümkün olmamakla beraber süreçte rol oynadığı düşünülmektedir (Aghaloo ve ark., 2015).

Yumuşak doku toksisitesi: ONJ patofizyolojisinin ilk hipotezlerinden biri bifosfonata bağlı yumuşak doku toksisitesidir (Reid ve ark., 2007). Bazı in vitro çalışmalar nitrojenli BP'lerin epitel hücrelerine olan afinitesinin kemiğe olan afinitesine eş değer olduklarını bulmuşlardır (Bae ve ark., 2014). Ancak bu hipotez, Dmab'ın yumuşak doku toksisitesinin az olmasına bağlı olarak geçerliliğinin büyük bir kısmını yitirmiştir (Aghaloo ve ark., 2015).

Doğal ya da kazanılmış bağışıklık disfonksiyonu: Bozulmuş bağışıklığın ONJ gelişimine etkisi üzerine tartışmalar halen devam etmektedir. Tümör patogenezi genellikle bağışıklık fonksiyon bozukluğu ile ilişkilidir. ONJ gelişiminde, bağışıklık yetersizliğinin etkili olduğu hayvan çalışmalarında; mezenkimal kök hücrelerinin ya da

T-regülatör hücrelerinin infüzyonunun ONJ benzeri lezyonları engellediği ve hafiflettiği gösterilerek ispatlanmıştır (Kikuiri ve ark., 2010). Ek olarak; birçok hayvan modelinde ONJ insidansı ve şiddeti, kemoterapi veya steroidler gibi bağışıklık sistemini baskılayan ajanların varlığı ile artar (Bi ve ark., 2010; Kikuiri ve ark., 2010; Lopez-Jornet ve ark., 2011; Ali-Erdem ve ark., 2011; Kuroshima ve ark., 2014).

Yapılan araştırmalar ONJ'un patofizyolojisinin, birbiriyle etkileşerek hastalığın gelişimi ve derecesini artıran faktörlerin kombinasyonundan oluştuğunu göstermektedir (Aghaloo ve ark., 2015). ONJ'un karmaşık patofizyolojik mekanizmasının anlaşılması ONJ oluşumunu azaltmak ve tedavi seçenekleri sunmak açısından önemlidir.

2.2.7.4. ONJ tedavisi

ONJ için evrensel olarak kabul edilen bir tedavi protokolü olmamakla beraber; ilişkili enfeksiyonun kontrolü ve semptomların hafifletilmesi genel kabul gören tedavi şeklidir (Khan ve ark., 2015). Tedavi şekli ONJ'un evresine göre konservatif tedaviden radikal cerrahiye kadar değişkenlik gösterir.

Konservatif tedavi: Birçok hasta konservatif tedavi ile başarılı bir şekilde tedavi edilmektedir. Konservatif tedavi; optimal oral hijyenin sağlanması, aktif dental ve periodontal hastalıkların eliminasyonu, topikal antibiyotik kullanımı ve gerekli ise sistemik antibiyotik kullanımını içermektedir. Konservatif tedavi, tam iyileşme için yeterli olmasa da, uzun vadeli olarak semptomların kaybolmasını ve hasta şikâyetlerinin azalmasını sağladığı için ONJ tedavisinin temelini oluşturmaktadır (Saad ve ark., 2012; Ji ve ark., 2012). Son dönemde teriparatid ile ONJ'un tedavisinin başarılı bir şekilde yapıldığı vakalar rapor edilmiştir (Bashutski ve ark., 2010; Subramanian ve ark. 2011). Oral bölgede kemik yarası iyileşmesini hızlandıran teriparatid; kanser tedavisi görmeyen ve radyoterapi almamış osteoporozlu hastalar için yeni bir konservatif tedavi metodunun bulunmasını gündeme getirmiştir (Bashutski ve ark., 2010). Onkoloji hastalarında ajanın kemik tutulumları üzerine olan fayda/zarar oranı tam olarak bilinmediğinden aynı yaklaşımın radyoterapi alan ve kemik metastazı olan kanser hastalarında gelişen ONJ için kullanımı önerilmemektedir (Khan ve ark., 2015).

Konservatif tedaviye; hastalığın belirgin ilerlemesi durunca veya ağrı konservatif tedavi ile dindirilemez duruma gelinceye kadar ya da hastanın anti-rezorbif

tedavisi ONJ gelişim riskinden dolayı doktoru tarafından kesilmediği sürece devam edilmelidir (Khan ve ark., 2015).

Cerrahi tedavi: Temel prensip cerrahi tedaviye geçilmeksizin mümkün olduğunca konservatif tedavi ile hastalığın ilerlemesinin durdurulmasıdır. Bununla beraber birçok çalışmada cerrahi ile başarılı sonuçların elde edildiği rapor edilmiştir.

Cerrahi ile tam kalınlık flep kaldırılarak, ekspoze kemik osteonekrozun olmadığı ve normal kanlanmanın olduğu sınırlara kadar belirlenip rezeksiyonla çıkartılmalıdır. Keskin kenar ve köşeler yuvarlatılmalı ve cerrahi alan bir hafta sonra emilen bir suturla gerilimsiz ve primer olarak kapatılmalıdır (Wilde ve ark., 2011; Khan ve ark., 2015). Bazı araştırmacılar radikal cerrahinin; debridman ve konservatif tedaviyle karşılaştırıldığında daha iyi sonuçlar verdiğini rapor etmişlerdir (Mucke ve ark., 2011; Ngamphaiboon ve ark., 2011).

Sonuç olarak ONJ için kabul edilen genel bir tedavi yöntemi yoktur. ONJ tedavisi, hastanın klinik semptom ve bulgularına göre belirlenmektedir. Yukarıda tartışıldığı gibi ONJ'un karmaşık patofizyolojisi ve tam etkili olan bir tedavi yöntemi olmaması, temel tedavi metodları olan konservatif ve cerrahi tedaviyi destekleyecek ek prosedürlerin araştırılması gerekliliğini doğurmuştur. DELT'nin ağız dokularına uygulandığında antimikrobiyal ve biyositümölan etkiye sahip olması ve kemik dokusu üzerine de biyositümölatif etkisinin olduğunun bilinmesi onun destekleyici tedavilerden biri olarak araştırılmasına neden olmuştur (Vescovi ve ark., 2013; Walter ve ark., 2014; Rola ve ark., 2014; Altay ve ark., 2014; Sella ve ark., 2015; Park ve ark., 2015). Biz de yapmış olduğumuz bu deneysel çalışmada DELT'nin ONJ üzerine etkisini araştırmayı planladık.

2.3. LAZERLER

2.3.1. Lazerin Tanımı ve Tarihçesi

“Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation” kelimelerinin ilk harfleri birleştirilerek oluşturulan LASER kelimesi; “radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi” anlamına gelmektedir. Lazer ışığı; doğal gazların, elementlerin ve çeşitli kristallerin atomlarının uyarılmasıyla meydana gelen, yüksek

yoğunlukta, paralel hareket eden, aynı dalga boyundaki elektromanyetik radyasyondan oluşan ışıktır (Baxter, 1994; Coluzzi, 2004; Moritz ve ark., 2006).

Işığın tedavi amaçlı kullanılabilmesi düşüncesi, yüzyıllar önce Antik Yunan, Çin ve Mısır'da "heliyoterapi" kavramı ile ortaya çıkmış ve raşitizm, cilt kanseri, psikozlar ve vitiligo gibi bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (Daniell ve Hill, 1991).

Işığı absorbe ederek dokunun ışığa olan duyarlılığını artıran eksojen maddelerin (fotosensitizer) kullanılmasıyla, ışığın tedavi edici özelliğinin artması manasına gelen "fotokemoterapinin" temelleri M.Ö. 1400'lere kadar dayanmaktadır. Bitkilerden elde edilen fotosentizer olan "psoralens" cilde sürülerek güneşe çıkmış ve vitiligo tedavi edilmeye çalışılmıştır. 1974'te psoralensin morötesi-A ışını ile kullanıldığında vitiligo için gerçekten etkili olduğu bulunmuştur (Miserendino ve ark., 1987).

Lazerin bilimsel temelleri 19. Yüzyılın sonlarında atılmıştır. 1864 yılında İskoçyalı fizikçi Maxwell, ışığın elektromanyetik bir dalga olduğunu bularak; elektrik, manyetizma ve optiğin aynı temel üzerinde ele alınmasına öncülük etmiştir. 1905 yılında Alman fizikçi Planck, Kuantum teorisini geliştirmiş ve 1913 yılında Danimarkalı fizikçi Bohr atomun yapısı ile ilgili teorilerini yayınlamıştır.

1916 yılında Einstein, "uygun boyutlu bir fotonun hali hazırda uyarılmış durumda bulunan bir moleküle çarpması halinde, bu molekülün daha düşük enerji düzeyine inerken, kendine çarpan fotonla tamamen aynı büyüklükte ve aynı doğrultuda hareket eden diğer bir fotonun salınacağını" söyleyerek kuantum mekaniğine ışığın korpüsküler yayılım teorisini eklemiş ve lazerin ana ilkesi olan uyarılmış salınımı tanımlamıştır (Einstein, 1917). Bir gaz odacığının mikrodalga ışınları ile uyarılması sonucu; Einstein'ın ileri sürdüğü foton salınımı prensibi sayesinde MASER (microwave amplification by stimulated emission of radiation) terimi fizikte yerini almıştır.

1958 yılında Schawlow ve Townes, MASER kuralının ışık dâhil herhangi bir dalga boyundaki tüm elektromanyetik dalgalara uygulanabileceğini bularak LASER (light amplification by stimulated emission of radiation) kavramını ortaya koymuşlardır (Schawlow ve Townes, 1958).

1960 yılında, kromiyum oksit ile kaplı alüminyum oksitten yapılmış sentetik bir yakut (Ruby) kristali kullanarak ilk lazer ışını deneysel olarak üretilmiştir (Maiman, 1960).

Dr. Leon Goldman, 1962 yılında ilk kez lazer (Ruby) kullanarak ciltteki lekeleri, istenmeyen dövmeleri ve akne izlerini tedavi etmeye çalışmıştır. Diş hekimi olan kardeşi Bernard Goldman ise lazeri, 1965 yılında ilk kez dental amaçla kullanmış ve mine aşındırması yapmaya çalışmıştır (Coluzzi, 2004).

1964 yılında Patel ve arkadaşları karbondioksit (CO₂) lazeri, Geusic ve ark.,ise Neodymium: Yttriyum-Aliminyum-Garnet (Nd:YAG) lazeri geliştirmişleridir (Coluzzi, 2004). İzleyen yıllar içerisinde Argon lazer (1964), Dye lazer (1969), Excimer lazer (1975) ve Erbium: Yttrium- Aluminium-Garnet lazer (Er:YAG) (1975) geliştirilmiştir (Coluzzi, 2004).

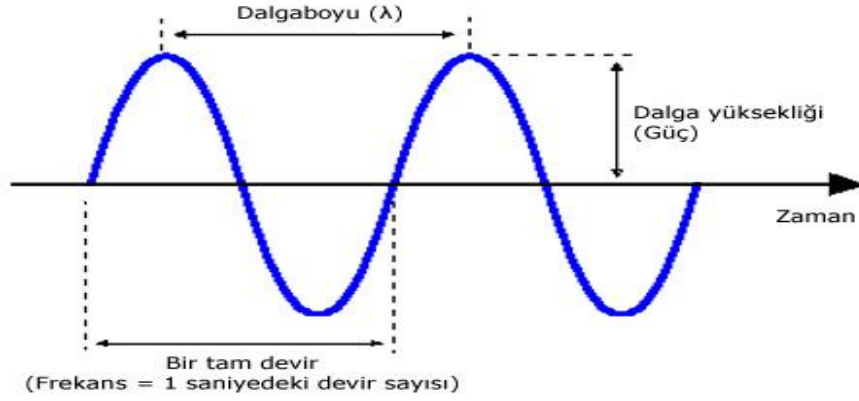
Lazerin oral cerrahide kullanımı ilk olarak yumuşak doku cerrahisinde olmuştur ve 1970'li yılların sonuna doğru yaygınlık kazanmıştır. Sert dokularda ilk kullanımı ise Horch tarafından 1979 yılında gerçekleştirilmiştir. 80'li yıllarda Fisher ve Frame benign ve premalign lezyonların tedavisinde CO₂ lazeri kullanmışlardır (Coluzzi ve ark., 2008).

2.3.2. Temel Lazer Fiziği

Lazerin oluşum mekanizmasının anlaşılabilmesi için öncelikle ışık, uyarılmış emisyon, ve radyasyon kavramlarının anlaşılması gerekir.

Işık: Işığın modern fizikteki tanımı; kendisini oluşturan dalgaların ya da taneciklerin özelliklerine göre değişken doğaya sahip, transversal tipte elektromanyetik dalgadır. Işığın özellikleri frekansına ve dalga boyuna göre değişkenlik gösterir. Frekans, (ν) ışığın saniyedeki yayılım sayısını ifade eder ve birimi Hertz (Hz)'dir. Dalga boyu (λ) ise, ışığın yatay eksenini kesen iki nokta arasındaki mesafesinin metrik sistem ile ölçümüdür (şekil 9). Işığın dalga boyu ışığın rengini belirler. Dalga boyu aynı zamanda ışığın taşıdığı enerjiyi de belirler, geniş dalga boyu düşük enerji taşırken (kızıl ötesi, mikrodalga gibi); kısa dalga boyu ise yüksek enerji taşır (ultraviyole ışınlar, X ışınları, gama radyasyon gibi). Işığın, transversal ses dalgalarında olduğu gibi taşınması için ortama ihtiyacı yoktur ve boşlukta da bilinen hızıyla ($c: 3 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$) yayılmaya devam edebilir. Işığın periyodik olarak değişen elektrik ve manyetik alanı vardır ve bu iki alan birbirine diktir. Bu elektromanyetik alanın temel yapıtaşı ise "foton"dur. Lazer ışığı ile görünür ışık birbirinde farklı özelliklere sahiptir (Karu, 1988; Fishbane ve ark., 2003).

Lazer ışığının özellikleri: Lazer ışını monokromatiktir yani tek renk ve tek dalga boyundan oluşur; görünür ışık gibi bir prizmadan geçirildiğinde renklerine ayrılmaz.



Şekil 6. Dalga boyu, dalga gücü ve frekans terimlerinin şematize edilişi (Kurtuluş, 2010)

Lazer ışınında dalgalar birbirine paraleldir yani kaynaktan çıktıktan sonra aynı yönde hareket eder. Bu özelliğe kolimasyon (doğrusallık) adı verilir ve bu özelliği sayesinde küçük alanlara yüksek enerji verilebilmektedir (Baxter, 1994; Coluzzi, 2004).

Lazer ışını kohorenttir yani ışık dalgaları yayılırken dalga şeklini, yüksekliğini ve derinliğini daima korur (Baxter, 1994) (şekil 6).

Lazer ışınının iş görebilme yeteneği vardır. Lazerin klinik yararı iş görebilme yeteneğine bağlıdır. Normal ışık kaynakları ışık yaymasının yanında daha çok ısı üretmektedir. Örneğin 100 W'lık bir ampul 20 W ışık üretirken 80 W kadar ışık olmayan fakat etrafını ısıtan radyant enerji üretir. Bunun yanında Nd:YAG lazer ise 2 W'lık bir enerji ile diş etini kesecek kadar termal enerji üretir (Coluzzi, 2004,2008).

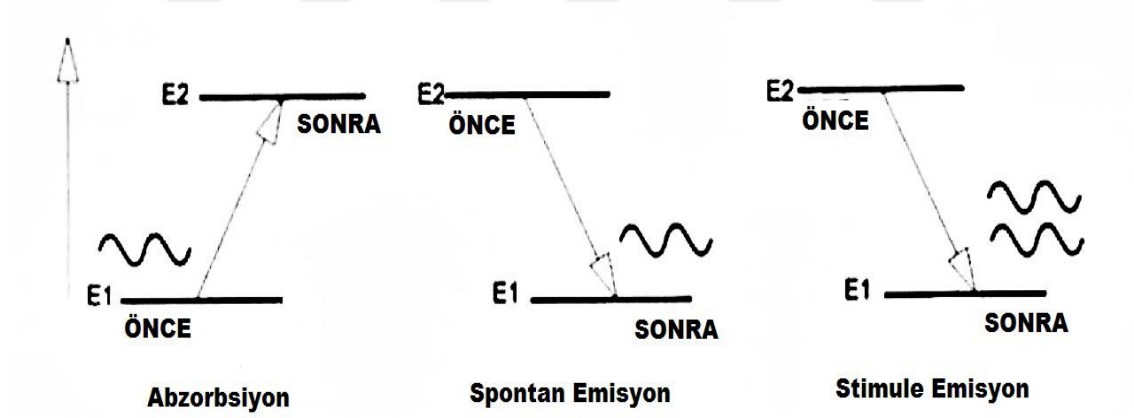


Şekil 7. Lazer ışığının temel özelliklerinin şematik gösterimi (Lukáč, 2003)

Lazer ışınının önemli olan bir özelliği de dalga yüksekliği yani amplitüdü'dür. Amplitüd, vertikal ekseninde dalga salınımının tepe noktası ile tabanı arasındaki toplam yüksekliktir. Lazer ışınının etkinliği amplitüd ile doğru orantılıdır (Coluzzi, 2004).

Stimüle Emisyon: Bu kavramın temeli 1900'lü yıllarda Alman fizikçi Max Planck tarafından ortaya atılan "kuantum teorisi" ne dayanır.

Kuantum, en küçük enerji birimidir ve atomun veya molekülün elektronları tarafından absorbe edildiğinde uyarılma sonucu oluşur. Bu uyarılma ile elektronlar kendi yörüngelerinden bir üst yörüngeye geçerler. Uyarılmış bu elektronun, tekrar kararlı hale gelme yani kendi yörüngesine inme eğilimi vardır ve bu elektron tekrar kendi yörüngesine inerken ortama enerji saçar (kuantum emisyonu). Bu sürece "spontan emisyon" denir (şekil 8). Foton olarak da adlandırılan "kuantum emisyonları" yörünge değiştiren elektronların enerjilerine göre farklı dalga boyu ve enerjilere sahiptir (Waynant, 2001; Coluzzi, 2004).



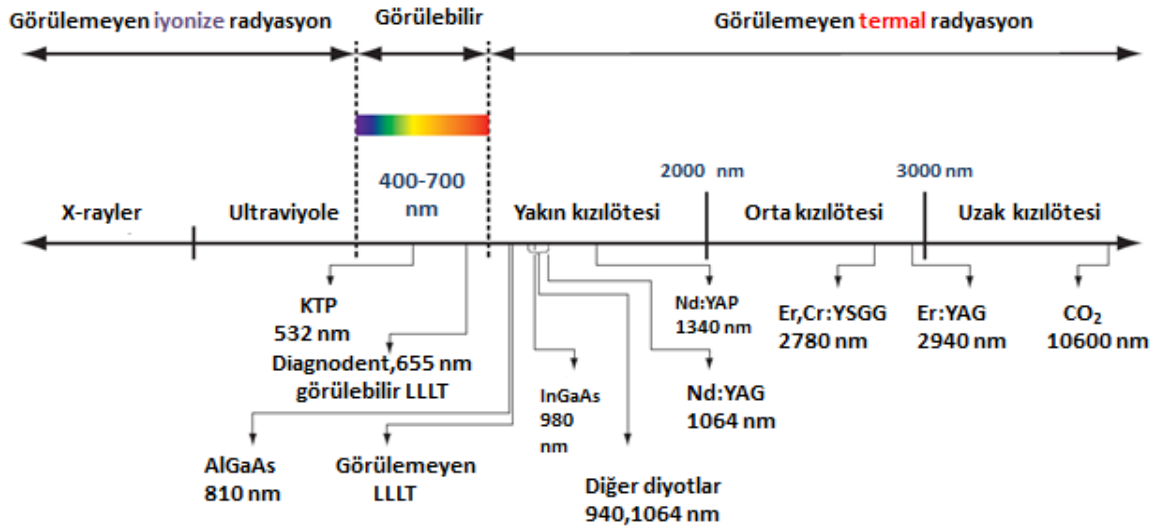
Şekil 8. Absorbsiyon, spontan emisyon ve stimüle emisyon kavramlarının şematik gösterimi (Clayman ve Kuo, 1997)

Albert Einstein'ın teorisine göre uyarılmış bir atom, kendisine yakın enerji düzeyindeki bir foton ile etkileşime girdiğinde ikinci bir enerji salınımına (foton) neden olur. Bunun sonucunda yakın enerji seviyesine sahip koharent dalga özelliğine sahip iki foton meydana gelir ki buna da "stimüle emisyon" denir (Coluzzi, 2004). Birlikte

hareket eden bu fotonlar daha fazla atomun uyarılmasına ve daha fazla fotonun salınmasına neden olur.

Radyasyon: Lazer tarafından elektromanyetik enerji formu şeklinde üretilen ışık dalgalarıdır. Elektromanyetik spektrum, dalga boyu 10-12 nm olan gama ışınlarından, dalga boyu binlerce metre olan radyo dalgalarına kadar dalga enerjilerinin tamamını kapsamaktadır (Waynant, 2001; Coluzzi, 2004) (şekil 9).

Ultraviyole bölgede bulunan lazerler (100-380 nm) fotokimyasal desorbsiyon yaparak dokuları iyonize ederken; daha uzun dalga boyuna sahip olan ve spektrumun kızılötesi bölgesinde (700-10000 nm) yer alan lazerler ise dokuda ısınmaya sebep olurlar. Cerrahi lazerlerin çoğu bu grupta yer alırlar (Deppe ve Horch, 2007).



Şekil 9. Elektromanyetik spektrum

2.3.3. Lazer Işını Oluşumu ve Lazer Sisteminin Bileşenleri

Lazer cihazı temel olarak aktif madde içeren rezonans odası, pompalama sistemi ve optik parçadan oluşur. Ayrıca soğutma sistemi ve iletim apareyi gibi mekanik parçaları da vardır (Waynant, 2001) (şekil 10).

Lazer cihazının merkezinde rezonans odası veya optik kavite denen bir bölüm vardır. Bu bölüm içerisinde lazerin jenerik isminin verilmesini de sağlayan element, molekül ya da bileşiklerden oluşan aktif madde bulunur. Aktif madde gaz, sıvı, kristal veya katı durumdaki yarı iletken bir maddedir. Aktif madde; organik likit ise Dye lazer;

Argon, Kripton veya Xenon gibi inert gaz ve florin, klorin gibi reaktif gazların karışımı ise Excimer lazer; karbondioksit gazı ise CO₂lazer; Argon ise Argon lazer; yarı iletken Aluminyum-Galyum-Arsenid (AlGaAs) levhalarından oluşan mikro çip ise Diyot lazer; katı krisal (Neodmiyum, Holmiyum, Erbiyum, Erbiyum-Krom) ve bu kristallere katılan İtriyum-Aluminyum-Garnet (YAG) ya da İtriyum-Skandiyum-Galyum-Garnet (YSGG) ise Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG lazer adını alır (Bhat, 2010).

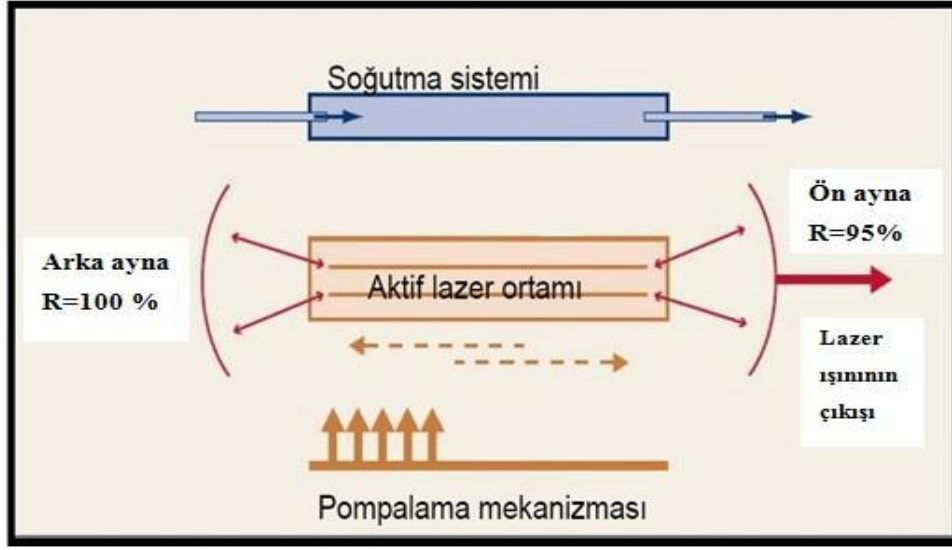
Enerji kaynağı, lazer ışınının üretilmesi için gerekli olan atom uyarılmasının oluşması için kullanılır. Günümüzde medikal amaçlı kullanılan lazerlerin çoğunda bu amaç için elektrik enerjisi kullanılmaktadır.

Pompalama sistemi ile aktif ortama enerji aktarılır ve aktif madde uyarılır. Aktarılan enerji ortamdaki atomları uyarır ve kararsız hale geçirir. Atomlardaki elektronlar eski düzeylerine dönerken foton yayarlar. Rezonans odasının bir tarafında tam yansıtıcı; diğer tarafında ise seçici yansıtıcı ayna bulunmaktadır. Bu iki ayna arasında salınan fotonlar yansıyarak diğer bir atomu uyarırlar ve benzer atomların uyarılmasını sağlarlar. Salınan foton, salınmasını sağlayan elektronun enerji düzeyine göre belli bir dalga boyunda ve renkte ışık oluşturur. Burada ışınların dalga boylarını etkileyen iki önemli faktör vardır bunlar; sistemin ne kadar süreyle hangi güçle pompalandığı ve aktif maddenin türüdür (Coluzzi 2004, Bhat, 2010).

Rezonans odasının iki ucunda yer alan aynalar, salınan fotonların yansıtılmasını sağlarlar ve stimüle emisyonu neden olurlar ve ortamdaki foton demetinin enerjisini artırır. Bu olaya ise “amplifikasyon” denir. Amplifikasyon esnasında ısı açığa çıktığı için aktif ortamın soğutulması gerekir. Aynaların paralelliği ışığın kolimasyonunu sağlarken; aynalardan birinin tam diğerinin ise seçici geçirgen oluşu yeterli enerji düzeyine ulaşan ışık demetinin optik kaviteden dışarı çıkışına olanak sağlar (Özbayrak, 1999).

Optik kaviteden dışarı çıkan ışık, optik sistemde odaklanarak iletim sistemlerinin yardımı ile operasyon alanına gönderilir.

Lazer ışınının ergonomik ve kayıpsız iletilmesi için temel olarak iki iletim sistemi kullanılmaktadır. Bunlar esnek Hollow tüpleri ve cam fiber optik kablodur. Esnek Hollow tüplerinde lazer ışığı tüp boyunca iletilir ve tüpün sonunda bir uygulama başlığından yansıtılarak hedef dokuya temassız bir şekilde iletilmektedir (Coluzzi, 2004).



Şekil 10. Lazer cihazı çalışma mekanizmasının basit gösterim şeması

Cam fiber optik kablolar daha hafiftir ve daha fazla hareket kolaylığına sahiptirler. Çapları genel olarak daha küçüktür. Temaslı ve temassız olarak kullanılabilirler ancak daha çok temaslı olarak kullanılırlar. Hareket kolaylığından dolayı periodontal ve yumuşak cerrahide kullanımı tercih edilir (Coluzzi, 2004,2008).

Yapılan bu iletim kesintisiz ve aralıklı atımlar şeklinde olabilir. Lazer ışınının salınımındaki bu düzenleme; optik sistem içine yerleştirilen metal perdecikler veya aktif maddeyi uyaran pompalama sistemi modifikasyonları ile sağlanmaktadır. Çalışılacak dokunun tipine bakılarak atım tipine karar verilir (Coluzzi, 2004, 2008).

Dental lazerler ışınal enerjiyi üç farklı şekilde iletirler:

Sürekli atım modu (continuous wave “cw”): Kullanıcı tarafından lazer uygulaması kesilmediği sürece ışın iletimi kesintisiz olarak süregelir. Yumuşak doku cerrahisinde tercih edilir.

Aralıklı atım modu (pulsasyonlu): Bu tür iletim şekli sürekli emisyonun cihaz içerisinde bir bariyer ile otomatik olarak kesilmesiyle oluşturulur. Sert dokularda termik zarar vermemek için kullanılır.

Serbest atımlı mod: Bu çalışma şekli yüksek güç düzeylerine ulaşan lazerlere özgü olup mikrosaniye gibi kısa sürelerde ışın oluşturup, ardından uzun bir süre lazerin kapalı kaldığı atım modudur (Coluzzi, 2008; Bhat, 2010).

Lazer iletiminde önemli olan, yeterli termal enerjiyi oluşturacak kadar lazer ışınının dokuya temasıdır. Atımlı lazerlerde, dokunun sonraki atıma kadar soğuma imkânı vardır. Devamlı dalga modunda ise termal hasara yol açmamak için kullanıcı tarafından lazerin ara sıra durdurulması gerekir (Bhat, 2010).

Lazer cihazları üzerinde kontrol panelleri bulunur. Bu paneller aracılığıyla bazı değerlerin yapılacak işlemin türüne göre kullanım esnasında değiştirilmesi sağlanır. Bunlar; enerji yoğunluğu (mJ/cm^2), atım süresi (msn veya nsn), maksimal atım enerjisi (mJ), atım frekansı (Hz)'dir (Bhat, 2010).

İletilen lazer enerjisinin miktarı, lazerin çalıştığı güç seviyesine, süreye ve atımına bağlıdır. Yani tek lazer atımında oluşturulan atım enerjisi, atım süresine ve atım esnasındaki çıkış gücüne bağlıdır. Çok kısa zamanlı atım süreleri sayesinde yüksek termal ısılarla ulaşılmadan yüksek enerji salınımı yapılabilmektedir (Coluzzi, 2004).

2.3.4. Lazer-Doku Etkileşimi

2.3.4.1. Optik Etkileşimler

Lazer ışınının dokudaki etkisi dokunun optik özelliklerine göre dört farklı şekilde gerçekleşir (Coluzzi, 2008). Bunlar:

- 1- Absorbsiyon (emilim)
- 2- Transmisyon (geçiş)
- 3- Refleksiyon (yansıma)
- 4- Scatter (saçılma)'dır

Absorbsiyon: Lazerin etki edebilmesi için oluşması gereken etki, ışının dokular tarafından absorpsiyonudur. Dokular içinde lazer ışınını absorbe eden yapılara kromofor denir ve doku içindeki kromofor sayısı lazerin absorpsiyon miktarını belirler. Doku tarafından absorbe edilen enerjinin miktarı absorpsiyon katsayısı (α) ile ifade edilir ve lazer ışınının materyal içerisinde kat ettiği her 1 mm'lik yolda enerjinin ne kadarının kaybolduğunu gösterir. Işının absorpsiyon miktarı arttıkça, penetrasyon derinliği azalır.

Doku tarafından absorbe edilen enerji miktarı; pigmentasyon, dokunun su içeriği gibi dokusal karakteristiklerden ve lazerin dalga boyu ile emisyon modundan etkilenir. Absorpsiyon, spektrumun mor ötesi bölgesinde dokunun protein içeriğine bağlı iken; kırmızı ötesi bölgede dokunun su içeriği önem taşır. Diş yapıları içerdikleri su miktarına

göre düşükten yükseğe sıralandığında mine (%2-3), dentin, kemik, diş taşı, çürük ve yumuşak doku (yaklaşık %70) olarak sıralanabilir (Waynant, 2001; Coluzzi, 2004).

CO₂ ve Er:YAG lazerler su tarafından büyük oranda absorbe edilen lazerlerdir. Nd:YAG lazerler yüzey sıcaklığını fazla artırmadan derin dokulara ulaşabilirler (Coluzzi 2008). Diyot ve Ed:YAG lazerler, melanin için yüksek emilim gösterirken; hemoglobin için düşük emilim gösterir.

Transmisyon: Transmisyon sayesinde lazer ışını yüzeysel dokulara etki etmeden geçerek hedef dokuda etki eder. Bu özellik, genellikle ışığın dalga boyu ile ilgilidir. Örneğin su; Argon, Diyot ve Nd:YAG gibi kısa dalga boylu lazerler için geçirgendir. Bununla birlikte Erbium ve CO₂ lazerler suya fazla afinite gösterirler ve bütün enerjileri sıvılar tarafından absorbe edildiği için az miktarda enerji komşu dokulara geçer. Bu yüzden Erbium ailesi lazerler yaklaşık olarak 0,01 mm derinliğe ulaşabilirken; 800 nm dalga boyundaki Diyot lazerler 100 mm ve üzeri derinliğe ulaşabilirler (Coluzzi, 2004).

Refleksiyon: Yansıma basitçe, lazer ışınının doku yüzeyinden hiçbir etki yapmaksızın dönmesi olarak tanımlanabilir. Bu dokunun homojen olmayan yapısına, ışığın uygulanma açısına, çevre ile materyalin ışık kırma indeksi arasındaki farka bağlı olarak oluşabilir. Lazer ışınının yansımalarının en büyük tehlikesi yansıldıktan sonra enerjisini daha diffüz hale getirebileceği için oftalmik dokulara zarar verebilmesidir (Coluzzi, 2004, 2008).

Saçılma: Lazer ışınının doku içine girdikten sonra yayılarak hedef bölgeden daha geniş bir bölgeyi etkilemesi demektir. Böylece istenilen yoğunlukta enerji transferi yapılamaz ve yararlı biyolojik etki sağlanamaz. Saçılan bu ışınlar, cerrahi alana komşu dokuda ısı birikimine ve termal hasara sebep olur (Coluzzi, 2004,2008).

2.3.4.2. Biyolojik Etkileşimler

Lazer ışını dokuda bazı biyolojik etkileşimler meydana getirir. Bu etkileşimler; ışının dalga boyuna, enerji miktarına, ışınlama süresine ve dokuların özelliklerine göre değişir. Lazer ışınının dokuda meydana getirdiği biyolojik etkiler;

-fotokimyasal etki

-fototermal etki

-fotomekanik etki olarak sınıflandırılabilir (Coluzzi, 2008).

Fotokimyasal etki: Lazer ışınının absorpsiyon sonrası herhangi bir termal etki meydana getirmeksizin hücrelerdeki molekül ve atomların fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirmesidir. Lazer ışınının fotokimyasal etkileri, dokuların iyileşmesindeki biyokimyasal ve moleküler işlemlerde uyarıcı rol oynarlar. Lazerin bu etkisi kullanılarak fotodinamik tedavi ve biyostimülasyon oluşturulabilmektedir (Miserendino ve Neiburger, 1987).

Fotodinamik tedavi: lazer ışınının, kanser tedavisinde uygulanan ilacı aktive ederek, ilacın makrofaj ve endotelial hücrelere alınmasını sağlayarak hücreler içinde sitotoksik fotokimyasal reaksiyon oluşturmaya dayalı deneysel bir yöntemdir. Bu etki ile tümörü besleyen damarların yok edilmesiyle tümöral dokuların nekrozu amaçlanır.

Biyostimülasyon: düşük enerjili lazerlerin kullanılmasıyla oluşan; anti-inflamatuar etki, fibroblast proliferasyonunun artması, ağrının azaltılması gibi biyolojik süreçleri kapsar (Asnaashari ve Safavi, 2013).

Bu süreç; arterio kapiller vazodilatasyon sonucu sıvı alış-verişinin uyarılmasıyla ödemin giderilmesi ve hücrelerin mitokondrilerinin uyarılarak artışı sağlanan ATP sentezi ile metabolik aktivitenin artırılmasıyla oluşur. Lazer lenfosit, granülosit ve kemotaksisi uyarır. Böylece nekrotik doku artıklarını yaradan uzaklaştırarak yaranın temizlenmesini sağlar (Asnaashari ve Safavi, 2013).

Fototermal etki: Lazer enerjisinin ısıya dönüşerek dokuyu tahrip etmesidir. Oluşacak termal etki doku tarafından absorbe edilen enerjinin miktarına bağlıdır. Absorbe edilen enerjiyi dokunun optik özelliklerinin yanı sıra lazer cihazının spot büyüklüğü, güç yoğunluğu, atım süresi ve frekansı etkiler. Lazerin fototermal etkileri, fotoablasyon, koagülasyon, hemostaz ve fotoprilizis yani dokunun yanması şeklinde sınıflandırılabilir.

Fotoablasyon, lazer ışınının, komşu dokulara zarar vermeden hedef dokunun atomik ve moleküler bağlarını kırmasıdır. Isı enerjisi, dokunun buharlaşma derecesinden fazla ise enerjinin büyük kısmının absorbe edilmesiyle oluşan ısı sonucu doku ani bir patlama sesi ile buharlaşır. Dişin sert dokusundan parçalar halinde madde kaldırılarak kavite hazırlanması bu etki ile sağlanmaktadır. Fotoablasyonda ışın doku içine kısa lazer atımları ile çok az bir miktar girebilir (Waynant, 2001).

Fototermal etkileşim, komşu dokuda ısı artışına sebep olur. Bu nedenle koagülasyon nekrozu gibi termal etkiler hedef sahaya komşu bölgelerde indirekt olarak

oluşur. İndirekt zararın boyutları, ışına maruz kalan dokunun ısı iletkenliğine bağlıdır. Isının dağılması veya termal rahatlama zamanı olarak adlandırılan süre; dokuda biriken ısı enerjisinin %37'sinin kaybedilmesi için gereken zamandır (Haris ve ark., 1989). Kollateral zarar; dokunun ısı iletkenliği, içerdiği su miktarı ve vaskülarizasyonu ile ilişkilidir. Kollateral zararın oluşmasının engellenmesi için termal rahatlama zamanının üç katı kadar süre beklenmelidir. Bu süre; cihazın uygun güç yoğunluğu ve atım süresi ayarlanarak elde edilebilir (Miserendino ve ark., 1989). Isının 300 °C'den fazla olması durumunda doku buharlaşır ve buharlaşan kısmın altında sıcaklığı 150 °C'den daha yüksek olan karbonize bir alan oluşur (De Mello ve ark., 2008) (Tablo 4).

Fotomekanik etki: Hızlı ve yüksek güçte lazer enerjisinin; doku ekspansiyonu ve şok dalgası oluşturarak hedef dokuda mekanik hasar meydana getirmesi demektir. Aynı zamanda *fotoakustik etki* olarak da adlandırılır. Dye lazerler bu etkiye sahiptir (Waynant, 2001).

Tablo-4. Isıya bağlı doku reaksiyonları

ISI (°C)	Doku Değişikliği
37	Geri dönüşümlü değişiklikler
40-45	Enzim salgılanması, ödem oluşumu ve zamana bağlı hücre ölümü
60	Protein denatürasyonu, koagülasyon nekrozu
80	Kollajen denatürasyonu, membran defektleri
100	Kuruma
150<	Karbonizasyon
300>	Buharlaşma

2.3.5. Lazer Sınıflaması

Medikal alanda kullanılan lazerlerin sınıflaması yapılırken farklı parametreler kullanılır (Low ve Reed, 1990;Mayer ve ark., 1993). Bunlar:

Kullanım Alanlarına Göre Lazerler:

1- Sıcak lazerler: Yüksek enerjili lazerlerdir. Fototermal etki ile fotoablasyon yaparlar.

2-Fotokoagülatör lazerler: Kanama kontrolünde kullanılırlar

3-Fotoradyan lazerler: Kanser tedavisinde kullanımı denenen lazerler

4-Soğuk lazerler: Biyostimülasyonda kullanılan düşük enerjili lazerler

Kullanılan Aktif Maddeye Göre Lazerler:

1- Katı lazerler:

Yakut (Ruby) lazer

Nd:YAG lazer

Holmium: Yttrium-Aluminum-Garnet lazer (Hol:YAG)

Er:YAG lazer

2- Sıvı lazerler:

Dye lazer

Rhodamine lazer

3- Gaz lazerler:

He-Ne lazer

Argon lazer

CO₂ lazer

Excimer lazer

4- Yarı iletken lazerler:

Gallium-Arsenide (Ga-As) lazer

Gallium-Aluminyum-Arsenid (Ga-Al-As) lazer

Dalga Boylarına Göre Lazerler:

1- Ultraviyole lazerler: Spektrumun ultraviyole kısmında kalan lazerlerdir.

Örn: Excimer Argon Fluoride lazerler

2- Görünür ışık lazerler: Argon, Potasyum-Titanyl-Fosfat (KTP) lazerler

3- Enfraruj lazerler: Spektrumun kızılötesi kısmında yer alırlar örn: Ga-As,

Ga-Al-As, Nd:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG ve CO₂ lazerler

Dokuda Hasar Oluşturma Risklerine Göre Lazerler:

1. Sınıf: Düşük güçte kullanıldıklarında biyolojik dokuda zarar oluşturmayan güvenli lazerlerdir. Örn: Diyet lazer.

2. Sınıf: Gücü 1 mW'ın altında olan ve ışığı gözle görülen lazerlerdir. Örn: He-Ne lazer. Göz kırpma refleksinin bu lazerlerden korunmak için yeterli olduğu kabul edilir.

3. Sınıf: Ciltle temasının tehlike arz etmediği, yangın tehlikesi oluşturacak kadar gücü olmayan, ancak doğrudan ya da yansıyan ışıklarına bakılmasının zararlı olduğu lazerlerdir. İki alt sınıfa ayrılır:

3a sınıfı: Işığa büyüteç, mikroskop gibi optik sistemlerle korumasız gözle bakılabilen lazerler

3b sınıfı: Gözlüksüz bakılmaması gereken lazerler

4. Sınıf: Yangın tehlikesi oluşturan, cilt ve göz için tehlike teşkil eden lazerlerdir. Bu lazerlerle çalışırken emniyet tedbirlerinin alınması gerekir. Tedavi amaçlı kullanılan lazerlerin çoğu bu kategoridedir.

Lazer Işınımının Hareketlerine Göre Lazerler:

- 1- Devamlı ışın veren lazerler
- 2- Atımlı ışın veren lazerler
- 3- Dalgalı akım olarak ışın veren lazerler

Dozlarına Göre Lazerler:

- 1- Yüksek doz lazerler:** Sert ya da sıcak lazerler olarak da adlandırılırlar. Cerrahi amaçlı olarak kullanılırlar. Örn: Argon, CO₂, Nd:YAG ve Er:YAG lazerler
- 2- Orta doz lazerler:** Yarı iletken lazerler de denir. Diyot lazer olarak da tanımlanırlar. Dalga boyu 830-904 nm'dir.
- 3- Düşük doz lazerler:** Soğuk ya da yumuşak lazer olarak da adlandırılırlar. Aktif madde olarak Galyum-Alüminyum-Arsenid ya da Helyum-Neon kullanılır. Güçleri en fazla 50-80 mW'a kadar çıkabilir. Dokularda fotokimyasal etki ile stimülasyon yaparlar. Atımlı veya devamlı mod özelliğine sahiptirler.

2.3.6. Dış Hekimliğinde Kullanılan Lazerler

Dış hekimliğinde lazer kullanımına 1980'li yılların sonunda başlanmıştır. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan lazerler şöyle sıralanabilir (Coluzzi, 2008) (Tablo 5).

2.3.6.1. CO₂ Lazerler

Aktif madde olarak CO₂ gazı içeren, elektromanyetik spektrumun kızıl ötesi iyonize olmayan dalga boyu kısmında yeralan, 10.600 nm dalga boyuna sahip lazerdir. Kesintili ve atımlı konumda kullanılabilme özelliği vardır (Pang ve ark., 2010).

CO₂ lazerlerin suya afinitesi çok fazladır. Bu yüzden yumuşak dokularda mükemmel bir kesi ve koagülasyon sağlar (Lai ve Poon, 2009). Sığ penetrasyon özelliği sayesinde mukozal lezyonların tedavisinde kullanılabilir. Termal enerjilerinin epitel yüzeyinde karbonizasyon oluşturması yüzünden dokunun re-epitelizasyonu iki haftadan uzun sürmektedir. CO₂ lazerlerle yapılan yumuşak doku lezyonlarının eksizyonunda, nüks oranının düşük olması bu özelliğinden kaynaklanmaktadır.

Hidroksiapatit kristallerinin, CO₂ lazer ışını absorbe etme miktarı çok fazladır bu yüzden dişlere yakın bölgelerde çalışılırken dişlerin korunması ve çok dikkatli olunması gerekmektedir (Waynant, 2001; Convissar, 2004).

2.3.6.2. Nd:YAG Lazerler

1064 nm dalga boyuyla elektromanyetik spektrumun yakın kızıl ötesi bölgesinde yer alan lazerlerdir. Sürekli ve aralıklı atımlı modunda çalışabilen katı aktif maddeli lazerdir. Enerjisi melanin tarafından yüksek oranda absorbe edilir. Bunu daha az oranda hemoglobin ve çok az oranda absorpsiyon yeteneğiyle su takip eder. Bakterisidal özelliği de vardır (Coluzzi ve Convissar, 2010). CO₂ lazerler gibi iyi bir hemostaz ve insizyon sağlarlar. Uygulanan yüzeyde minimum düzeyde absorbe edilir ve maksimum penetrasyona sahiptir. Böylece 2-3 mm çapındaki damarları ablasyona uğratarak iyi bir koagülasyon sağlar. Yumuşak doku cerrahisinde, hemanjiyom gibi vasküler lezyonlarda, insizyon ve koagülasyonda ayrıca artroskopik temporomandibuler eklem (TME) cerrahisinde kullanılabilir (Coluzzi, 2008; Tosun ve Taşar, 2012).

2.3.6.3. Er:YAG Lazerler

2940 nm dalga boyunda kızılötesi ışımaya sahip hidroksiapatit ve suya afinitesi yüksek olan bir lazer türüdür. Hemostatik kapasitesi düşük olduğu için daha çok sert doku cerrahisinde kullanılır (Tosun ve Yaşar, 2012). Fotoablasyonla doku ve organik yapıların bileşimindeki suyu buharlaştırıp, organik yapıların parçalanmasını sağlayarak dokuya etki eder (Coluzzi, 2008).

2.3.6.4. Argon Lazerler

457- 502 nm dalga boyuna sahip görünür ışık üreten, atımlı veya devamlı çalışma modunda kullanılabilen lazerlerdir. Hemoglobinin tarafından absorpsiyonu yüksektir bu yüzden; mukozal patolojiler ve diş eti estetiğinin sağlanması gibi yumuşak doku cerrahisinde kullanılırlar (Coluzzi, 2008).

2.3.6.5. Ho:YAG Lazerler

2100 nm dalga boyunda atımlı moda çalışan ve aktif ortamında Yitrium Alüminyum Garnet kristali bulunan katı lazerdir. Su absorpsiyon kapasitesi CO₂ lazerle Nd:YAG lazer arasındadır bu yüzden koagülasyon kapasitesi ortalama bir değerdedir. Genel olarak TME cerrahisinde diskoplasti, diskektomi ve sinovektomi gibi işlemlerde kullanılırlar (Strauss ve Fallon, 2004).

2.3.6.6. Diyet Lazerler

“Sert” ya da “sıcak” lazerler olarak adlandırılan; yumuşak ve sert doku cerrahisinde ve dental tedavilerde gayet başarılı bir şekilde kullanılan CO₂, Nd:YAG ve Er:YAG lazerlerin yüksek maliyetleri ve pulpa üzerindeki termal etkileri nedeniyle kullanımları sınırlandırılmak zorunda kalmıştır. Medikal kullanım aralığının diğer ucunda ise “soğuk” ya da “soft” lazerler olarak bilinen yarı iletken diyet lazerler yer almaktadır. Tıp ve diş hekimliğinde diyet lazerler, “düşük enerjili lazer tedavisi” (DELT) veya “Biyostimülasyon” terimiyle ifade edilen uygulamalarda kullanılırlar (Asnaashari ve Safavi, 2013).

Diyet lazerler katı, yarı iletken bir aktif ortama sahiptirler ve aktif madde olarak Galyum, Arsenid, Alüminyum ve İndiyum gibi elementlerin kombinasyonlarını kullanırlar. Devamlı dalga boyunda düşük ayarda ve kısa uygulama süresiyle veya araklı atım modunda yüksek ayarda uzun uygulama süresiyle kullanılabilirler. Dental amaçlı kullanılan diyet lazerler 800- 980 nm arasında değişen dalga boyuna sahiptirler, bu nedenle elektromanyetik spektrumunda non-iyonize yakın kızıl ötesi ışın aralığında bulunurlar (Klim ve ark., 2000).

Galyum Arsenid Diyet Lazer (GaAs): Su ve deri pigmentleri tarafından düşük absorpsiyona uğradıklarından dolayı subkutanöz dokularda derin penetrasyona uğrarlar. Dalga boyları 904 nm’dir.

Galyum Alüminyum Arsenid Diyot Lazer (GaAlAs): 820-830 nm dalga boyuna sahiptir. Hemoglobin ve su tarafından düşük absorpsiyona uğrarlar. Bu yüzden yüksek doku penetrasyon derinliğine sahiptirler. Mukozanın altında 4-8 mm uzaklıktaki kemiğe ve sinir dokuya ulaşabilirler (Miloró ve Repasky, 2000; Cerqueira ve ark., 2007).

Tablo 5. Lazerlerin özellikleri ve diş hekimliğinde kullanım alanları

Lazer tipi	Dalga boyu	Dalga formu	Uygulamalar
CO₂ lazer	10,6 µm	Atımlı veya devamlı	Yumuşak doku insizyonu ve ablasyonu, periodontal rejeneratif uygulamalar, dişetin reepitelizasyonu
Er:YAG lazer	2,94 µm	Atımlı	Çürük temizlenmesi, mine ve dentinde kavite hazırlanması
Nd:YAG lazer	1,064 µm	Atımlı	Yumuşak doku insizyonu ve ablasyonu, başlangıç çürük lezyonların temizlenmesi
Ho:YAG lazer	2,1 µm	Atımlı	Yumuşak doku insizyonu ve ablasyonu
Argon lazer	457-502 nm	Atımlı veya devamlı	Reçine polimerizasyonu, yumuşak doku insizyonu ve ablasyonu, diş beyazlatma
Er,Cr:YSGG lazer	2,78 µm	Atımlı	Mine pürüzlendirilmesi, çürük temizlenmesi ve kavite hazırlanması, kemikte yanma erime ve kalsiyum-fosfor oranı değişmeksizin kesi yapılması, kök kanalı şekillendirilmesi
Diyot lazer	810-980 µm	Atımlı veya devamlı	Yumuşak doku insizyonu ve ablasyonu

2.3.7. Düşük Enerjili Lazer Tedavisi (DELT)

Düşük enerjili lazer tedavisi doku tamirini artırmak, enflamasyonu azaltmak ve ağrıyı dindirmek amacıyla kullanılmaktadır.

2.3.7.1. DELT Tarihçesi

1967’de lazerle biyostimülasyonun öncüsü olarak kabul edilen Andrew Mester; yüksek enerjili lazerlerin düşük dozda kullanılması ile ışın trasesi üzerindeki dokularda termal etki oluşturmaksızın biyolojik değişiklik oluşturduğunu bulmuştur (Mester ve ark., 1985).

1968’de Mester; Ruby, Argon ve He-Ne lazeri hücreler üzerinde düşük dozda kullanmıştır (Mester ve ark., 1985). Bu çalışmasında ayrıca, açık yaralarda lazer etkisi altında oluşan değişiklikleri histolojik, immünolojik ve elektromikroskopik olarak incelemiştir. Bu deney sonucunda lazer ışınına maruz kalan bölgelerde; kollajen sentezinin arttığı, neovaskülerizasyonun indüklendiği ve artmış enzimatik aktivasyonun olduğu bulunmuştur.

1969’un sonunda Mester “düşük enerjili lazer uygulamaları” başlıklı bir makale yayınlarak düşük enerjili lazerlerin iyileşmeyen veya kötü iyileşen yumuşak doku yaralarındaki pozitif etkilerini kanıtlamıştır (Mester ve ark., 1985).

1980’li yılların başında geliştirilen Ga-Al-As lazer ile 1991 yılında düşük dozlu lazer tedavisi ilk kez ağrının giderilmesi amacı ile uygulanmıştır (Brinkerhoff, 1998).

Uygulanan DELT’nin dalga boyu, yüksek enerjili lazerlerin düşük dozda kullanılmasına bağlı olarak 630-1300 nm arasında olmuştur. Bu dalga boyunda bile birkaç santimetrelik penetrasyon kapasitesine ve mitokondri gibi hücre kromoforlarına ulaşım sağlandığı belirtilmiştir (Mester ve ark., 1985).

Günümüzde DELT’nin yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin sadece yumuşak doku ile sınırlı olmadığı; kemik iyileşmesi, kas fibrillerinin gevşetilmesi, analjezinin sağlanması ve sinir rejenerasyonunda da etkili olduğu bilinmektedir (Asnaashari ve Safavi, 2013).

2.3.7.2. DELT’nin Etki Mekanizması

DELT’de enerjinin absorpsiyonu vital dokularda ısınmaya veya hasara neden olmaz. Gönderilen lazer ışını fotonlarının enerjisi, hücreler tarafından absorbe edilir ve

fotobiyostimülasyon olarak adlandırılan stimülasyon gerçekleşir (Turner ve Hode, 2007).

Bazı çalışmalar da DELT ile bağışıklık sisteminin uyarılabileceği öne sürülmüştür. Araştırmacılar lazerin normal doku büyümesini, enzimatik aktivasyonu artırmak suretiyle hızlandırdığı konusunda hem fikirdirler (Eghbali, 2009).

İnsan vücudunda fotonlar; göz, cilt ve mukozadan absorbe edilirler. Fotonları absorbe eden moleküller foto alıcılar (acceptor) ve fotoreseptörler olarak sınıflandırılırlar.

Foto alıcılar, anahtar hücre yapılarının bir parçasıdır ve doğrudan ışığa tepki vermezler. Fakat ışıkla aktive edildikten sonra bir reaksiyonun başlayıp bitmesinde rol oynarlar. Bu maddeler hücre solunum zinciri ve mitokondride yer alırlar. Bu moleküllerin örnekleri; sitokrom C oksidaz, flavoproteinler, riboflavinler ve porfirin halkalarıdır. Hücreler redoks halindeyken; foto alıcılarının ışık düzenleyici bir rolü vardır. Kırmızı ve kızılötesi aralığındaki dalga boylarının etki alanı mitokondrilerdir ve bu dalga boyları, sitokromlar gibi solunum zincirinin oksidasyonundan veya redüksiyonundan sorumlu molekülleri etkiler (Eells ve ark., 2004; Karu, 2008; 2010). Hücre zarı ve matriksi; kırmızı ve kızılötesi dalga boyları için diğer etki alanlarıdır. Flavoproteinler ve riboproteinler ultraviyole aralığın foto alıcılarıdır (Derr ve Fine, 1965).

Elektronlar sitokrom ile oksijene aktarılır. Mitokondriyal zar içindeki elektron yükünün değiştirilmesi ve aktarılması, ATP sentez yolu potansiyelini % 300'e kadar aktive eden elektrokimyasal potansiyel ile sonuçlanır. ATP'nin artması, RNA ve DNA sentezini artırarak protein sentezi oluşmasını sağlar (Passarella ve ark., 1984; Yu ve ark., 1997; Ben-Dov ve ark., 1999; Karu ve Kolyakov, 2005; Dyson, 2006; Karu, 2008; Holder ve ark., 2012).

Lazerin hücre üzerindeki etkisi, yalnızca kendi dalga boyuna bağlı değildir, aynı zamanda hücrenin oksidasyon durumu ile ilgili kromoforlara da bağlıdır. Normal veya normal duruma yakın bir şekilde olan oksidasyon durumlarında lazere yanıt zayıf olmasına karşın, hücre biyolojisinde çeşitli tepkilerin sebebi olan indirgenme durumunda yanıt daha güçlüdür (Asnaashari ve Safavi, 2013). Belli dalga boylarının ışınlanması, diğer dalga boylarının foto alıcılarının aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu, hedef foto alıcılarının oksidasyonunda ve redüksiyonunda oluşan değişimin, diğer dalga

boylarının emilimini etkilediği anlamına gelir. Sitokrom C oksidaz, kırmızı ve kızılötesi spektrumun fotoalıcısıdır; flavoprotein ise ultraviyole spektrumun foto alıcı molekülüdür. Aktive edilmiş durumda oksidazların emilimi kısmi olup, bu durum bazı hastalıklar için farklı dalga boyları ile kombinasyon tedavilerinin temelini oluşturmaktadır (Karu, 1996).

DELT'nin hücreler üzerine etkisi:

Lazer ışınının hücreler üzerine etkisi iki kategoriye ayrılır: primer ve sekonder

Primer etkileri: Lazer ışınlanması sırasında oluşan reaksiyonlar hücre içinde oksidasyon ya da redüksiyona neden olan Redox durumunda değişikliğe yol açar. Genel olarak, tüm hücre metabolik reaksiyonları Redox durumu ile kontrol edilir. Hücrenin lazere yanıtı, Redox seviyesine göre farklılaşır. Normal ya da normale yakın durumlarda reaksiyonlar zayıf oluşurken, transfer durumunda veya redüksiyona eğilim varsa oluşan reaksiyonlar daha yüksektir. Bu nedenle, lazer normal Redox seviyesine sahip hücrelere etki etmemektedir. Bu da DELT'nin en önemli avantajlarından (Mokmeli, 2004; Eslami Faresani ve ark., 2006; Tuner ve Hode, 2007; Zhang ve ark., 2009; Sevetto ve ark., 2010; De Lima ve ark., 2013; Lim ve ark., 2013).

Sekonder etkileri: Lazer ışınlanmasından sonra devam eden biyolojik olaylardır. Mitokondrial stimülasyondan sonra bir dizi biyokimyasal reaksiyon başlar ve son olarak hücre ATP miktarı artar; bu da mRNA aktivasyonu ve DNA replikasyonuna ve sonunda protein sentezine yol açar. Lazerin çeşitli dalga boylarındaki etkisi, hücre DNA'sını ve protein miktarını ölçerek değerlendirilir. Sentezlenen protein genellikle nörotransmitter, koenzim, enzim veya kritik süreçleri düzenleyen başka bir maddedir.

Bu süreci takiben, lazer etkileri hücre seviyesinden dokulara ve organ veya makrovasküler seviyelere yayılır (Asnaashari ve Safavi, 2013).

Lazerin doku seviyesindeki etkileri ikiye ayrılır:

Birincil cevap; Vazodilatasyonla kan dolaşımı ve lenfatik drenaj artışı; nötrofil ve fibroblast aktivitesinin artmasını, hücresel metabolizmanın geliştirilmesini ve ağrı reseptörlerinin uyaran eşliğinin artırılmasını içerir (Asnaashari ve Safavi, 2013).

İkincil cevap ise;

- PGL2 gibi anti-enflamatuar etkiye sahip bazı prostaglandinlerin konsantrasyonunun artmasını

- İmmünoglobülinlerin, lenfokinlerin ve bunların bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin artmasını.

- Analjezide etkili olan beta endorfinleri ve enkefalinlerin artmasını içerir.

Yukarıda bahsedilen tepkiler aşağıdaki yanıtları içeren fizyolojik sonuçlara neden olur (Mokmeli, 2004):

- Biyolojik sistemi uyarır
- Bağışıklık sistemini uyarır
- Anti inflamatuvar ve anti ödem etki eder
- Damarlar ve dolaşım sistemi üzerine etki eder
- Yara iyileşmesine etki eder
- Sinirlerde rejenerasyonu sağlar
- Analjezik etki eder

DELT'nin anti-iflamatuvar ve anti ödem etkisi

DELT inflamasyonun 3 fazını da etkiler. Lazer şişlik, kızarıklık, sıcaklık artışı, ağrı ve inflamasyonu aşağıdaki mekanizmaları takip ederek azaltır (Aimbire ve ark., 2006; Pejicic ve ark., 2010; Mart,u ve ark., 2012; Kim ve ark., 2013; Meneguzzo ve ark., 2013;Asnaashari ve Safavi, 2013).

-Prostaglandin sentezini değiştirir (PGE, PGF2 α); PCL2 sentezini artırır.

-Bradikinin sentezini engeller. Vazodilatasyonda artışa sebep olur. Ayrıca "migrasyon inhibitör faktörünün" salgılanmasını artırarak lenfatik drenajın artmasını sağlar.

-Histamin salgılanmasını bastırır.

DELT'nin biyositümülatif etkisi

DELT, hücrelerin Redox sistemini etkileyerek anaerobik metabolizmayı aerobik yöne çevirir. Anaerobik metabolizma ağrı oluşturmasının yanı sıra atık ürünleri ve pH'nın düşürülmesi yoluyla iyileşme sürecini de yavaşlatır. Dolayısıyla metabolizmanın aerobik yöne kayması DELT'nin en önemli biyositümülatif etkisidir (Walsh, 1995; Walsh ve ark., 2006;Asnaashari ve Safavi, 2013).

DELT'nin kemik dokusundaki stimülatif etkilerinin mitokondriyal ATP üretimi ve hücre zarındaki düzenleme üzerindeki etkisine bağılı olduğı düşünölmektedir (Ueda ve Shimizu, 2003; Posten ve ark., 2005)

DELT'nin kemik üzerine etkisinin araştırıldığı bir diğere çalışmada ise; lazer enerjisinin kemik iyileşmesini artırıcı etkisinin osteoklastlar üzerine direkt ve osteoblastlara ise dolaylı yoldan etki ederek olduğı rapor edilmiştir (Nicola ve ark., 2003).

DELT'nin osteoblastlar üzerine etkisinden başka, kemik iyileşmesi esnasında ALP seviyesini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Ozawa ve ark., 1998).

DELT'nin bağışıklık sistemine etkisi

Kırmızı ve kızılötesi ışınlar aşağıda anlatılan mekanizmaları etkileyerek bağışıklık sistemini etkiler (Walsh ve Lavker 1990; Walsh, 1995; Pereira ve ark., 2010; Asnaashari ve Safavi, 2013).

- T lenfositlerin aktivasyonu (yardımcı T hücreleri, T supresörü)
- Bağışıklık modölyasyonu
- Artmış makrofaj ve lenfosit aktivitesi
- Fagositoz artışı
- İmmunoglobölin ve lenfokin artışı
- Kompleman sisteminin aktive edilmesi

DELT'nin yara iyileşmesine etkisi

Lazer tedavisinin en iyi incelenen etkilerinden biri yara iyileşmesidir. Yara iyileşmesinin sağlanması için dokunun lazer ışını ile uyarılması gerekmektedir. Bu uyarılma için gerekli olan enerji yoğunluğunun aynı zamanda dokularda istenmeyen bazı etkilere sebep olmasından korkulmaktadır. Elektromanyetik radyasyon yeterli yoğunluğa (yüksek Watt) ve/veya yüksek enerjili fotonlara (kısa dalga boyu) sahipse canlı dokuda tahribat meydana getirebilir. DELT'nin kansere sebep olup olmadığı kullanılmaya başlandığı ilk günden beri akıllarda bir soru işareti oluşturmuştur. 320 nm'den kısa dalga boyuna sahip fotonlar dokudaki moleköl ve atomları iyonize ederek kansere sebep olabilir. Lazerin hem dozu (giriş enerjisi: cildin her cm²'si üzerine düşen enerji olarak ölçölür) hem de güç yoğunluğu kanser için risk faktörüdür. Lazer tedavisinde kullanılan dozlarda kırmızı ve kızılötesi aralıktaki dalga boyunda herhangi

bir karsinogenik etki görülmemiştir, ancak kanserli bölgeye uygulandığında kanserin büyümesini tetikleyip tetiklemediğiyle ilgili kesin bir bilgi bulunmamaktadır.

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada; lazer terapi ile tedavi edilen küçük boyuttaki tümörlerin neredeyse tamamen kaybolduğunu, fakat belirli bir boyutun üzerindeki tümörlere hiç etki etmediği bulunmuştur (Asnaashari ve Safavi, 2013).

DELT için günümüze kadar He-Ne, Ruby, Argon, CO₂Nd:YAG lazerler kullanılmışlardır. Fakat günümüzde yarı iletken diyot lazerler (Ga-As, Ga-Al-As, Ga-Alln-P) lazer tedavisinin temelini oluşturmaktadırlar. Diyot lazerlerin biyostimülatif etkilerine ek olarak ekonomik, hafif ve taşınabilir olmaları da kullanımlarını yaygınlaştırmaktadır (Tuner ve Hode, 2007).

DELT'nin diş hekimliğinde kullanımı

Oral kavite; biyolojik koşulları, ulaşım kolaylığı ve hasta kooperasyonu açısından DELT kullanımı için en uygun bölgelerden biridir. DELT yumuşak dokular (mukoza, kas, cilt), sert dokular (kemik, diş) ve TME dâhil olmak üzere ağız boşluğunda ve çevre dokular üzerinde başarılı bir şekilde kullanılabilir.

Lazer kullanımı minimum anestezi gerektirir ve zamandan tasarruf sağlar. Bazı tedavilere (ilaç, cerrahi, fizyoterapi gibi) destek olarak kullanılabilirdiği gibi tek başına bir tedavi olarak da uygulanabilir. Lazerin normal doku fizyolojik durumunun yeniden sağlanmasına neden olan anti-enflamatuvar, analjezik ve biyostimülatif etkileri vardır.

DELT, diş hekimliğinde yumuşak doku cerrahisi, diş eti ve mukozanın kesilmesi, koagülasyonu, yumuşak doku küretajı, sulküler debridman, periodontal cep ve periimplantitis tedavisi gibi çok çeşitli alanlarda uygulanabilirler. Ayrıca post-operatif ağrının azaltılması, TME yaralanmaları, kemoterapiye bağlı ülserasyonlar, post-herpetik nevralji, ONJ vakalarında destekleyici tedavi ve rekürrent aftöz ülserlerin tedavisinde kullanılmaktadırlar (Tosun ve Taşar, 2012). Oluşturulmak istenen tedavi yöntemi, klinisyen tarafından uygun dalga boyu ve etkili dozun seçilmesi ile sağlanır. Uygulanan tedavi ve ilaçların etkisi nasıl ki bireyden bireye farklılık gösteriyorsa; DELT'nin etkisi de uygulanan doku ve hastanın immün yanıtına göre değişkenlik gösterir. Ayrıca lazer tedavisinin seansları; hastanın vucut direnci ve hastalığın akut ya da kronik olması göz önüne alınarak günlük veya gün aşırı olmak üzere belirlenebilir.

Lazer tedavisi yeni bir tedavi şekli olduğundan, yöntem ve tedavi şartları araştırmacılar tarafından sürekli olarak değerlendirilmekte ve geliştirilmektedir. Tedavi

başarısızlığı çoğunlukla yanlış yöntemin veya yetersiz dozun seçilmesinden kaynaklanmaktadır ve bu durum lazerin yetersizliği için bir neden değildir (Eghbali, 2009).

2.3.8. Lazer Güvenliği

Lazer diş hekimliği uygulamalarında çok kullanışlı olmakla beraber; aynı zamanda yanlış kullanımlarda tehlikeli sonuçlar doğurabilen tehlikeli bir araçtır.

Doğru lazer seçimi ve uygulamaları primer olarak cerrahın teorik bilgisine ve deneyimine bağlıdır. Günümüzde bu kar/zarar oranının pozitif yönde değiştirilmesi için pek çok merkez; lazer kullanımı öncesi klinisyenin lazer güvenliği açısından eğitim almasını şart koşturmaktadır (Walsh ve ark., 2006; Parker, 2007).

Medikal olarak kullanılan lazerlerin pek çoğu elektromanyetik spektrumun insan gözünün göremeyeceği kısmında yer alır. CO₂, Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG ve diyet lazerler kızılötesi bölgede yer alırken; Excimer lazer morötesi ışınım yapar. Görünen spekturumda Argon, Dye, Kripton ve He-Ne lazerler yer almaktadır. Lazer ışınının görünmez oluşu ve dalga boyuna bağlı olarak yüzeylerden yansiyabilmesi tehikesini daha da artırmaktadır (Walsh ve ark., 2006; Parker, 2007).

Lazer radyasyonu ilk olarak gözleri ve deriyi etkiler. Oftalmik hasar genel olarak geri dönüşümsüz olmakla beraber; deri lezyonları zamanla iyileşebilmektedir.

2.3.8.1. Lazer Güvenlik Sınıflaması

Gözlerin ve diğer dokuların lazer ışığına maruz kalması durumunda oluşabilecek zararlara göre lazerler sınıflandırılmıştır. Son sınıflandırma revizyonu 2003 yılında yapılmış ve 7 grup oluşturulmuştur (Piccione, 2004).

Sınıf I: Bu gruptaki lazerler tehlikeli ışın yaymazlar. Çürük tespitinde ve CD çalarlarda kullanılan lazerler bu grupta yer alırlar. Korunma için gözlük kullanılmasına gerek yoktur fakat optik gözlük kullanılıyorsa dikkat edilmelidir.

Sınıf IM: “M” büyüteçli aletleri tanımlamak için kullanılmıştır. Bu sınıftaki lazerlerin çıplak göz için bir tehlikesi bulunmazken; büyüteç özelliği olan cihazlarla bakıldığında göze zarar verme potansiyelleri vardır.

Sınıf II: güçleri 1 mW’ın altındaki lazerlerdir. Gözle görülebilir ışın saçarlar ve direkt olarak lazer içine bakılmadıkça oftalmik dokular için tehlike teşkil etmezler. Göz

kırpma refleksinin bu tür lazerlerden korunma için yeterli olduğu varsayılır. Lazer pointerler örnek olarak verilebilir.

Sınıf IIM: IM grubu lazerler gibi içine büyüteçli cihazlar ile direkt bakılmadığı sürece güvenli sayılırlar.

Sınıf III: Bu sınıftaki lazerlerin kullanımı sırasında cilt ve göz tehlike altındadır. Kısa süreli maruziyetin bile hasar verebilme ihtimali olduğundan; kullanımı esnasında hekim, yardımcı personel ve hasta koruyucu önlemler almalıdırlar.

Sınıf IIIR: Bu gruptaki lazerler kısa süreli maruziyette dahi hasar oluştururlar. Bu yüzden kullanım esnasında gözlük kullanılması gerekir.

Sınıf IV: Bu sınıftaki lazerlerin güçleri 0,5 W'tan yüksektir. Diş hekimliği ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan lazerler bu gruptadır. Bu grup lazerler tehlike açısından en yüksek riskli lazerlerdir. Yangın oluşturma riskleri vardır.

2.4. EKSTRAKORPOREAL ŞOK DALGA TEDAVİSİ (ESWT)

2.4.1. Tanımı ve Tarihçesi

ESWT, yüksek enerjili ses dalgalarının vücudun istenen bölgelerine odaklanarak ilgili bölgede tedavi sağlanmasına dayalı bir yöntemdir.

Şok dalgalarının canlı doku üzerinde etkili olduğu, ilk olarak 2. Dünya Savaşı sırasında su bombalarına maruz kalan bireylerde; fiziksel şiddete ilişkin hiçbir bulgu bulunmadığı halde akciğer hasarı tespit edilmesinden sonra fark edilmiştir. 1950 yılından itibaren şok dalgalarının tıpta kullanımıyla ilgili çalışmalar yapılmaya başlanmıştır.

1970'li yıllardan itibaren ESWT'nin üriner sistem taşlarının kırılmasında kullanılabileceği ile ilgili görüşler öne atılmış ve in vitro olarak böbrek taşı kırma işlemi böbrek taşına temassız olarak gerçekleştirilmiştir (Shah ve Whitfield, 2002). Chaussy ve ark., 1980 yılında prototip Dornier HM1 (human model 1) litotriptör kullanarak renal pelvis taşının tedavisini şok dalgaları kullanarak in vivo olarak gerçekleştirmiştir.

1985 yılında şok dalgaları safra taşlarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Paumgartner ve Sauter, 2005).

1990 yılında Gerald Haubt, ESWT ile üreter ve mesane taşlarını tedavi ettiği hastalarının 1 yıllık takibi sonrasında rayografik incelemede iliyaik kemik korteksinde kalınlaşma olduğunu fark etmiştir. 1991 yılında, iyileşmeyen kırıkların tedavisinde ilk

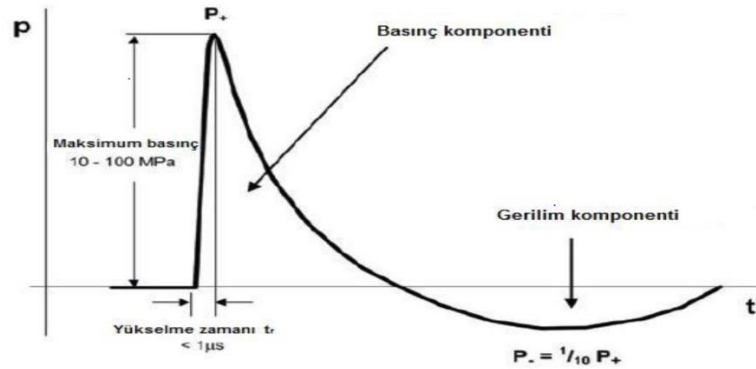
kez ESWT kullanarak %85 başarı oranı yakalanması bilim dünyasında büyük bir etki yaratmıştır (Valchanou ve Michailov, 1991).

1990'lı yıllardan sonra ESWT epikondilit, tendinit, bursitis, topuk dikenini gibi yumuşak doku hastalıklarında kullanılmaya başlanmıştır (Baloğlu ve ark., 2003; Shrivastava ve Kailash, 2005). Şok dalgalarının parotis kanal taşı tedavisinde (siyalolitotripsi) ilk kullanımı 1989 yılında olmuştur (Eggers ve Chilla, 2005).

Günümüzde ESWT üroloji, ortopedi, fizik tedavi alanlarında; böbrek taşlarının kırılması, kronik non-union, femur başının avasküler nekrozu, plantar faciitis, kalsifiye tendinitis ve radial epikondilit gibi hastalıkların tedavisinde aktif bir şekilde kullanılmaktadır (Hausdorf ve ark., 2011).

2.4.2. Şok Dalgasının Fiziksel Özellikleri

Şok dalgası: elektrohidrolik, elektromanyetik veya piezoelektrik yöntemlerle üretilen, ortam basıncından dalga cephesindeki maksimum basınca ani bir yükselme ve ardından düşük gerilme amplitüdü ile karakterize yüksek genlikli ses dalgasıdır (Zelle ve ark., 2010) (şekil 11). Uluslararası Tıbbi Şok Dalgası Tedavisi Derneğinin yaptığı tanımlamaya göre tıbbi şok dalgası; yüksek pik basınçlı (500 bar), kısa yaşam döngülü (10 ms), hızlı basınç artışı (10 ns) ve geniş frekans aralıklı (16-20 MHz) atımlı ses dalgaları olarak tanımlanmıştır.



Şekil 11. Kısa yükselme zamanını takiben pozitif basınç aşamasıyla karakterize tipik şok dalgasının şematik çizimi (Rompe, 2002).

Basınç formundan, akustik enerji ve enerji akışı yoğunluğu gibi fiziksel parametreler hesaplanabilir. Çoğu fiziksel etkiler (böbrek taşının kırılması gibi)

dalganın enerji içeriğine bağlıdır. Şok dalgasının akustik enerjisi; dalganın etki ettiği alanda belirlenmelidir. Bu değer basınç darbesinin zaman integraline eş değer alan üzerinde odak düzlemindeki enerji akışı yoğunluğunu bütünleyerek hesaplanır. Eksen simetrisinden dolayı, şok dalgasının enerjisini hesaplamak için odak düzlemindeki x veya y eksenini boyunca basıncı ölçmek yeterlidir. (Rassweiler ve ark., 2011). Herbir bölgedeki enerji yoğunluğunun hesaplanmasında kullanılan bir diğer önemli parametre “enerji akış yoğunluğu” dur. Yoğunluk odak düzlemindeki şok dalgasının zamansal basıncını (hem pozitif hem negatif) içerir. Her bir 1 mm² alana iletilen maksimum akustik enerji miktarıdır ve birimi milijoule/milimetre² (mj/mm²)’dir (Rompe, 2002; Wang, 2003;Novak, 2010).

ESWT’nin etkinliği, mj/mm² birimi ile ölçülen enerji akış yoğunluğu üzerine kurulmuştur. Literatürde yaygın olarak kullanılan düşük, orta ve yüksek enerjili tedavi terimleri bu terimlerle ilişkili olan enerji akış yoğunluğunu ifade eder. Bu enerji yoğunlukları üzerine net bir fikir birliği yoktur (Chao ve ark., 2008). Rompe ve ark., <0,08 mj/mm² olan enerjiyi düşük; 0,08- 0,28 mj/mm² arasını orta ve 0,28-0,60 arasını ise yüksek enerjili olarak tanımlamışlardır (Rompe ve ark., 1998). Mainz, 0,08-0,27 mj/mm² arasını düşük; 0,28-0,59 mj/mm² arasını orta ve >0,60 enerji yoğunluğunu ise yüksek enerji olarak tanımlarken; Kassel, < 0,12 mj/mm² ise düşük enerji ve > 0,12 mj/mm²’i ise yüksek enerji olarak tanımlamıştır (Speed, 2004).

İlk geliştirilen ESWT cihazlarında enerji düzeyleri mj/mm² yerine kV (kilovolt) olarak gösterilmiştir. 4 barlık basınç kuvvetinin yaklaşık olarak 0,18 mj/mm²’lik enerji akış yoğunluğuna denk geldiği literatürde ifade edilmektedir (Ogden ve ark., 2001; Furia ve ark., 2009; Novak, 2010).

Şok dalgaları; elektrohidrolik, elektromanyetik, piezoelektrik ve radyal balistik olmak üzere dört farklı mekanizma ile elde edilirler.

Elektrohidrolik yöntemde, iki elektrod uçları arasından çıkan kıvılcım enerji kaynağı olarak kullanılır ve bir elektrottan diğerine geçen kıvılcım suyun buharlaşmasına ve şok dalgası oluşmasına sebep olur. Bu küresel şok dalgaları metal bir elipsoid yardımıyla yansıtılır ve hastanın vücudundaki hedef noktaya iletilebilmek için ikincil bir noktada odaklandırılır (Gollwitzer ve ark., 2013).

Elektromanyetik yöntemde, elektromanyetik bobin ve yarı geçirgen membran kullanılır. Elektromanyetik bobin içinden geçirilen elektrik akımı güçlü bir manyetik

alan oluşturur ve manyetik basınç denilen oluşturulmuş elektromanyetik kuvvet, suda buna karşı gelen bir basınca (şok dalgası) neden olur. Şok dalgasındaki enerji bir akustik lens ile odaklanarak hedef üzerine yoğunlaştırılır. Silindirik kaynak kullanan bir elektromanyetik sistem daha vardır. İki sistemde de dalgaların odaklandığı tek bir odak noktası bulunmaktadır (Wein ve ark., 2014).

Piezoelektrik yöntemde, bu jeneratör her biri yüksek voltaj uygulandığında hızla genişleyebilmek için uyarılabilen küçük, polarize, polikristalin, seramik (baryum titanat) elementlerin mozağından meydana gelir. Yeterli basıncın oluşturulabilmesi için 300 ile 3000 arasında kristal gerekir. Piezoelektrik sistemler genel olarak önşok yakınsamasına izin vermek için küresel bir tabağın içine yerleştirilirler. Sistemin odak noktası tabağın odak noktasıyla aynıdır. Bu sistem düzlemsel şok dalgaları üretir ve avantajları arasında odaklama netliği, uzun ömürlü olması ve anestezisiz uygulanabilirliği sayılabilir (Wein ve ark., 2014).

Radial şok dalgaları ise merminin kinetik enerjisini doğrusal olarak genişleyen basınç dalgalarına çeviren bir aplikatöre çarptırılarak balistik olarak elde edilir. Radial şok dalgaları düşük yoğunlukludurlar, fakat büyük bir alanın tedavisinde kullanılabilirler. Radyal olarak yani odaklanmadan ilerlerler (Gerdesmeyer, 2004)

Fokal şok dalgaları daha derin doku penetrasyonuna (10 cm) ve daha yüksek güç etkisine (0,08- 0,28 mj/mm²) sahiptir. Radial şok dalgaları hava kompresörleri tarafından üretilen basınç dalgalarıdır. Daha düşük penetrasyona (3 cm), daha düşük enerjiye (0,02- 0,06 mj/mm²) ve daha az biyolojik etkiye sahiptir (Greve ve ark., 2009). Radial şok dalgalı cihazlar yeni üreilmeye başlanmıştır. Enerjilerinin yalnızca ¼ 'ü hedefe ulaşabilir. Radial ekstrakorporeal şok dalga tedavisinin (rESWT) daha yüzeysel mukoskeletal bozukluklarda kullanılmasının nedeni budur (Greve ve ark., 2009).

2.4.3. Şok Dalgasının Etki Mekanizması

Şok dalgasının etki mekanizması tam olarak anlaşılacakla beraber araştırmalar devam etmektedir. ESWT'nin olası etki mekanizması; mekanik, moleküler ve analjezik etki mekanizması olmak üzere 3 şekilde açıklanabilir (Mouzopoulos ve ark., 2007).

Başlangıçta şok dalgalarının çalışma mekanizması, üzerine yönlendirildiği kemikte yumuşak doku hasarı oluşturmadan mikro lezyonlar oluşturduğu hipotezi

üzerine kurulmuştur. Tedavinin temelini nonunion görülen alanlarda mikrolezyon oluşturarak kemik iyileşmesinin stimüle edilmesi olduğu kabul edilmiştir. Tischer (2008), bu teoriyi tavşan sağlıklı femurlarında şok dalgası uygulaması sonrası mikro hasar oluşturmadan yeni kemik oluşumunu göstererek çürütmüştür (Shaden ve ark., 2015).

Şok dalgası tedavisinin öncülerinden biri olan Wang'ın, tedavi edilen dokularda bozulma oluşmadan neovaskülarizasyon oluştuğunu göstermesiyle şok dalga tedavisinin kapsamı büyük oranda değişmiştir (Wang ve ark., 2003). Çeşitli pro-anjiogenik ve pro-osteojenik büyüme faktörlerinin salınımının artırılması kemik iyileşmesini uyarır (Schaden ve ark., 2015). Bu bilgi, ESWT'nin çalışma mekanizmasına farklı bir açıdan bakılmasına ışık tutmuştur ve mekanotransdüksiyon kavramının çalışma mekanizmasının temeli olmasını sağlamıştır. Son çalışmalar; bu hipotezin kanıtlanmasına ve bu mekanizmaya katılan yolların aydınlatılmasına ışık tutmaktadır. Bu bilgiler ışığında ESWT, nonunion tedavisinde cerrahi tedaviye karşı etkili bir alternatif olmuştur (Schaden ve ark., 2015).

Günümüzde, mekanotransdüksiyon ESWT'nin çalışma mekanizması olarak kabul edilmektedir. Şok dalgaları tarafından hücrelere basınç, çekme ve germe kuvvetleri uygulanır. ECM mesengerleri serbestlenir ve hücre çekirdeğinde gen veya gen gruplarının uyarılması sağlanır (İngber, 2006). Bu etki; hücreleri, kemik iyileşmesini stimüle eden mekânsal ve zamansal büyüme faktörlerini salgılamaya teşvik eder.

Son çalışmalarda osteoblast yüzeylerindeki ECM ile hücre arasındaki etkileşimde rol alan transmembran proteinlerinin ekspresyonunun, özellikle $\alpha 5\beta 1$, ESWT'ye yanıt olarak arttığı bulunmuştur (Xu ve ark., 2012). ESWT tarafından stimüle edilen birkaç hücre içi sinyal iletim yolları şunlardır: Fokal adezyon kinaz (FAK) kompleksinin hücre sitoplâzmasına hücre dışı sinyallerin iletilmesinde görev alır ve çalışması için fosforile edilmesi gerekir. Bu fosforilasyonun sadece integrinler tarafından değil aynı zamanda ATP tarafından da yapıldığı görülmüştür (Yu ve ark., 2010; Xu ve ark., 2012). ESWT'ye yanıt olarak çeşitli uyarılar (ATP, integrin, radikaller) tarafından tetiklenen sinyalleme kaskadının diğer hücre içi katılımcıları p38 MAPK, ERK $\frac{1}{2}$ ve AKT yollarıdır (Schaden ve ark., 2015). Sonuç olarak, çok sayıda

moleküler (büyüme faktörü salınması ve sitokin ekspresyonu) ve hücre (hücre adezyonu ve göçü) mekanizmalar uyarılarak kemik onarımı sağlanmaktadır.

ESWT ile büyüme faktörü salınımının artırıldığı bilinmektedir. Osteogenezis kaskadında önemli yere sahip olan FGF-1, FGF-2 ve TGF- β_1 'in ESWT sonrası arttığı in vitro olarak gösterilmiştir (Hausdorf ve ark., 2011). Ayrıca kemik iyileşmesinde önemli rolü olan BMP-2, BMP-4 ve VEGF'nin şok dalga tedavisi ile artış gösterdiği bilinmektedir (Pfaff ve ark., 2016).

2.4.4. Şok Dalgalarının Kullanım Alanları, Kontrendikasyonları ve Komplikasyonları

Yüksek enerjili şok dalgaları uzun zamandır böbrek taşlarının kırılması için ürolojide kullanılmaktadır (Tablo 6). 1980'li yılların sonuna doğru gecikmiş kemik iyileşmesinde de etkili olduğu bulunmuş ve bu alanda çalışmalara ağırlık verilmiştir. 1990'dan sonra klinik olarak kemik iyileşmesinde kullanılmışlardır. Bu alanda tedavi gören hastalarda özellikle düşük enerjili atımlarda analjezi meydana geldiği fark edilmiştir. 1990'larda ilk olarak Dahmen ve Haist, entesopatilerde şok dalgalarını kullanmışlardır (Siebert ve Buch, 1998).

Tablo-6. ESWT'nin endikasyon ve kontrendikasyonları

Endikasyonları	Kontrendikasyonları
Ortopedi: nonunion, avasküler kemik nekrozu, tendinopati, osteoartrit, lateral epikondilit	Malign durumlar Kan koagülasyon bozukluğu
Yara iyileşmesi	Patolojik nörolojik bulguları olan olgular
Spastisite	Hemilelik
Miyokardial iskemi	Aktif enfeksiyon varlığı
Periodontal hastalıklar	Kalp pili kullanımı
Üroloji: litotripsi peyroni hastalığı, kronik pelvik ağrı sendromu	Akciğer gibi alveolar organların ve kranium ve vertebral kolon üzerinde

ESWT uygulamasında oluşabilecek komplikasyonlara dikkat edilmelidir. Genel olarak yüksek enerjili tedavilerde komplikasyon fazla görülürken; düşük enerjili tedavilerin daha güvenilir olduğu belirtilmiştir (Haake ve ark., 2002). Tablo 7.'te ESWT'nin olası komplikasyonları gösterilmektedir.

Yapmış olduğumuz bu deneysel çalışmada; kemik iyileşmesi ve neo-vaskülarizasyon üzerine olumlu etkileri ispatlanmış olan ESWT'nin uzun süreli zoledronik asit kullanımı sonrası diş çekimi uygulanan deneklerde çekim soketi iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

Tablo-7. ESWT'nin olası komplikasyonları

Komplikasyonlar	
Deride kızarıklık	Ödem
Ağrı ve rahatsızlık hissi	Migren atağı
Hassasiyet	Mide bulantısı
Peteşi, hemetom, kanama	Senkop

3. MATERYAL METOD

Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ) Proje Yönetim Ofisi tarafından PYO.DIS.1904.16.005 proje numarası ile desteklenen bu tez çalışmasının deneysel kısmı OMÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26/08/2015 tarihli ve 2015/53 sayılı izniyle, OMÜ Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Bu çalışmada 6 haftalık 40 adet 250-300 gr ağırlığında erkek Wistar Albino ratı kullanıldı.

Ratlar tablo 8'te belirtildiği gibi 4 ana grup ve her grup kendi içinde takip sürelerine göre 2 alt gruba ayrılmak üzere 8 gruba ayrılarak incelendi:

Tablo-8: Deney grupları, takip süreleri ve denek sayıları

Gruplar	Takip süresi	
	4 hafta	8 hafta
Kontrol	n=5	n=5
DELT	n=5	n=5
ESWT	n=5	n=5
DELT-ESWT	n=5	n=5

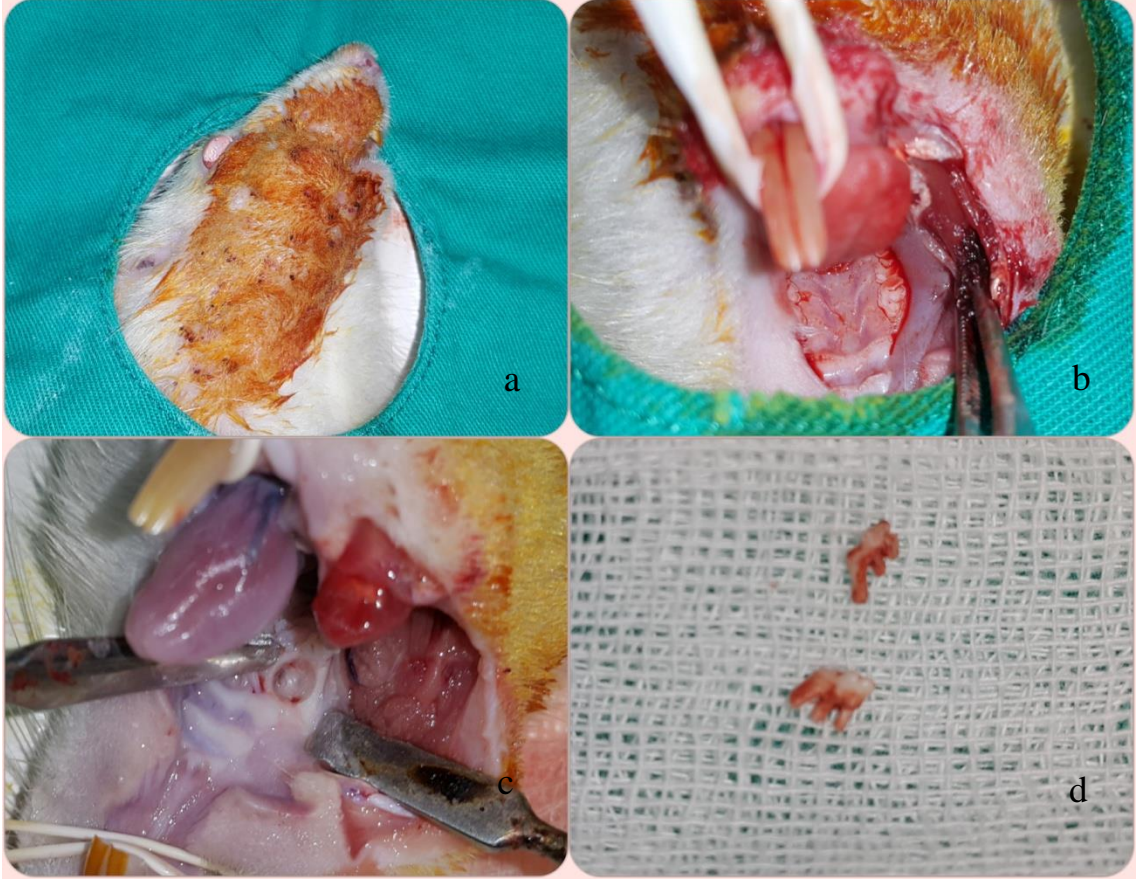
3.1. Zoledronik Asit Uygulama Protokolü

Tüm deney gruplarına cerrahi diş çekiminden önceki 8 hafta boyunca haftada 3 kez olmak üzere intraperitoneal olarak 0.1 mg/kg zoledronik asit (Zometa; Novartis, İstanbul, Türkiye) serum fizyolojikle dilüe edilerek uygulandı.

3.2. Diş Çekimi ve Cerrahi Prosedür

8. haftanın sonunda ratlar 1 hafta dinlendirildikten sonra bütün gruplardaki ratların sağ üst 1. molar dişlerinin çekimi gerçekleştirildi. Diş çekimi esnasında ratların anestezisinin gerçekleştirilmesi için 100 mg/kg Ketamin (Ketalar; Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg Xylazine (Rompun; Bayer, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Diş çekim bölgesine ayrıca 0.5 ml 1:200.000 epinefrin içeren Artikain (Ultracain-DS; Hoechst Marion Roussel, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu ile lokal anestezi yapıldı. Anestezi sonrası maksiller 1. molar dişlerin çekimi gerçekleştirilerek, ardından çekim

soketi standardizasyonun sağlanması için 22 no'lu rond frez ile freze edildi. (Şekil 12 a, b, c, d)



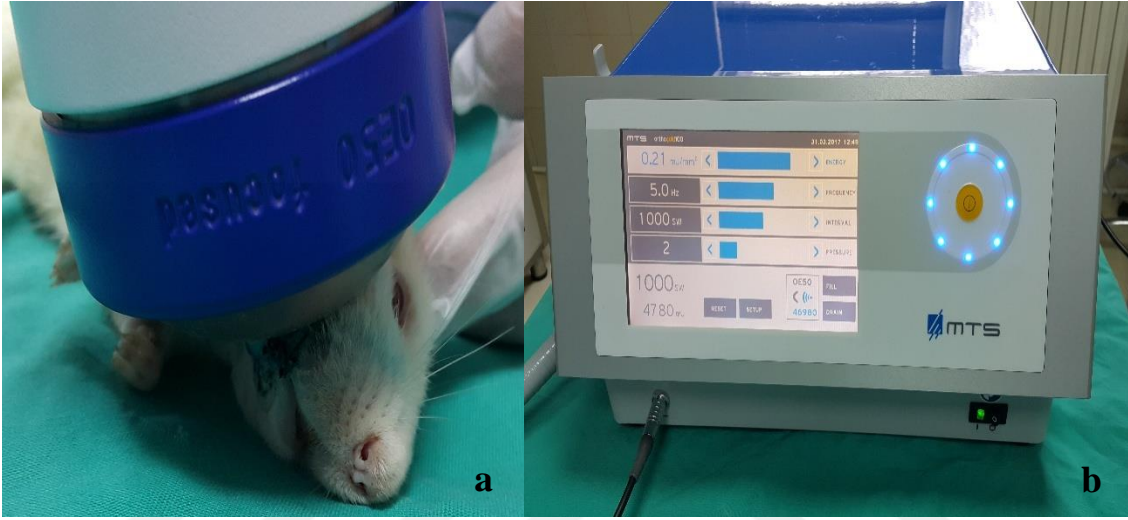
Şekil 12.a: Operasyon sahasının hazırlanması **b:** Dudak köşesine yapılan insizyonla 1. molar dişe ulaşılması **c:** Diş çekim soketinin rond frezle standardize edilmiş hali **d:** Çekilen 1. molar dişler

3.3. Post-operatif Bakım

Cerrahi sonrası ağrı ve enfeksiyon kontrolü için analjezik (Tramadol, 1 mg/kg; Contramal, Abdi İbrahim, Türkiye) ve antibiyotik (cefazolin, 500 mg/kg; Sefazol, M Nevrat, İstanbul, Türkiye) günde iki defa olmak üzere 4 gün boyunca intramüsküler olarak uygulandı. Hayvanlar bir hafta boyunca yumuşak diyetle beslendi ve daha sonra normal diyete geçildi.

3.4. ESWT Uygulama Protokolü

Çalışmamızda ESWT cihazı olarak Orthogold 100 (MTS Medikal, Konstanz, Almanya) ve odaksız aplikatör (OP155) kullanıldı. ESWT, diş çekiminden sonraki 4. günde ESWT ve DELT-ESWT gruplarındaki ratlara anestezi altında aplikatörün uygulanacağı bölgeye kayganlaştırıcı jel sürülerek aplikatör dik açıyla temas ettirilerek 1000 impuls, 0,21 mJ/mm² tek doz olarak uygulandı. (Şekil 13 a, b)



Şekil 13. a: Diş çekimi sonrası ESWT uygulanması ve odaksız ESWT aplikatörü b: ESWT cihazı

3.5. DELT Uygulama Protokolü

Çalışmamızda GaAlAs diyot lazer (Cheese™, Wuhan Gigaa Optronics Technology Co., Ltd., China) 810 nm, 0,4 W, 91 saniye (16 J/cm²) dozunda DELT ve DELT-ESWT gruplarına diş çekiminden 48 saat sonra başlamak üzere 48 saatte bir, iki hafta süreyle çekim bölgesinin iz düşümünden ekstra oral olarak uygulandı. (Şekil 14)



Şekil 14. Diş çekimi sonrası lazer uygulanması

3.6. Deney Protokolü

Tablo 9’da deney grupları ve tedavi protokolleri ayrıntılı bir şekilde gösterilmiştir.

Tablo 9. Deney grupları ve tedavi protokolleri

Gruplar	Takip süreleri	
	4. hafta	8. hafta
1. grup Kontrol grubu (n=10)	n=5	n=5
2. grup ESWT grubu (n=10) (0.21 mj/mm ² enerji akışlı, 1000 impuls, tek doz)	n=5	n=5
3. grup DELT grubu (n=10) 810 n, 0,4 W, 91sn (16 J/cm ²)	n=5	n=5
4. grup ESWT+ DELT grubu (n=10) (0,21 mj/mm ² enerji akışlı, 1000 impuls, tek doz)+ [810 nm, 0,4 W, 91sn (16 J/cm ²)]	n=5	n=5

3.7. Deneyin Sonlandırılması

Tüm gruplar takip sürelerinin sonunda yüksek dozda sodyum pentobarbiton (Pental; IE Ulagay, İstanbul, Türkiye) kullanılarak sakrifiye edildi. Ratların kafaları alt çenelerinden ayrılarak %10'luk formol içinde incelenmek üzere OMÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalına gönderildi.

3.8. Stereolojik Analiz

Gruplara ait doku örnekleri %10'luk formol (10 ML % 40'lık formaldehit, 90ML distile su) ile 10 gün boyunca fikse edildi. Fiksasyonun ardından % 5'lik formik asit solüsyonunda 21 gün boyunca dekalsifikasyona tabi tutuldu. Dekalsifikasyonu takiben akarsuda yıkanan dokular rutin doku takip işlemine alındı. Dehidrasyon aşaması için dokular sırasıyla %70, %80, %96, %100'lük alkol serilerinden geçirildi. Sonrasında ksilen serilerinden geçirilen dokular şeffaflaştırıldı. Bu işlemin ardından parafinde bekletildi. 58°C parafinde dokular L demirleri kullanılarak bloklandı.

Sistematik rastgele örnekleme kuralınca bloklardan 1/30 örnekleme ile (Leica RM 2125RT rotary mikrotom; Leica, Nussloch, Germany) 10 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler, bir gece boyunca 58°C etüvde deparafinize edildikten sonra 3 farklı ksilen serisinde 15 dk tutuldu. Bunun sonrasında alkol serilerinden (%100-%96-%80-%70) geçirilen kesitler akarsuda yıkandı. Yıkama işleminin ardında hematoksilen-eozin (Harris'in Hematoksileni) yöntemi ile boyandı.

Stereolojik analizler için kullanılan 1/30 örnekleme, stereolojinin etkinlik prensibine uygun "hata katsayısı (HK) (≤ 0.05)" göz önünde bulundurularak pilot çalışma ile belirlendi (Cruz-Orive ve Weibel;1990). Elde edilen kesitlerden kamera ataçmanlı ışık mikroskobu ile (Carl Zeiss, Germany) x10 luk büyütmede görüntü alındı (Olympus, Center Valley, PA). Elde edilen resimler üzerindeki yeni kemik hacmi, bağ doku hacmi, kapiller hacmi 3065,64 µm² lik "noktalı alan ölçüm cetveli" ile Cavalieri prensibi doğrultusunda aşağıdaki formül ile hesaplandı (Baddeley and Jensen, 2005) :

$$V = \Sigma p \times [p(a)] \times t$$

(Yapının hacmi (V); toplam nokta sayısı (Σp), bir noktanın temsil ettiği alan [p(a)]; kesit kalınlığı (t))

Gruplara ait 'değişim katsayısı (DK)' değerleri hesaplanarak uygun sayıda denek stereolojik analiz için kullanıldı. Bu değer her grup için \leq % 20 olarak hesaplanmaktadır (Baddeley and Jensen, 2005).

3.9. İmmünohistokimyasal Analiz

İmmünohistokimyasal analizlerin yapılabilmesi için her doku örneğinden 5 µm kalınlığında kesitler alınarak öncelikle deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemi tamamlandı. EXPOSE Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection IHC Kit (Abcam, USA) kullanılarak immünohistokimyasal tepkimeler gerçekleştirildi. Dokudaki anti-CD 31 ve anti-MMP2 antikörlerinin (Abcam, USA) ekspresyonunun gözlemlenmesi için DAB kromojen kullanıldı ve sonrasında akarsuda yıkanarak light green ile ters boyamalar gerçekleştirildi. x20'lik ve x40'lık büyütmedeki görüntülerin eldesi için Kamera ataçmanlı (Carl Zeiss, Germany) ışık mikroskobu (Olympus BX43, Center Valley, PA) kullanıldı.

3.10. İstatistiksel Analiz

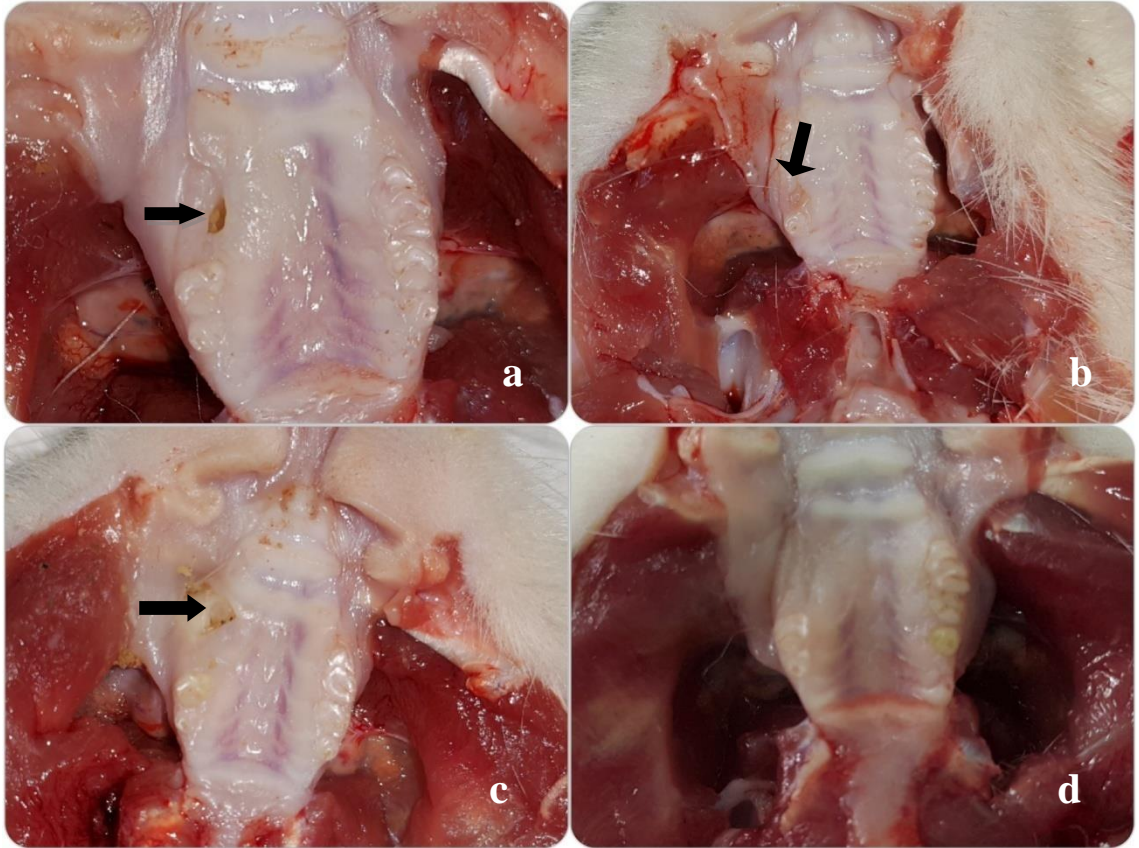
Stereolojik değerlendirmeden elde edilen veriler bilgisayar ortamında istatistik programına yüklenerek SPSS (Ver: 13.0, Illinois, USA) tek yönlü ANOVA testi ve çift yönlü TUKEY testi ile karşılaştırıldı. 0,05'ten küçük 'p' değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Çalışmamızda diş çekim prosedürü esnasında 7 adet deney hayvanı genel anesteziye bağlı komplikasyonlar nedeniyle kaybedildi. DELT-ESWT 8 hafta grubunda 5; diğer gruplarda 4 denek hayvanı olacak şekilde çalışmaya devam edildi. Toplamda 33 hayvanda immunohistokimyasal ve stereolojik değerlendirmeler yapıldı.

4 hafta takip edilen gruplardan; Kontrol grubunda 1 hayvanda; ESWT grubunda ise 2 hayvanda ekspoz kemik alanı gözlemlendi. Diğer gruplarda tam mukoza iyileşmesi görüldü. Hiçbir grupta süpürasyona rastlanmadı (şekil 15).



Şekil 15. 4 hafta takip edilen grupların makroskobik görüntüsü. **a,b:** ESWT grubunda ekspoz kemik görüntüsü **c:** Kontrol grubunda ekspoz kemik **d:** normal mukozal iyileşme

8 hafta takip edilen DELT grubunda bir hayvanda extraoral fistül gözlemlendi. Fistül daha sonra tamamen iyileşti; aynı grup içindeki tüm hayvanlarda tam mukozal iyileşme gözlemlendi. DELT-ESWT grubunda 3 hayvanda ekspoz kemik alanı gözlemlendi. ESWT grubunda tüm hayvanlarda tam mukozal iyileşme gözlenirken; kontrol grubunda 1 hayvanda ekspoz kemik alanı görüldü.

4.2.Stereolojik Bulgular

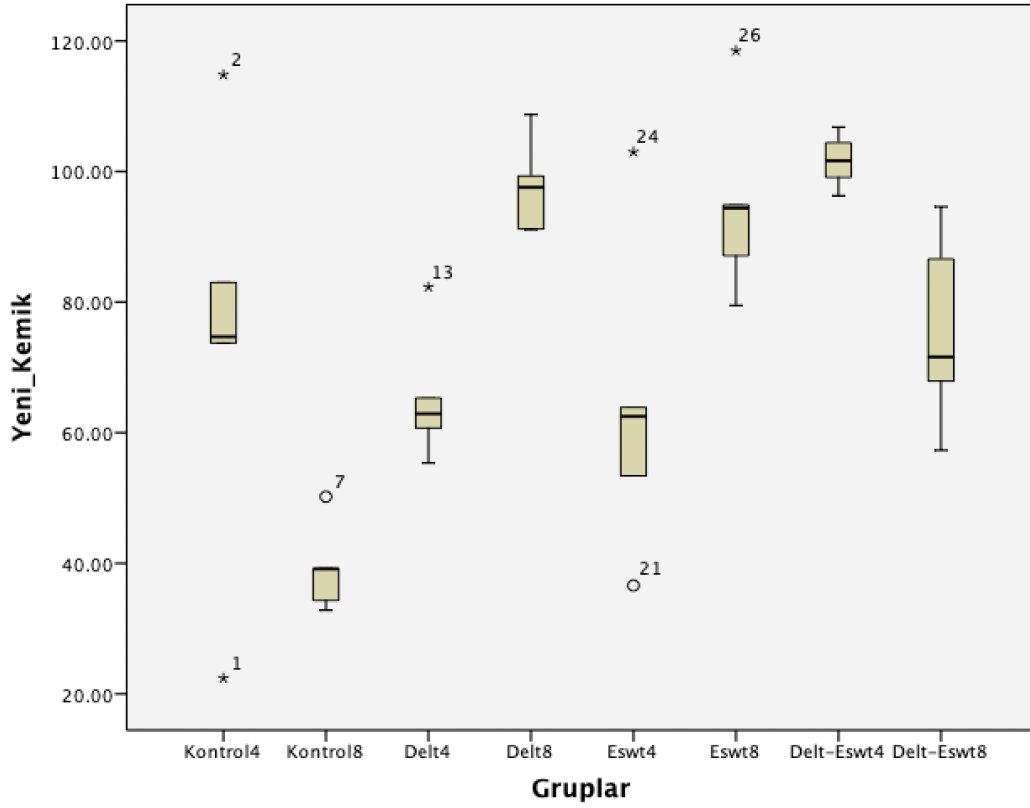
Tüm gruplarda stereolojik olarak yeni kemik, bağ dokusu ve yeni damar hacmi değerlendirildi (Tablo 10).

Tablo-10. Stereolojik değerlendirme sonucu elde edilen yeni kemik, bağ doku, yeni damar hacmi değerlerinin gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	Yeni kemik hacmi (mm³)	Bağ doku hacmi (mm³)	Yeni damar hacmi (mm³)
Kontrol 4	73,7280 ± 14,84	34,7000 ± 3,29	1,0680 ± 0,12
Kontrol 8	39,1260 ± 3,09	49,9660 ± 4,81	0,5260 ± 0,09
DELT 4	65,3120 ± 4,55	55,8980 ± 3,19	2,6440 ± 0,26
DELT 8	97,5760 ± 3,23	37,4860 ± 1,19	1,4800 ± 0,24
ESWT 4	63,8700 ± 10,91	37,4320 ± 4,21	0,9620 ± 0,05
ESWT 8	94,8760 ± 6,53	41,7280 ± 3,92	1,0600 ± 0,22
DELT- ESWT 4	101,6500 ± 1,86	55,8660 ± 2,13	1,1720 ± 0,15
DELT- ESWT 8	75,6000 ± 6,67	59,9360 ± 3,52	1,4680 ± 0,09
Total	76,4673 ± 3,99	46,6265 ± 1,85	1,2975 ± 0,10

4.2.1.Yeni Kemik Hacmi

Deney gruplarının yeni oluşan kemik hacmi değerleri şekil 16'da gösterilmektedir.



Şekil 16. Yeni kemik hacmi değerlerinin gruplara göre dağılımı ve gruplar arası karşılaştırması

Dört hafta takip edilen gruplarda Kontrol grubu ile DELT, ESWT, DELT-ESWT grupları karşılaştırıldığında; Kontrol grubunun yeni kemik oluşumu DELT ve ESWT gruplarından yüksek bulunmakla beraber bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p=0,9$). DELT-ESWT grubunun yeni kemik hacmi kontrol grubundan yüksek olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,2$). DELT ve ESWT grupları kendi içinde karşılaştırıldığında istatistikî anlamlı fark bulunmazken ($p=1$); yeni kemik oluşumu daha yüksek olan DELT-ESWT grubu ile DELT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,03$). DELT-ESWT grubu ESWT grubu ile karşılaştırıldığında yeni kemik oluşumu açısından anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,02$). Dört haftalık gruplar içinde en yüksek yeni kemik hacmi değeri DELT-ESWT grubunda bulunmuştur.

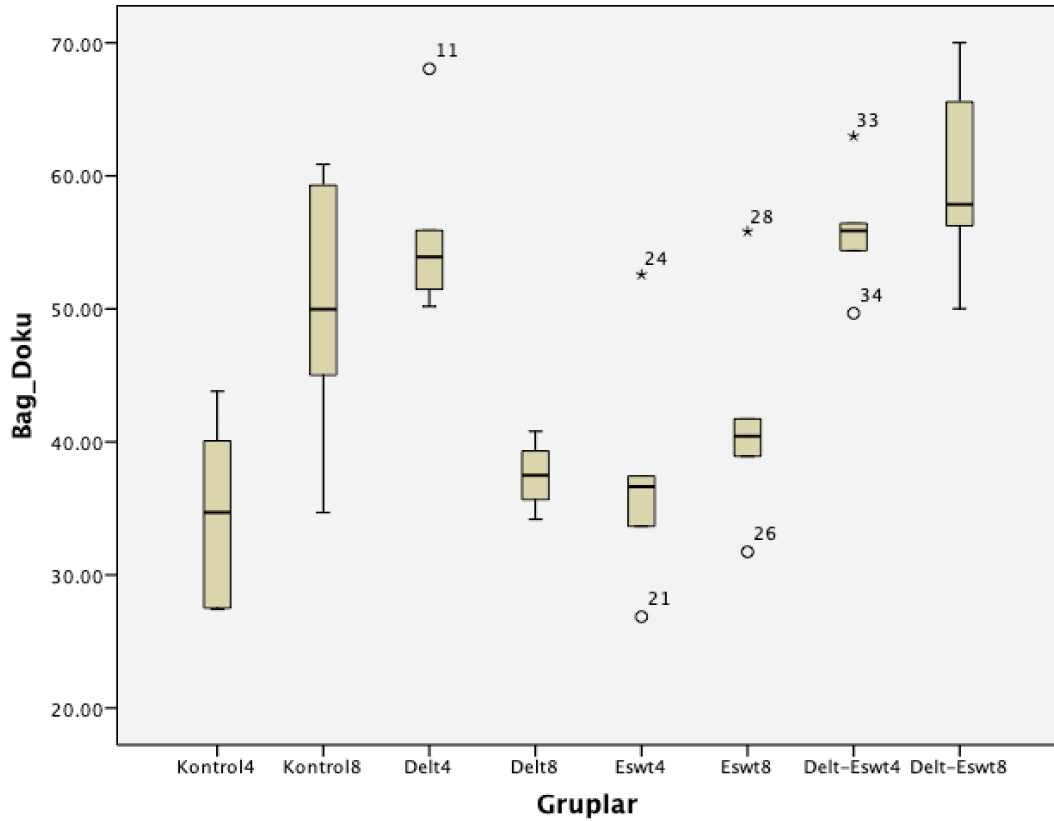
Sekiz hafta takip edilen gruplarda en düşük yeni kemik hacmi Kontrol grubunda bulunmakla beraber Kontrol grubu ile DELT ve ESWT grupları arasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$); Kontrol grubu ile DELT-ESWT grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,03$). 8 hafta takip edilen gruplar

içinde en yüksek yeni kemik hacmi değerine sahip olan DELT ve ESWT grupları arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p=1$). DELT ve ESWT gruplarına göre daha düşük yeni kemik hacmi olan DELT-ESWT grubu ile DELT ve ESWT grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Dört ve sekiz hafta takip edilen gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

4.2.2. Bağ Doku Hacmi

Deney gruplarının yeni oluşan bağ doku hacmi değerleri şekil 17’de gösterilmektedir.



Şekil 17. Bağ doku hacminin gruplara göre dağılımı ve gruplar arası karşılaştırılması

Deney grupları bağ dokusu hacmi açısından değerlendirildiğinde dört hafta takip edilen gruplarda en yüksek bağ doku hacmi DELT grubunda, en düşük bağ doku hacmi Kontrol grubunda bulunmuştur. Kontrol grubu ile DELT ve DELT-ESWT grubu

arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p < 0,05$); Kontrol grubu ile ESWT grubu arasında fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). DELT grubu ile ESWT grubu arasında ($p = 0,01$); ve DELT- ESWT ile ESWT grupları karşılaştırıldığında bağ doku oluşumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p = 0,01$).

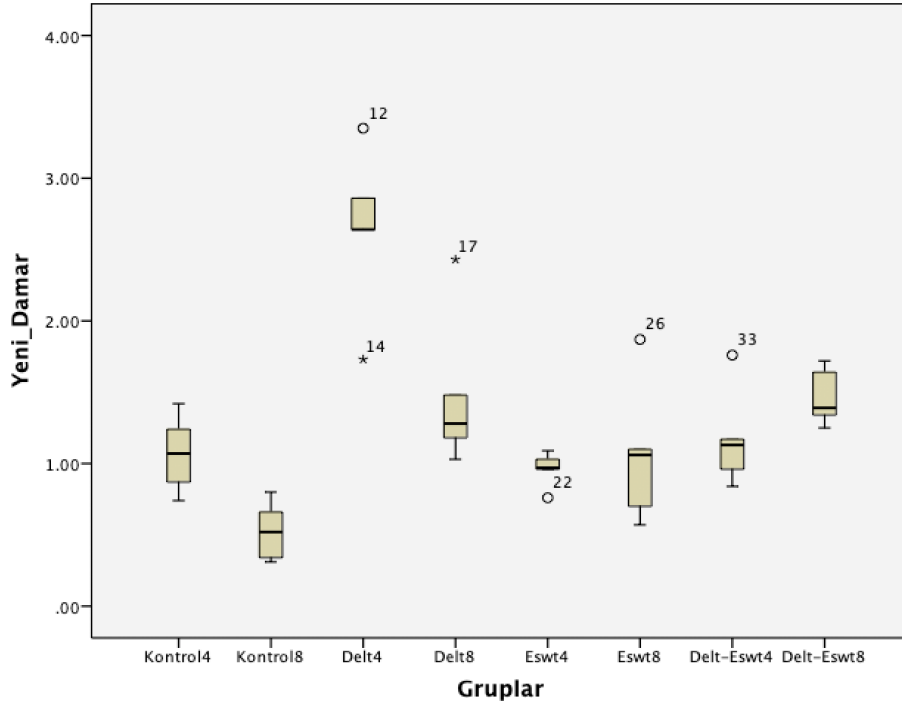
Sekiz hafta takip edilen gruplar karşılaştırıldığında, en yüksek bağ doku oluşumu DELT-ESWT grubunda ve en düşük bağ doku oluşumu DELT grubunda bulunmuştur. (şekil 20). Kontrol grubu ile DELT, ESWT, DELT-ESWT grupları arasında bağ doku oluşumu açısından belirgin bir fark görülmekle beraber bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Dört ve sekiz hafta takip edilen gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında Kontrol 8 grubunda daha yüksek bağ doku oluşumu görülmekle beraber Kontrol 4 grubuyla aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). DELT 4 grubunda daha yüksek bağ doku oluşum hacmine rastlanmış ve DELT 8 grubuyla karşılaştırıldığında bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0,01$). ESWT 8 grubunun bağ doku hacmi ESWT4 grubuna göre yüksek bulunmakla beraber fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). DELT-ESWT 8 grubunun bağ doku hacmi DELT-ESWT 4 grubuna göre yüksek bulunmakla beraber fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

4.2.3. Yeni Damar Hacmi

Deney gruplarının yeni oluşan damar hacmi değerleri şekil 18'de gösterilmektedir.

Dört hafta takip edilen gruplar yeni damar oluşumu açısından değerlendirdiğinde en yüksek yeni damar hacmi DELT grubunda görülürken; en düşük yeni damar oluşumu ESWT grubunda bulunmuştur (Şekil 21). Kontrol grubu ile DELT grubu arasında yeni damar hacmi açısından ileri derecede anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,01$); DELT grubu ile ESWT ve DELT-ESWT grupları arasında ileri derecede istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$).



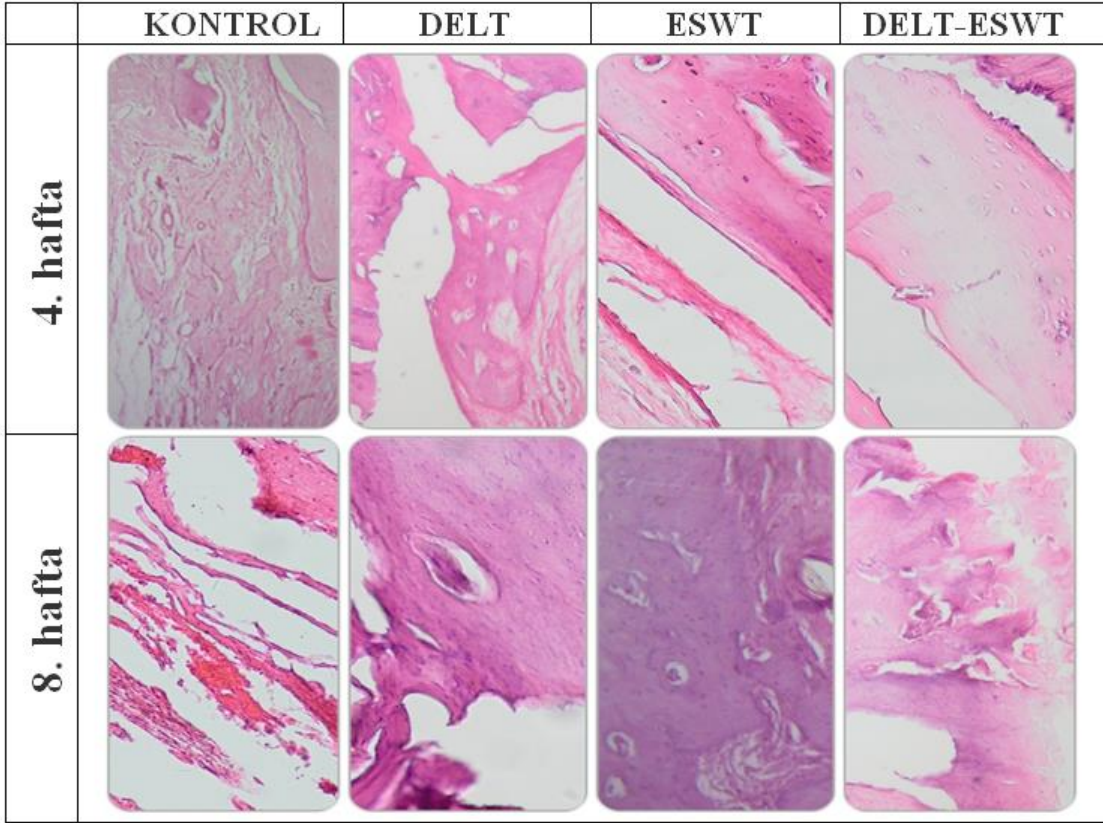
Şekil 18. Yeni damar hacmi değerlerinin gruplara göre dağılımı ve gruplar arası karşılaştırılması

Sekiz hafta takip edilen gruplar yeni damar oluşumu açısından değerlendirildiğinde en yüksek yeni damar oluşumu DELT grubunda; en düşük yeni damar oluşumu Kontrol grubunda saptandı. Kontrol grubu ile DELT ve DELT-ESWT grupları arasında yeni damar hacmi bakımından ileri derecede anlamlı fark bulunurken ($p < 0,01$); ESWT grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

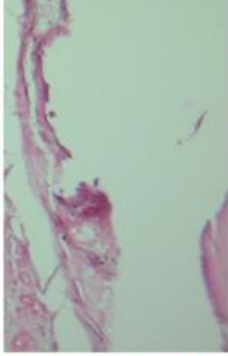
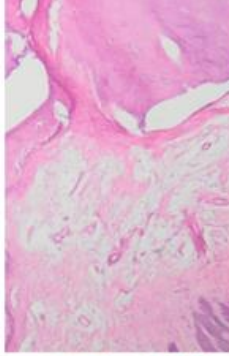
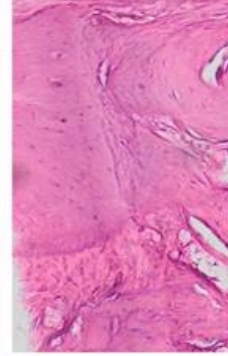
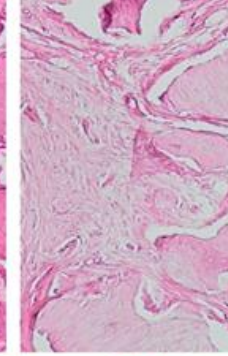
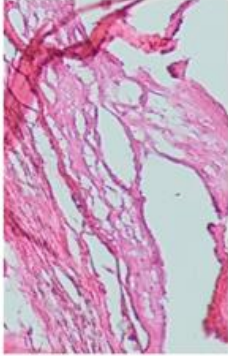
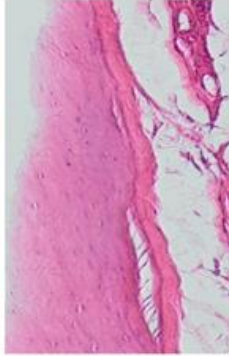
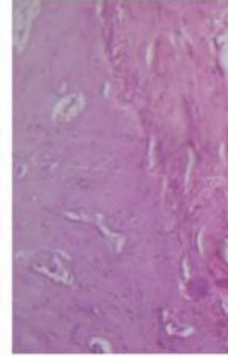
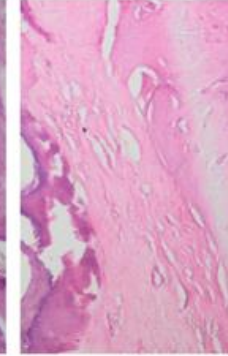
Kontrol 8 grubunda yeni damar oluşumu Kontrol 4 grubuna göre yüksek bulunmakla beraber bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). DELT 4 ve DELT 8 yeni damar oluşumu açısından karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,01$). ESWT 4 ile ESWT 8 grupları kendi içinde değerlendirildiğinde yeni damarlanma açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). DELT-ESWT 4 ve DELT-ESWT 8 grupları kendi içinde karşılaştırıldığında 8 hafta takip edilen grupta yeni damar hacmi daha yüksek bulunmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Gruplar histolojik olarak incelendiğinde hiçbir grupta tam olarak iyileşmeye rastlanmamıştır. DELT 4 ve DELT 8 karşılaştırıldığında DELT 8 grubunda iyileşmenin daha iyi olduğu görülmüştür. ESWT 4 ve ESWT 8 karşılaştırıldığında ESWT 8

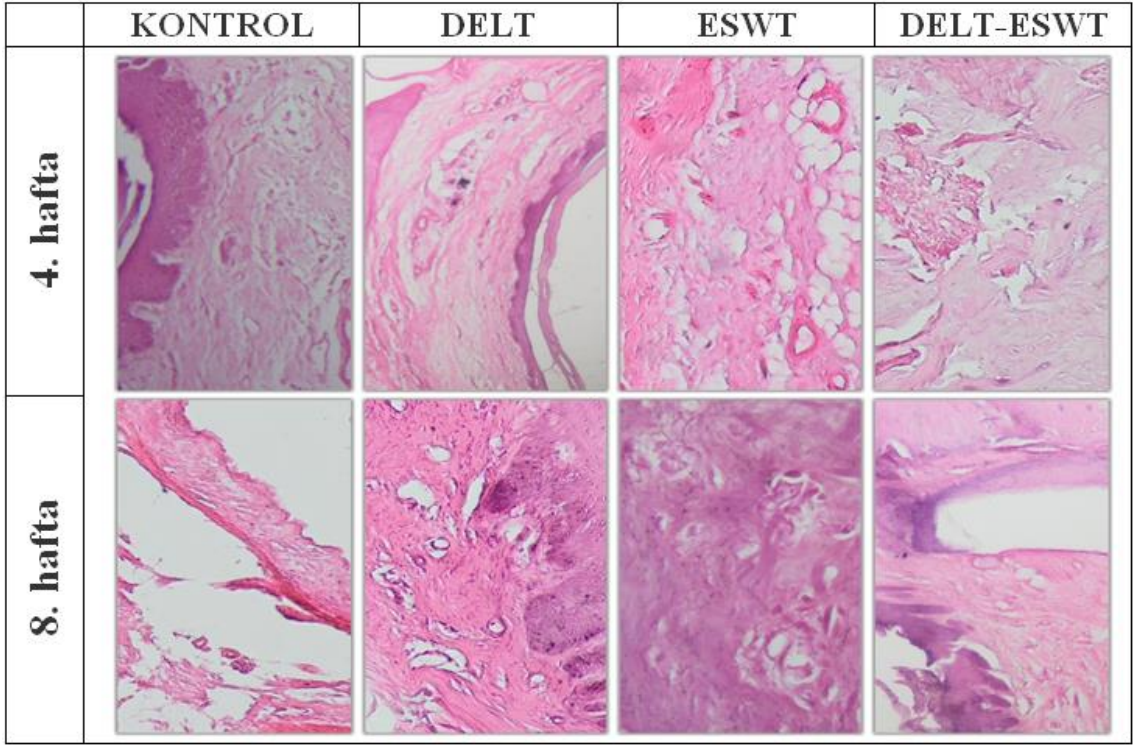
grubunda iyileşmenin daha iyi olduğu; fakat DELT-ESWT 4 ve DELT-ESWT 8 gruplarının karşılaştırılmasında DELT-ESWT 4 grubunun iyileşmesinin daha iyi olduğu görülmüştür.



Şekil 19: Deneklerde yeni oluşan kemik dokusunun gruplara göre temsili histolojik (HE) görüntüsü

	KONTROL	DELT	ESWT	DELT-ESWT
4. hafta				
8. hafta				

Şekil 20: Deneklerde oluşan bağ dokusunun gruplara göre temsili histolojik (HE) görüntüsü

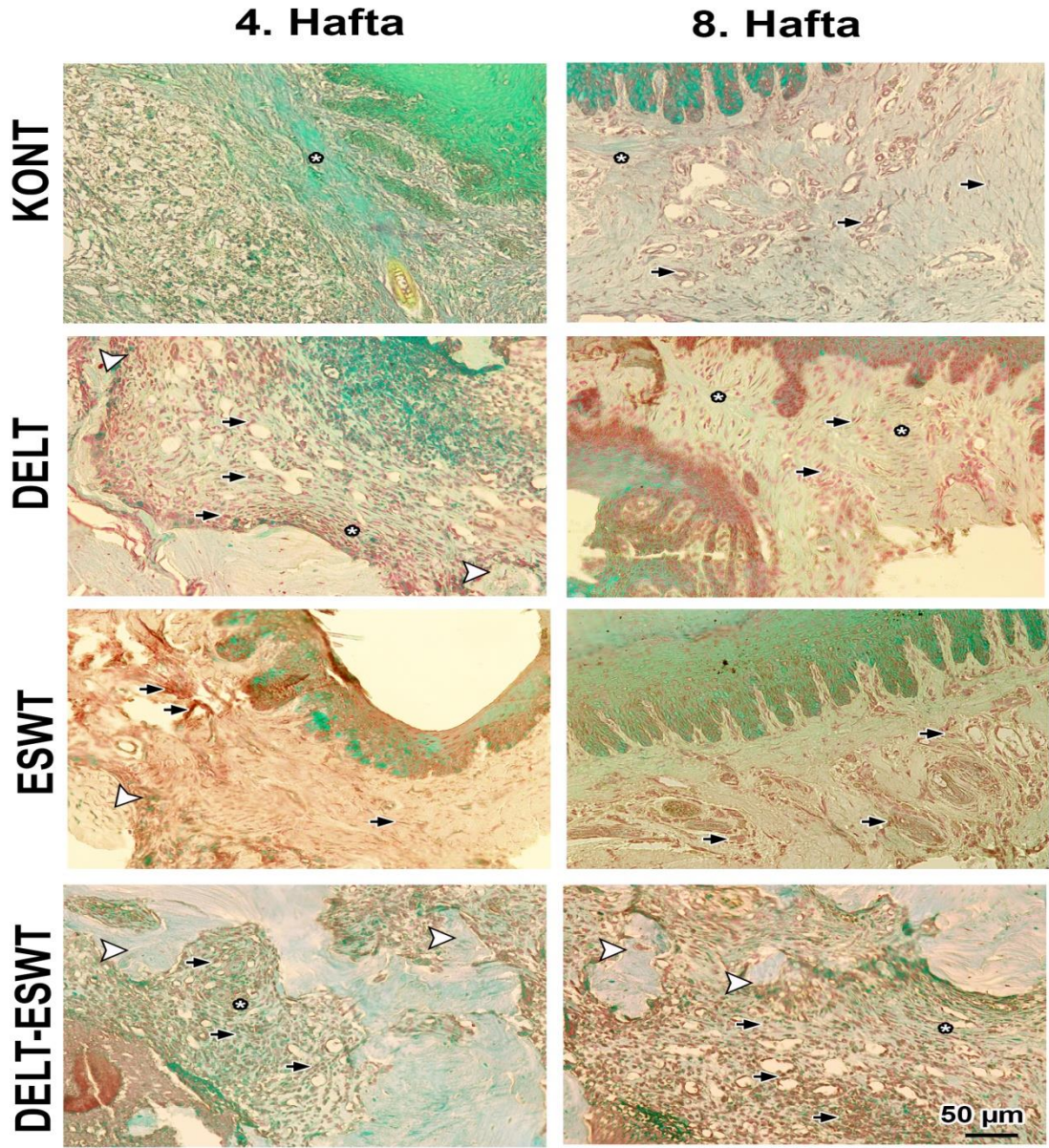


Şekil 21: Deneklerde oluşan yeni damarların gruplara göre temsili histolojik (HE) görüntüsü

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

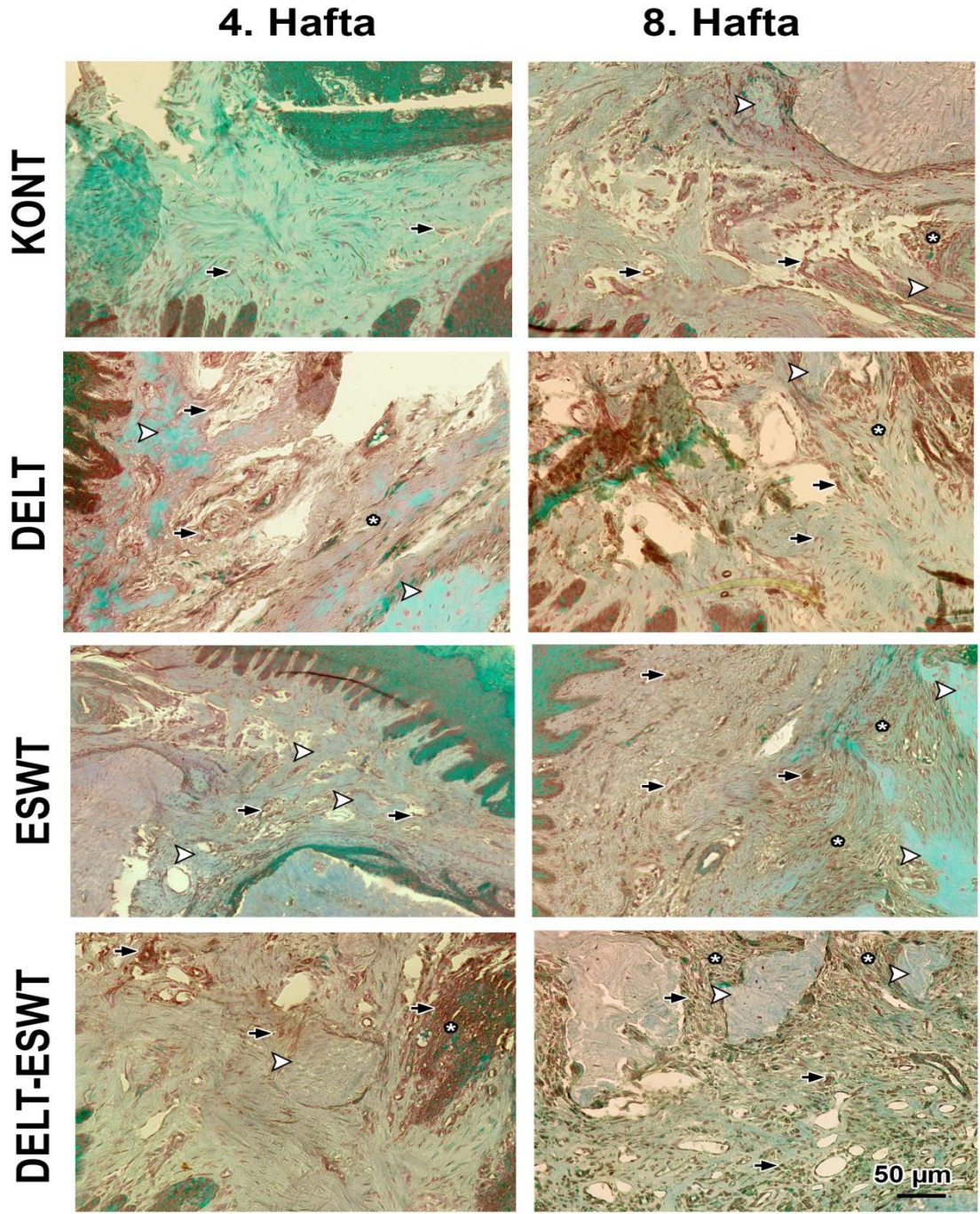
Tüm gruplarda immünohistokimyasal olarak anti-CD31 ve anti-MMP2 boyaması yapılmıştır.

DELT-ESWT ve DELT gruplarının immünohistokimyasal incelemesinde Anti CD31 ekspresyonu diğer gruplara oranla belirgin olarak fazla bulunmuştur. CD31'in bağ doku alanının yanı sıra damarların endotelinde ve epitelyal alanda da eksprese olduğu izlenmiştir (Şekil 19).



Şekil 19. Anti CD31 antikorunun Kontrol, DELT, ESWT ve DELT-ESWT gruplarına ait 4 haftalık ve 8 haftalık doku örneklerindeki ekspresyonu görülmektedir. Siyah oklar, anti CD31 (+) alanları; beyaz ok başları yeni kemik alanlarını, (*) ise bağ doku infiltrasyon alanlarını ifade etmektedir.

Anti MMP-2 boyamalarında 4 ve 8 hafta süreyle takip edilen DELT-ESWT, DELT ve ESWT gruplarının tümünde ekspresyonun fazla olduğu görülmüştür (Şekil 20). Ekspresyonun infiltrasyon alanlarında daha yoğun olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 20. Anti MMP-2 antikorunun Kontrol, DELT, ESWT ve DELT-ESWT gruplarına ait 4 haftalık ve 8 haftalık doku örneklerindeki ekspresyonu görülmektedir. Siyah oklar, anti MMP-2 (+) alanları; beyaz ok başları yeni kemik alanlarını, (*) ise bağ doku infiltrasyon alanlarını ifade etmektedir.

5. TARTIŞMA

Bisfosfonatlar (BP'ler); osteolitik kemik metastazları, Paget hastalığı, hiperkalsemi, primer ve sekonder hiperparatiroidizm ve osteoporoz gibi artan kemik rezorpsiyonu ile karakterize hastalıkları tedavi etmek için uzun yıllardır kullanılan antirezortif ilaçlardır (Recreo ve ark., 2013).

İlaca bağlı çene osteonekrozu (MRONJ), maksillofasiyal bölgede ilerleyici kemik yıkımından dolayı oluşan ciddi bir komplikasyondur. MRONJ patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, kemik turn-overı ve kemik iyileşmesinde anahtar hücre olan osteoklastların baskılanması nedeniyle kemik metabolizmasındaki duraksama ile açıklanmaktadır (Reid ve ark., 2007; Allen ve Burr, 2009; Aghaloo ve ark., 2015). MRONJ oluşumuna neden olan farklı ajanlar olmakla beraber; en sık etken olan ilaçlar bifosfonatlardır. BP'lerin; kemik, tümör ve vasküler hücrelerin proliferasyonu ve hayatta kalması için gerekli olan hücrel olayların bozulması yoluyla etkilerini gerçekleştirdikleri düşünülmektedir (Bukowski ve ark., 2005). BP'lerin etkinliği, içinde nitrojen bulunması veya bulunmamasına göre değişir. Nitrojen içeren bifosfanatların etkileri daha güçlüdür. Nitrojenli BP'ler, osteoklast proliferasyon ve maturasyonunda önemli proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonu için gerekli bir enzim olan farnesilpirofosfatsentetazı inhibe ederler (Green, 2004). Bozulmuş translasyon sonrası modifikasyon, osteoklast aktivasyonunu; ostoklastların formasyonlarını, etkilerini ve fonksiyonlarını gittikçe bozmaktadır (Rodan, 1998; Rodan ve Martin 2000). Nitrojenli BP'lerin kemik rezorpsiyonuna ve yara iyileşmesine olan olumsuz etkisi sıklıkla iyileşmeyen çekim soketlerinde görülmektedir. Bir nitrojen içerikli bifosfonat olan zoledronik asite bağlı olarak gelişen osteonekroz (BRONJ) vakası ilk kez 2003 yılında Marx tarafından tanımlanmıştır.

BRONJ'un oluşumunda; lokal faktörler, eşlik eden hastalıklar ve ilaç türü en önemli risk faktörleridir. BRONJ insidansı kullanılan ilaçların tipine, veriliş şekline, kullanım süresine, toplam alınan doza göre farklılık göstermektedir.

İntravenöz BP'ler, malignite, solid tümörlerin kemik metastazları ile ilişkili lezyonlar ve multiple myelomun kemik litik lezyonlarını önlemek ve tedavi etmek için kullanılmaktadır (Nussbaum ve ark., 1993; Hortobagni ve ark., 1998; Berenson ve ark., 2002; Saad ve ark., 2004). Oral BP'ler osteoporoz, osteopeni veya Paget hastalığı ve

osteogenezis imperfekta gibi diğer rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. (Delmas ve Meunier, 1997; Delmas, 2005).

Yapılan çalışmalarda BRONJ oluşumu sıklığı ile ilgili farklı sonuçlar bildirilmiştir. Zoledronat ile tedavi edilen hastalarda BRONJ riski, plasebo ile tedavi edilen kişilere göre 50–100 kat daha yüksektir. Denosumab ile tedavi edilen kanser hastalarında DRONJ riski, zoledronata maruz kalan hastaların osteonekroz olasılığına benzerdir. (Reid ve ark., 2007; Scagliotti ve ark., 2012). Osteoporotik hastalarda; plasebo için kullanılan zoledronatla (5 mg) osteonekroz görülme oranı %0,002 iken bu oran; oral bifosfonat alımının 4 yıldan az olduğu osteoporoz hastalarında %0,001'e, bifosfonat kullanım süresi 4 yılın üzerine çıktığında ise % 0,02'ye yükselmektedir (Grbic ve ark., 2010; Lo ve ark., 2010). Osteoporozlu hastalarda 5 yıl süreyle Denosumab alımında osteonekroz görülme oranı %0,004 olarak rapor edilmiştir (Papapoulos ve ark., 2012).

Kanser hastalarında ilacın verilme şeklinin ve dozunun değişmesine bağlı olarak BRONJ oranı sadece zoledronik asit verilen hastalarda % 0,5-1 arasındadır (Vahtsevanos ve ark., 2009; Mauri ve ark., 2009; Coleman ve ark., 2011; Scagliottive ark., 2012). Bir antianjiogenik ajan olan Bevacizumab'ın tek başına kullanıldığı hastalarda MRONJ oranı %0,02 iken; tedavi protokolüne zoledronatın eklenmesi ile oran % 0,09'a çıkmaktadır (Guarneri ve ark., 2010). Tedavi için Denosumab'ın kullanıldığı hastalarda MRONJ oranının % 0,7-0,9 arasında olduğu rapor edilmiştir (Scagliotti ve ark., 2012; Qi ve ark., 2014). Osteonekroz riski benzer olsa bile, BRONJ ve DRONJ (denosumab ile ilişkili ONJ) arasında önemli bir farkın altını çizmek önemlidir. BRONJ, bifosfanatlar IV kullanıldığında ortalama 33 ay sonra; oral kullanıldığında ise ortalama 48 aylık bir uygulamadan sonra ortaya çıkmaktadır. DRONJ ise; tedaviden hemen sonra, önceki uygulamaların sayısından bağımsız olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, Denosumab gibi RANK-L inhibitörlerinin kullanımından sonra osteonekroz riski aylık olarak azalırken, BP türü ilaçları alanlarda yıllarca sabit kalmaktadır (Rosella ve ark., 2016).

BRONJ üzerine yapılan çalışmalarda çene kemiklerinden başka femur gibi uzun kemiklerin de tutulumu incelenmiş fakat bu kemiklerde tutulumu rastlanamamıştır. Bunun sebebi olarak, uzun kemiklerin kemik iyileşme mekanizmasının endokondreal

iyileşme ile olmasına karşılık; soket iyileşmesinin membranöz iyileşme ile olması düşünülmüştür (Basi ve ark., 2011). Ayrıca; mikrotravma, alveolar kemik remodelinginin farklılığı veya kemik rezorbsiyonunun aşırı baskılanması, yumuşak doku BP toksisitesi dolayısıyla alveol kemiğini örten ince mukozanın direncinin azalması, ağız boşluğunun kendine özgü biyofilmi sayesinde enfeksiyona yatkınlık, mandibulanın terminal vaskülarizasyona sahip olmasından dolayı anjiogenez inhibisyonunun kolay sağlanması, bağışıklığın baskılanması veya D vitamini eksikliği gibi çenelere özgü lokalizasyonu açıklamak için ileri sürülen hipotezler de vardır (Barnias ve ark., 2005; Ruggiero ve ark., 2006; Reid ve ark. 2007; Kos ve ark., 2013; Qi ve ark., 2014).

Ağız cerrahisi BRONJ gelişimi için en büyük risk faktörlerinden biridir. Hastaların %52-61'inde etken olarak diş çekimi bildirilmiştir (Vahtsevanos ve ark., 2009; Saad ve ark., 2012). Osteonekroz riski, diş çekimi sonrası oral BP tedavisi alan hastalarda % 0.5 iken; IV BP tedavisi alan kanser hastalarında % 1.6-14.8 arasında değişmektedir. Osteonekroz gelişme risk aralığındaki bu genişlik kullanılan toplam dozun oranından kaynaklanmaktadır (Yamazaki ve ark., 2012). BRONJ mandibulada, maksilla ile karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 2-3 kat daha sık görülür; bu olguların % 4,5'inde ise her iki çenede de tutulum görülmektedir. (Saad ve ark., 2012).

Planlamış olduğumuz bu deneysel çalışmada; yukarıdaki bilgiler ışığında, BRONJ'un en fazla görüldüğü kanser hastalarının en sık kullandığı farmakolojik ajan olan zoledronik asit kullanılmıştır. Deneklerde, BRONJ risk faktörleri içinde ilk sırada yer alan diş çekimi yapılarak çekim soketlerine farklı tedavi yöntemleri uygulanmış ve sonuçları karşılaştırılmıştır.

Halen bifosfonatların osteonekroza nasıl yol açtığı ve bu durumun fizyopatolojisi tartışmalıdır. Uygun bir hayvan modelinin oluşturulması; BRONJ'un fizyopatolojisinin anlaşılmasının sağlanması, önlenmesi ve tedavi edilmesi için gerekli çalışmaların yapılması açısından önemlidir. Birçok araştırmacı deneysel olarak BRONJ oluşturmaya çalışmışlardır (Sonis ve ark., 2009; Huja ve ark., 2009; Senel ve ark., 2010; Kobayashi ve ark., 2010; Biasotto ve ark., 2010; Hokugo ve ark., 2010; Aguirre ve ark., 2010-2012; Maahs ve ark., 2011; Aghaloo ve ark., 2011; Marino ve ark., 2012; Conte

ve ark., 2013). Yapılan bu araştırmalarda rat, fare, köpek ve mini domuz gibi hayvanlar denek olarak kullanılmıştır.

Çalışmamızda rat tercih etmemizin sebebi kolay ulaşılabilirliği, bakım ve çalışma kolaylığı, uygun maliyeti ve rat immünesinin insan immünesine benzerlik göstermesidir. Araştırmacılar siklus dönemindeki dişi laboratuvar deneklerinde östrojen seviyesindeki artışın kemik metabolizması üzerine etkileri olduğunu ve rejenerasyonu etkilediğini göstermişlerdir (Yingling ve ark., 2009). Bu nedenle çalışmamızda kemik metabolizmasında oluşabilecek değişikliklerin engellenmesi için erkek ratlar tercih edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda deneklere, BRONJ oluşumu için farklı protokoller uygulanmıştır. Biasotto ve ark. (2010) yapmış oldukları çalışmada 5 hafta süreyle haftada tek doz 0,04 mg IV olarak zoledronik asit uyguladıkları wistar ratları dişi çekiminden 7 hafta sonra sakrifiye etmişler ve %100 oranında BRONJ oluşturduklarını rapor etmişlerdir. Sonis ve ark. (2009); ratlara 3 hafta boyunca 0,075 mg/kg/gün subkutan olarak zoledronat uygulamışlar, maxilla ve mandibuladan dişi çekimi yapmışlardır. Dişi çekiminden 14 ve 28 gün sonra hayvanları sakrifiye etmişler ve zoledronat verdikleri grupta %60 oranında nekroz oluştuğunu bildirmişlerdir. Aghaloo ve ark. (2011); ratlara haftada 0,06 mg/kg zoledronatı intraperitoneal olarak 3 hafta süreyle uygulamışlar ve periodontal lezyon oluşturdukları hayvanların %47'sinde nekroz oluştuğunu rapor etmişlerdir. Huja ve ark. (2009) yapmış oldukları çalışmada farelere zoledronik asiti 0,1 mg/kg/hafta şeklinde 9 hafta boyunca uygulamışlar ve herhangi bir cerrahi işlem (dişi çekimi veya travma) uygulanmadığında osteonekroz oluşmadığını rapor etmişlerdir.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada zoledronik asit dozu olarak Recreo ve ark.'nın (2013) yapmış oldukları çalışma referans alınarak deneklere 8 hafta boyunca haftada 3 kez 0,1 mg/kg zoledronik asit intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

Yapılan araştırmalarda ratlarda çekim soketinin iyileşmesinin 3 faza ayrılabilirleği ve çekim soketinin tamamen trabeküler kemikle dolmasının 28 günün sonunda olduğu gösterilmiştir (Hassumi ve ark., 2017). Daha önce yapılan deneysel çalışmalarda da 28 günlük süreçten sonra osteonekroz oluştuğu görülmüştür (Marino ve ark., 2012; Ali-Erdem ve ark., 2012; Silva ve ark., 2015; Soundia ve ark., 2016; Mada

ve ark., 2017). Bununla birlikte daha kısa sürede osteonekroz oluştuğunu gösteren çalışmalarda vardır(Barba Recreo ve ark., 2013; Gutiérrez ve ark., 2017). Literatür bilgileri ışığında bu deneysel çalışmada 4 hafta süreyle takip edilen gruplarda Kontrol grubunda 1 ve ESWT grubunda ise 2 hayvanda nekrotik kemiğe rastlanması ve diğer 4 hafta takip edilen tüm gruplarda iyileşmenin tam olarak gerçekleşmemiş olması verdiğimiz dozun ve takip süresinin yeterli olduğunu destekler niteliktedir.

Günümüzde sıklığı süratle artan ve tam etkili bir tedavi protokolü olmayan BRONJ için çeşitli tedavi yaklaşımları vardır. Bu tedaviler temel olarak; konservatif, medikal, medikal/cerrahi ve destekleyici tedaviler olarak sınıflandırılmaktadırlar. Destekleyici tedaviler içinde etkinlikleri tam olarak ispatlanamamış topikal olarak uygulanan ozon terapi, hiperbarik oksijen tedavisi, düşük doz lazer tedavisi, plateletten zengin plazma, günlük düşük doz paratiroid hormon uygulaması, standart antibiyotik tedavisine pentoksifilin ve tokoferol eklenmesi, kemik morfogenetik protein veya otolog kemik iliği kök hücre enjeksiyonu gibi tedaviler yer almaktadır (Epstein ve ark., 2010; Ripamonti ve ark., 2011; Ruggiero ve ark., 2014; Fliefel ve ark., 2015). Cerrahi uygulamalarda osteotominin lazerle yapılması ve ayrıca tedaviye DELT, sistemik antibiyotik ve plateletten zengin plazmanın eklenmesinin osteonekroz tedavisi üzerine etkinliğini araştıran çalışmalarda; eklenen yardımcı tedavilerin osteonekrozun iyileşme oranını artırdığı bulunmuştur (Atalay ve ark., 2011; Vescovi ve ark., 2012; Martins ve ark., 2012).

ESWT tıpta avasküler kemik nekrozu, nonunion, lateral epikondilit gibi hastalıkların tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılan bir tedavi metodudur. ESWT'nin her tedavideki etkinliği uygulanan enerji yoğunluğuna, şok dalgası oluşum türüne ve uygulama seansına bağlı olarak değişmektedir. Henüz ESWT'nin dokular üzerine etkili enerji yoğunluğu ve atım sayısı üzerine varılmış bir fikir birliği yoktur (Zelle ve ark., 2010; van der Jagt ve ark., 2011; Gollwitzer ve ark., 2012; Schaden ve ark., 2015; Wang ve ark., 2016). ESWT'nin kemik hücreleri üzerine stimülatif etkileri in vitro olarak incelenmiş ve orta şiddette (0,10-0,13 mj/mm²) uygulanan enerji yoğunluğunun kemik hücreleri için en uygun stimülatif etkilerinin olduğu, aynı zamanda hücrelerden bazı anjiogenik faktörlerin salınmasını sağladığı bulunurken; enerji yoğunluğunun belli bir seviyenin üstüne çıkmasının hücre apoptozisini artırdığı görülmüştür (Kusniercrazak ve ark., 2000 ve Zhang ve ark., 2014). Wang ve ark., (2004) ve Chen ve ark., (2004)

ESWT'nin doza bağılı etkilerini in vivo olarak incelemiş ve denek olarak kullandıkları tavşan ve ratlarda doza bağılı olarak kemik yoğunluğu ve dayanıklılığında farklılıklar olduğunu; yüksek enerji seviyelerinin uygulanmasının osteojenik etkiyi baskıladığını bulmuşlardır. Maier ve ark., (2003, 2004) 0,9 mJ/mm² nin üzerindeki enerji yoğunluklarının kortikal kırıklara, periosteal ayrılmalara ve kemik içi kanamalara sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ESWT'nin 0.003 ± 0.890 mJ/mm² arasında değişen çeşitli enerji akış yoğunluğu değerleri kullanılmıştır (Mackert ve ark. 2017). Araştırmalar biyolojik etkilerin yaklaşık 0.15 mJ/mm² ve 500 atımda başladığını göstermektedir (Wang ve ark., 2002; Chen ve ark., 2003; Wang ve ark., 2003). 0,54 ± 0,9 mJ/mm² enerji seviyelerinin, trabeküler bozulmaya ve korteksin kırılmasına neden olduğu ve daha düşük enerji yoğunluklarının etkinliğinin araştırılması gerektiği gösterilmiştir (Mackert ve ark., 2017). Daha yüksek enerji akış yoğunluğu ve daha fazla sayıda uygulamanın trabeküler ağa, yeni oluşan kallus ve kemiğe olası fiziksel ve mekanik hasarından dolayı süreci kesintiye uğrattığı bilinmektedir. Ratların tibiası üzerine 0,3 mJ/mm² enerji akış yoğunluğunda 1000 impuls ESWT uygulayan Van der Jagt ve ark., (2011) bu dozda şok dalgalarının periosteal yıkım ve kemikte mikrokırıklar oluşturmadan kemik iliğinde adipositlerin hiperplazisi ve hipertrofisi ile karakterize ilik hasarı oluşturduğunu ve kemik metabolizmasında anabolik yöne kayma olduğunu bulmuşlardır.

Yaptığımız bu çalışmada odaksız elektrohidrolik ESWT cihazı kullanılmıştır ve tedavi protokolü literatüre uygun olarak tek seans olarak düzenlenmiştir (Schaden ve ark., 2015). ESWT ve ESWT+DELT gruplarındaki ratlara dış çekim socketinin primer kallusla dolma süresinin 3-4 gün olduğu göz önüne alınarak dış çekiminden 4 gün sonra tek seans 0,21 mJ/mm² enerji akış yoğunluğunda 1000 atım ESWT uygulaması yapılmıştır (Hassumi ve ark., 2017).

BRONJ tedavisinin temel amacı; ağrı ve enfeksiyonun ortadan kaldırılması ile hastanın yaşam kalitesini artırmak, yeni lezyonların gelişmesini önlemek ve hastalığın ilerlemesini yavaşlatmaktır. İstenilen ideal sonuç BRONJ'un ortadan kaldırılması ve tam iyileşmedir. Son yıllarda, BRONJ için tek başına veya diğer tedavi yöntemleriyle birlikte lazerin kullanımı, uygulama kolaylığı ve doku iyileşmesi üzerine bildirilen önemli yararlı etkileri nedeniyle daha yaygın bir hale gelmiştir (Weber ve ark., 2016).

DELT (Düşük Enerjili Lazer Tedavisi)'nin ağız dokularına uygulandığında antimikrobiyal ve biyositümülân etkiye sahip olması ve kemik dokusu üzerine de biyositümülâtif etkisinin olduğunun bilinmesi onun destekleyici tedaviler arasında yer almasına neden olmuştur (Vescovi ve ark., 2013; Altay ve ark., 2014; Walter ve ark., 2014; Rola ve ark., 2014; Park ve ark., 2015; Sella ve ark., 2015).

Kemikte biyostimülasyon için en çok kullanılan lazerler; Argon, CO₂, He:Ne, Nd:YAG lazerlerdir (Weber ve ark., 2016). DELT, hücre metabolizmasını düzenleyebilmesi, yara iyileşmesini hızlandırması ve ağrıyı azaltabilmesinden dolayı BRONJ için ümit verici bir yardımcı tedavi yöntemi olarak kabul edilmektedir. Lazer ışını, kemiğin organik matriksini uyararak çoğalmasını ve osteoblastların mitotik aktivitesinin artmasını sağlar. Artmış mitotik aktivite; farklılaşmış osteoblastik hücrelerin sayısını ve aktivitesini artırarak aynı zamanda kemik oluşumunu da hızlandırır (Freitas ve ark., 2000; Stein ve ark., 2005; Diniz ve ark., 2009; Garcia ve ark., 2013; Altay ve ark., 2014; Vescovi ve ark., 2014). Ek olarak, DELT yumuşak ve sert dokuda antibakteriyel ve biyositümülân etkileri olan non-invaziv bir yöntemdir ve proanjiogeniktir (Kan ve ark., 2011; Garcia ve ark., 2013; Atalay ve ark., 2011).

Weber ve ark.'ları (2016) çalışmalarında; yüksek enerjili lazer tedavisi veya DELT de dâhil olmak üzere lazerle yapılan tedavi yöntemlerinin geleneksel ve/veya konservatif ilaç tedavisine kıyasla BRONJ lezyonlarının seyrinin hafifletilmesi veya iyileştirilmesi bakımından üstün sonuçlar verdiğini rapor etmişlerdir. DELT ile birlikte ilaç tedavisini; DELT ile birlikte konvansiyonel veya yüksek güçlü lazer destekli cerrahi tedavi uygulanmasını karşılaştıran çalışmalar DELT'nin, cerrahi prosedürlerle birlikte uygulandığında iyileşme üzerine daha olumlu etkiler ortaya çıkardığını bildirmektedir. Bu çalışmalar içerisinde Manfredi ve ark., (2011) BRONJ tedavisinde cerrahi tedaviye ilaç veya DELT ilavesini karşılaştırdıkları çalışmalarında her iki grupta da %100 iyileşme rapor ederlerken; Vescovi ve ark., (2012) ise BRONJ vakalarında ilaç ile birlikte DELT ve cerrahi tedavi ile DELT uygulamışlardır. Sonuçta ilaç ve DELT uyguladıkları grupta %100 iyileşme rapor ederlerken; cerrahi ve DELT grubunda ise %85,71 iyileşme bildirmişlerdir. BRONJ üzerine uygulanan tedavilerin karşılaştırılmasında en kötü sonuçların ilaç tedavisinin tek başına uygulandığı gruplarda görüldüğü bilinmektedir (Weber ve ark. 2016).

DELT'nin kemik iyileşmesi üzerine olan olumlu etkileri yukarıda tartıştığımız üzere onu BRONJ tedavisinde önemli bir yere koymuştur. Günümüzde hala lazerin etkinliği üzerine yeterli biyolojik ve fiziki bilginin olmamasından dolayı kabul edilen genel geçer bir lazer tipi, ışık çıkış gücü, tedavi süresi, uygulama sıklığı ve lazerin dokulara uygulanma mesafesi üzerine varılmış bir fikir birliği yoktur.

DELT'in uygulama şekli ile ilgili yapılan çalışmalarda akut yaralanmalarda, (post-op ağrının giderilmesi ve/veya iyileşmenin hızlandırılması gibi) yaralanmalardan hemen sonra tek seans uygulanması kabul edilirken; kronik yaralar veya kronik ağrılı durumlarda birkaç hafta devam eden ve hafta da iki veya üç kez tekrarlayan tedavi seansları şeklinde uygulanması kabul edilen bir görüştür (Carrol ve ark. 2014).

DELT kullanımının kemik rejenerasyonu üzerine etkinliğinin araştırıldığı birçok hücre kültürü ve hayvan çalışması vardır. Bu çalışmalar sonucunda ortaya çıkan birçok DELT protokolü bulunmaktadır, fakat kemik rejenerasyonu üzerine kabul edilen transkutanöz uygulama şekli her gün veya gün aşırı olmak üzere iki hafta boyunca devam eden protokoldür (Matsumoto ve ark., 2009;Pinheiro ve ark., 2012). Yapmış olduğumuz deneysel çalışmada Marquez ve ark.'larının (2014) GaAlAs lazer kullandıkları ve kemik rejenerasyonunda etkinliğini ispatladıkları 48 saatte bir olmak üzere iki hafta boyunca 16 j/cm^2 şeklinde uyguladıkları protokol tercih edilmiştir. Çalışmamızda GaAlAs lazer kullanılarak DELT ve DELT-ESWT gruplarına dış çekiminden 48 saat sonra başlamak üzere 810 nm dalga boyunda 16 j/cm^2 ışınım gücünde her seans 5j olmak üzere 0,4 W güç 1,2 W/cm² çıkış gücüyle toplamda 7 seansta 91 sn Diyot lazer uygulaması yapılmıştır.

AAOMS'un yapmış olduğu BRONJ tanımlaması histolojik bulgulardan bahsetmeksizin sadece klinik semptomlar üzerinden yapılmıştır. Küçük deney hayvanlarında ağrı ve yaşam kalitesi gibi klinik bulguların değerlendirilmesi mümkün olmadığı için deneysel çalışmalarda denekler üzerinde yapılan histolojik ve radyografik bulguların değerlendirilmesi BRONJ'un tanımlanması için yapılacak incelemelerin temelini oluşturmaktadır (Barba-Recreo ve ark., 2013).

Klinik olarak nekrotik kemik varlığının gösterilmesiyle BRONJ benzeri lezyonların değerlendirildiği deneysel çalışmalar yapılmıştır (Bi ve ark, 2010; Biasotto ve ark, 2010; Hokugo ve ark., 2010; Marino ve ark., 2012; Pautke ve ark., 2012). Bununla beraber ekspozite nekrotik kemik olmadan oluşan BRONJ evresinden de

bahsedilmektedir. Bu evrenin deney hayvanlarında ağrı gibi klinik bulguların tespitinin yapılamamasından dolayı teşhisi zordur. Zoledronik asit verilerek kemikte oluşan histolojik değişikliklerin araştırıldığı çalışmalarda BRONJ da görülen osteonekroz oluşumunun incelenmesi için net bir belirteç bulunamamıştır. (Allen ve ark., 2008; 2009; 2010).

Bizim çalışmamızda kemik iyileşmesi histopatolojik olarak immünohistokimyasal ve stereolojik yöntemler kullanılarak incelenmiştir. İmmünohistokimyasal incelemede MMP-2 (matriks metalloproteinaz 2) ve CD-31 (platelet endotelial hücre adezyon molekülü-1 / PECAM-1) biyolojik belirteçleri araştırılmıştır.

BRONJ oluşumunda temel teori bir dış etken sonrası (dış çekimi) azalmış osteoklast fonksiyonu nedeniyle bozulmuş kemik iyileşmesidir. Alveol soketi iyileşmesi esnasında, osteoblastlar tarafından sentezlenen ECM (osteoid) osteoklastlar tarafından kademeli olarak rezorbe edilmektedir. Organik yapı da oluşan bu çözülme mineral yapının çökmesi ve damarlanmanın sağlanması için önemlidir (Silva Palva ve Granjeiro, 2014).

MMP'ler, normal fizyolojik süreç içinde kök hücre farklılaşması, hücre proliferasyonu, çeşitliliği, ECM remodelingi, yara iyileşmesi, angiogenezis ve hücre apoptozisi gibi süreçlerde rol alırlar. MMP'ler ve inhibitörleri arasındaki dengesizlik tümör invazyonu ve fibrozis gibi patolojik durumlara yol açmaktadır. Osteogenezis esnasında salgılanan MMP-2; osteoblastların farklılaşması, ECM proteinlerinden osteopontin, kemiksialo protein, kollajen tip I, RUNX2 ve biyoaktif moleküllerin düzenlenmesinde önemlidir (Fernandez-Patron ve ark., 2016). MMP-2 eksikliğinde kemik yapımı için gerekli olan ECM proteinlerinin ve kollajen tip I eksikliğine bağlı olarak kemik kütlelerinde azalma, osteoblast sayısında ve aktivasyonunda azalma ve osteopeni görüldüğü bilinmektedir (Silva Paiva ve Granjeiro, 2017).

Lehrer ve ark., (2009) çalışmalarında BRONJ üzerine etkisi olabilecek kemik belirteçlerini incelemişler ve MMP-2 eksikliğinde atriol ve iskeletsel anomalilerin görülmesi nedeniyle BRONJ için önemli bir belirteç olabileceğini bildirmişlerdir. Zoledronatın MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-12, MMP-13, MMP-20'yi inhibe ettiği bilinmektedir.

Çalışmamızda 4 ve 8 hafta süreyle takip edilen DELT, ESWT ve DELT-ESWT gruplarında MMP-2 ekspresyonunun Kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar; DELT ve ESWT'nin tek başına ve birlikte kullanımının zoledronik asit verilen deneklerde kemik iyileşmesi sürecinde rejenerasyon etkisinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Yapılan literatür taramasında konuyla ilgili yapılan başka bir çalışmaya rastlanmadığından, sonuçlarımızı karşılaştırmak mümkün olmamıştır.

CD31; endotelial hücreler, plateletler ve bazı hematopoetik hücrelerden salgılanan bir transmembran proteindir.

Zoledronik asitin, yumuşak doku iyileşmesini yavaşlattığı bilinmektedir (Amagase ve ark., 2007; Landesberg ve ark., 2008; Kobayashi ve ark., 2010). Yumuşak doku iyileşmesi; hücre migrasyonu, bağ doku iyileşmesi, inflamasyon ve angiogenezi içeren karmaşık bir süreçtir. Zoledronik asitin, CD31'in ekspresyonunu baskıladığını gösteren *in vitro* çalışmalar olmakla beraber; *in vivo* olarak ekspresyonunun etkilenmediğini rapor eden araştırmalar da mevcuttur (Yamashita ve ark., 2011; Ribeiro ve ark., 2014). Çalışmamızda, denekler makroskopik olarak incelendiğinde DELT uygulanan gruplarda tam mukozal iyileşme gözlenmiştir. Bununla birlikte CD31 ekspresyonunun DELT uygulanan gruplarda epitelyal alanda fazla olduğu görülmüştür. Bu bulgu; DELT'nin CD31'i artırarak mukozal iyileşmeye katkı sağladığı bilgisini desteklemektedir. ESWT'nin zoledronik asitle etkilenmemiş dokularda *in vivo* olarak CD31 ekspresyonunu artırdığını rapor eden çalışmalar mevcuttur (Wang ve ark., 2008). Ancak bu çalışmada literatürden farklı olarak zoledronik asit ve ESWT uygulanan deneklerde CD31 artışı görülmemiştir.

Hayvanlarda BRONJ'un klinik oluşumunda dental patolojilerle birlikte inflamasyon ve enfeksiyon varlığının beraber izlendiği deney modelleri oluşturulmuş, enfeksiyon ve enflamasyon ile beraber sistemik bir antirezorbif kullanımının osteonekroz için yeterli olduğu gösterilmiştir (Aghaloo ve ark., 2015). BRONJ'un sıklıkla ileri periodontal hastalıklı ve periapikal lezyonlu dişlerin çekilmesinden sonra meydana gelmesi, enfeksiyon ve enflamasyonun BRONJ etyolojisinde etkili olduğunu düşündürmektedir (Aghaloo ve ark., 2015). CD31'in lökosit migrasyonunda ve endotel permeabilitesinde rolü olduğu ve enflamasyon sırasında insan monosit, granülosit ve plateletlerinden salgılandığı bilinmektedir. Bu çalışmada DELT ve DELT-ESWT

gruplarında bağ doku ve endotel çeperinde CD31 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Bu bulgular ışığında zoledronik asit uygulanan ratlarda DELT uygulamasının yara iyileşmesine olumlu katkıları olduğu söylenebilir.

Stereoloji üç boyutlu yapıların iki boyutlu kesitlerle incelenbilmesini sağlayan bir bilimsel yöntemdir. Bu yöntemle iki boyutlu materyaller incelenerek hacimsel bir veri elde edilebilmektedir (Scalizer ve ark., 2015). Çalışmamızda örnekler Cavalieri metodu ile incelenmiştir. İncelenen örneklerde yeni kemik hacmi, bağ doku hacmi ve yeni damar hacmi değerlendirilerek sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Stereolojik inceleme sonucunda; çalışmamızda tüm gruplar içinde en yüksek yeni kemik hacmi değeri DELT-ESWT 4 ($101,65 \pm 4,15$) grubunda saptanmıştır. 4 hafta süreyle takip edilen DELT ve ESWT gruplarının yeni kemik hacmi değeri birbirine yakın bulunmuştur. Bu sonuçlar ESWT'nin; daha önce BRONJ üzerine olumlu etkileri olduğu bilinen DELT ile benzer sonuçlar verdiğini göstermektedir. Ancak; ESWT uygulanan grupta tam kemik iyileşmesinin görülmemiş olması farklı ESWT dozlarının etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Öte yandan ESWT-DELT grubunun yeni kemik hacminin; DELT ve ESWT gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunması; DELT ve ESWT'nin birlikte uygulanmasının erken dönemde yeni kemik oluşumunda sinerjik etki göstererek iyileşmeye olumlu katkı sağladığı şeklinde yorumlanmıştır.

8 hafta takip edilen deney gruplarında en yüksek yeni kemik hacmi değeri istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla beraber DELT grubunda görülmüştür. Ayrıca tüm gruplarda, Kontrol grubuna göre yeni kemik hacmi değeri istatistikî anlamlı farkla birlikte yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla DELT ve ESWT'nin tek başına ve birlikte uygulanmasının geç dönemde de iyileşme üzerine olumlu etkilerinin olduğunu göstermektedir.

DELT-ESWT grubunda 8. haftada görülen yüksek bağ doku hacmi DELT ve ESWT'nin birlikte uygulanmasının daha uzun dönemde de doku rejenerasyonunu artırdığı ve rejenerasyonun devam ettiği şeklinde yorumlanabilir. Fakat bu oluşan yeni bağ dokunun daha ileri dönemlerde değerlendirilebilmesi için daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bifosfonat kullanımının kemik trabeküler ağını daha difüz bir hale getirerek kemiğin damarlanmasını ve VEGF gibi anjiyogenik faktörlerin salınımını azaltarak yara

iyileşmesini bozduğu bilinmektedir (Aghaloo ve ark., 2015). Bu yüzden BRONJ benzeri lezyonların tedavisinde anjiyogenezisi artırıcı tedavi alternatiflerinin uygulanması tedavi başarısı açısından önemlidir. Çalışmamızda stereolojik analiz sonuçlarına göre en yüksek yeni damar hacmi değeri DELT gruplarında görülmüştür. Aynı gruplarda proanjiogenik mediatör olan CD31’inde yüksek bulunması DELT’in zoledronik asitle etkilenmiş dokularda anjiogenezisi stimüle ettiği bilgisi ile uyumludur. ESWT’nin normal dokularda yeni damar oluşumunu artırdığı bilinmektedir (Wang ve ark.; 2008). Ancak çalışmamızda zoledronik asit uygulanmış deneklerde ESWT uygulanmasının yeni damar hacminde anlamlı bir artışa neden olmadığı görülmüştür.

4 hafta takip edilen gruplar ile 8 hafta takip edilen gruplar karşılaştırıldığında yeni kemik oluşumunun 8.haftada Kontrol ve DELT-ESWT gruplarında daha az oranda olduğu gözlenmiştir. Bu durum; BRONJ’un ilerleyici kemik yıkımı özelliği olduğunu vurgulayan literatür bilgisi ile örtüşmektedir. (Allam ve ark., 2011; Coşkun ve Güzel, 2013; Nagata ve ark., 2017). DELT ve ESWT gruplarında ise geç dönemde yeni kemik oluşumunun daha yüksek oranda olduğu görülmüştür. DELT-ESWT grubunda 8. haftada yeni kemik hacmi değerinin daha düşük ileride kemiğe dönüşme potansiyeli olan bağ doku hacmi değerinin ise daha yüksek bulunması rejenerasyon potansiyelinin artmış olması ile açıklanabilir. Ancak bu durumun daha uzun süreli çalışmalarla aydınlatılmasına ihtiyaç vardır. Bu sonuçlar uyguladığımız tedavi metodlarının BRONJ tedavisinde etkili olabileceğini göstermektedir. ESWT gruplarının iyileşme mekanizması net olarak anlaşılammakla beraber; DELT ile ilgili olarak 4 hafta takip edilen DELT grubunda ileri derecede artmış yeni damar oluşumunun görülmesi; in vivo olarak mikro damar yoğunluğunu azalttığı bilinen zoledronik asit etkisinin DELT yardımıyla azaltılabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, yara iyileşmesinde lazer kullanımının erken dönemde neoanjiogenezi uyardığını ve biositümülatif özelliğinin olduğunu bildiren literatür bilgisi ile örtüşmektedir (Walsh, 1995; Walsh ve ark., 2006; Asnaashari ve Safavi, 2013; Vescovi ve ark., 2013; Rola ve ark., 2014; Altay ve ark., 2014; Park ve ark., 2015; Sella ve ark., 2015).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmada zoledronik asit uygulanan deneklerde diş çekim soketi iyileşmesi üzerine DELT ve ESWT'nin etkileri immunohistokimyasal ve stereolojik yöntemler kullanılarak incelenmiştir.
2. Kullanmış olduğumuz zoledronik asit protokolünün BRONJ oluşumu için uygun olduğu görülmüştür.
3. Çalışmamızdan elde edilen stereolojik analiz sonuçlarına göre en yüksek yeni kemik hacmi değeri 4 hafta takip edilen DELT-ESWT grubunda saptanmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda DELT ve ESWT'nin birlikte uygulanmasının erken dönem kemik iyileşmesine sinerjik etki göstererek daha olumlu katkı sağladığı söylenebilir. Bununla birlikte 4 hafta takip edilen ESWT ve DELT gruplarının yeni kemik hacmi değerlerinin birbirine yakın olması ESWT'nin zoledronik asitle etkilenmiş dokularda DELT kadar etkili olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.
4. Stereolojik analiz sonuçlarına göre en yüksek bağ doku hacmi değeri 8 hafta takip edilen DELT-ESWT grubunda bulunmuştur. Bu sonuç DELT ve ESWT'nin geç dönemde rejenerasyona daha fazla etkisinin olduğunu düşündürmekle beraber; daha uzun süreli çalışmalarla bu bulgunun değerlendirilmesine ihtiyaç vardır.
5. Stereolojik analiz sonuçlarına göre yeni damar hacmi değeri DELT uygulanan gruplarda daha yüksek bulunmuştur. Fakat ESWT gruplarında böyle bir bulguya rastlanmamıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda zoledronik asitle etkilenen dokularda ESWT'nin damarlanmaya etkisinin olmadığı sonucuna varılabilir.
6. Çalışmamızdan elde edilen immünohistokimyasal inceleme sonuçlarına göre tüm gruplarda Kontrol grubuna göre MMP-2 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Dolayısıyla DELT ve ESWT'nin yara iyileşmesi ve rejenerasyona olumlu katkıları olduğu sonucuna varılmıştır.
7. İmmünohistokimyasal analiz sonuçlarına göre, DELT'nin epitelyal alanda CD31 ekspresyonunu artırdığı bulunmuştur. Aynı zamanda ilgili gruplarda tam mukozal iyileşmenin görülmesi, DELT'nin yumuşak doku iyileşmesine CD31 ekspresyonunu artırarak olumlu katkı sağladığını desteklemektedir.

8. Ayrıca, DELT uygulanan gruplarda yeni damar hacmiyle birlikte CD31 ekspresyonunun da artmış olması DELT'nin CD31'i artırarak anjiogenezisi desteklediğini göstermektedir.

9. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların, ESWT ve DELT'nin daha farklı tedavi protokollerinin etkinliğinin karşılaştırıldığı, daha uzun dönemli araştırmalarla desteklenmesi gereklidir.



KAYNAKLAR

- Advisory Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65:369–76.
- Aghaloo T, Hazboun R, Tetradis S. Pathophysiology of Osteonecrosis of the Jaws Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2015 November ; 27(4): 489–496.
- Aghaloo TL, Cheong S, Bezouglaia O, Kostenuik P, Atti E, Dry SM, Pirih FQ, Tetradis S. RANK-L inhibitors induce osteonecrosis of the jaw in mice with periapical disease. *J Bone Miner Res.* 2013.
- 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; 26:1871.
- Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, Shoff M, Ronconi M, Gotcher JE, et al. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J Bone Miner Res.* 2011; 26:187182.
- Aguirre JI, Akhter MP, Kimmel DB, Pingel JE, Williams A, Jorgensen M, Kesavalu L, Wronski TJ. Oncologic doses of zoledronic acid induce osteonecrosis of the jaw-like lesions in rice rats (*Oryzomys palustris*) with periodontitis. *J Bone Miner Res.* 2012; 27:2130.
- Aimbire F, Albertini R, Pacheco MT, Castro-Faria-Neto HC, Leonardo PS, Iversen VV, Lopes Martins RA, Bjordal JM. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF alpha levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg* 2006;24:33–7.
- Alakangas A, Selander K, Mulari M, Halleen J, Lehenkari P, Monkkonen J, et al. Alendronate disturbs vesicular trafficking in osteoclasts. *Calcif Tissue Int.* 2002, 70:40-47.

- Al-Aql ZS, Alagl AS, Graves DT, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Molecular Mechanisms Controlling Bone Formation During Fracture Healing and Distraction Osteogenesis. *J Dent Res.* 2008;87(2):107-18.
- Ali-Erdem M, Burak-Cankaya A, Cemil-Isler S, Demircan S, Soluk M, Kasapoglu C, Korhan-Oral C. Extraction socket healing in rats treated with bisphosphonate: animal model for bisphosphonate related osteonecrosis of jaws in multiple myeloma patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011; 16:e879.
- Allam E., Allen MR., Chu YM., Ghoneima A., Windsor J.: In vivo effects of zoledronic acid on oral mucosal epithelial cells. *Oral Dis.* 2011 April ; 17(3): 291–297.
- Allen MR, Burr DB. The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: So many hypotheses, so few data. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 67(5 Suppl):61–70.
- Allen MR, Burr DB: Mandible matrix necrosis in beagle dogs after 3 years of daily oral bisphosphonate treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008, 66:987,
- Allen MR, Pandya B, Ruggiero SL. Lack of correlation between duration of osteonecrosis of the jaw and sequestra tissue morphology: what it tells us about the condition and what it means for future studies. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010;68:2730–4.
- Allen MR, Ruggiero SL. Higher bone matrix density exists in only a subset of patients with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67:1373–7
- Altay MA, Tasar F, Tosun E, Kan B, Low-Level Laser Therapy Supported Surgical Treatment of Bisphosphonate Related Osteonecrosis of Jaws: A Retrospective Analysis of 11 Cases *Photomedicine and Laser Surgery.* 2014, Volume 32, Number 8
- Altay MA.: Low-level laser therapy supported surgical treatment of bisphosphonate related osteonecrosis of jaws: a retrospective analysis of 11 cases. *Photomed Laser Surg.* 2014; 32(8):468–75.

- Amagase K, Hayashi S, Nishikawa K, Aihara E, Takeuchi K: Impairment of gastric ulcer healing by alendronate, a nitrogen-containing bisphosphonate, in rats. *Dig Dis Sci.* 2007; 52:1879-1889.
- Arce K, Assael LA, Weissman JL, Markiewicz MR. Imaging findings in bisphosphonate-related osteonecrosis of jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67:75–84.
- Asnaashari M, Safavi N. Application of Low level Lasers in Dentistry (Endodontic) *Journal of Lasers in Medical Sciences* Volume 4 Number 2 Spring 2013
- Atalay B, Yalcin S, Emes Y, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis: laser-assisted surgical treatment or conventional surgery? *Lasers Med Sci.* 2011;26:815–23.
- Atalay B, Yalcin S, EmesY, Aktas I, Aybar B, Issever H et al.: Bisphosphonate-related osteonecrosis: laser-assisted surgical treatment or conventional surgery? *Lasers Med Sci.* 2011; 26(6):815–23.
- Baddeley A, Jensen EBV. *Stereology for Statisticians.* Boca Raton, FL: Chapman & Hall/CRC; 2005.
- Bae S, Sun S, Aghaloo T, Oh JE, McKenna CE, Kang MK, Shin KH, Tetradis S, Park NH, Kim RH. Development of oral osteomucosal tissue constructs in vitro and localization of fluorescently-labeled bisphosphonates to hard and soft tissue. *Int J Mol Med.* 2014; 34:559.
- Bagan JV, Jimenez Y, Gomez D, Sirera R, Poveda R, Scully C. Collagen telopeptide (serum CTX) and its relationship with the size and number of lesions in osteonecrosis of the jaws in cancer patients on intravenous bisphosphonates. *Oral Oncol.* 2008;44:1088–9.
- Bahney CS, Hu DP, Miclau T, 3rd, Marcucio RS. The multifaceted role of the vasculature in endochondral fracture repair. *Frontiers in endocrinology.* 2015, 6:4.
- Baloğlu Ş, Lök V, Aydınok H. Ortopedi ve travmatolojide şok dalga tedavisi (ossa-terapi). *Artroplasti Artroskopik Cerrahi* 14: 45-50, 2003.

- Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Mouloupoulos LA, Melakopoulos I, Bozas G, et al. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: Incidence and risk factors. *J Clin Oncol*. 2005; 23:8580–7.
- Bancroft JD, Stevens A. *Theory and Practice of histological techniques*. 4th ed. New York, Churchill Livingstone. 1996;15: 309-339.
- Barasch A, Cunha-Cruz J, Curro FA, et al. Risk factors for osteonecrosis of the jaws: a case-control study from the CONDOR dental PBRN. *J Dent Res*. 2011;90:439–44.
- Barba-Recreo P, Del Castillo Pardo de Vera JL, García-Arranz M, Yébenes L, Burgueño M. :Zoledronic acid - related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *J Craniomaxillofac Surg*. 2014 Sep;42(6):744-50.
- Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Growth Factor Regulation of Fracture Repair. *J Bone Miner Res*. 1999;15:309-339.
- Baron R, Ferrari S, Russell RG. Denosumab and bisphosphonates: different mechanisms of action and effects. *Bone*. 2011; 48:677.
- Baron R. Molecular Mechanisms Of Bone Resorption: Therapeutic Implications. *Rev Rhum Engl Ed*. 1999; 63:633-8.
- Bashutski JD, Eber RM, Kinney JS, et al. Teriparatide and osseous regeneration in the oral cavity. *N Engl J Med*. 2010;363:2396–405.
- Bast F, Fuss H, Schrom T. Bilateral bisphosphonate-associated of osteonecrosis the external ear canal : a rare case. *HNO*. 2012; 60:1127–9.
- Bates P, Ramachandran M. Bone Injury, Healing and Grafting. In *Basic Orthopaedic Sciences. The Stanmore Guide*. Edited By: Ramachandran M. London. Hodder Arnold. 123-134; 2007.
- Baud'huin M, Duplomb L, Ruiz Velasco C, Fortun Y, Heymann D, Padrines M. Key roles of the OPG-RANK-RANKL system in bone oncology. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2007; 7:221.

- Baxter G.D. Therapeutic lasers; theory and practice. London: Churchill Livingstone; 1994.
- Beam HA, Parsons JR, Lin SS. The effects of blood glucose control upon fracture healing in the BB Wistar rat with diabetes mellitus. *J. Orthop. Res.* 2002; 20:1210–6.
- Bedogni A, Blandamura S, Lokmic Z, et al. Bisphosphonate-associated jaw bone osteonecrosis: a correlation between imaging techniques and histopathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105:358–64.
- Behr B, et al. Fgf-18 is required for osteogenesis but not angiogenesis during long bone repair. *Tissue Eng. Part A.* 2011;17:2061–9.
- Behr B, Leucht P, Longaker MT, Quarto N. Fgf-9 is required for angiogenesis and osteogenesis in long bone repair. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010;107:11853–8.
- Ben-Dov N, Shefer G, Irintchev A, Wernig A, Oron U, Halevay O. Low energy laser irradiation affects cell proliferation and differentiation in vitro. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1448(3):372-80.
- Benford HL, McGowan NW, Helfrich MH, Nuttall ME and Rogers MJ. Visualization of bisphosphonate-induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone.* 2001, 28(5):465-473.
- Berenson JR, Hillner BE, Kyle RA, Anderson K, Lipton A, Yee GC, et al. American society of clinical oncology clinical practice guidelines: The role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2002;20:3719–36.
- Bhat AM. Lasers in prosthodontics- An overview part 1: Fundamentals of dental lasers. *Journal of Indian Prosthodontic Society.* 2010;10:13-26.
- Bianchi SD, Scoletta M, Cassione FB, Migliaretti G, Mozzati M. Computerized tomographic findings in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in patients with cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104:249–58.

- Bilezikian JP, Lawrence GR, Martin TJ. Principles of bone biology. 3rd ed. Elsevier Inc. Vol:1 2008.
- Bisdas S, Chambron PN, Smolarz A, Sader R, Vogl TJ, Mack MG. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: CT and MRI spectrum of findings in 32 patients. *Clin Radiol.* 2008;63: 71–7.
- Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, et al. Once yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 2007, 356:1809-1822.
- Blomen LJMJ. History of the bisphosphonates: discovery and history of the non-medical uses of bisphosphonates. In: Bijvoet OLM, Fleisch HA, Canfield RE, Russell RGG (eds) *Bisphosphonate on Bones.* Amsterdam: Elsevier; 1995:p.111–124.
- Bloom W., Fawcett DW. *A Textbook Of Histology.* 10th Ed, Philadelphia, W.B. Saunders, 1975; C10.
- Boissier S, Ferreras M, Peyruchaud O. Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *Cancer Res.* 2000, 60:2949-2954.
- Bolander ME. Regulation of Fracture Repair By Growth Factors. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1992;200:165-170.
- Bone HG, Bolognese MA, Yuen CK, et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008, 93:2149–57.
- Bone HG, Chapurlat R, Brandi ML, et al. The effect of three or six years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the FREEDOM extension. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013, 98:4483–92.
- Boonen S, Reginster JY, Kaufman JM, et al. Fracture risk and zoledronic acid therapy in men with osteoporosis. *N Engl J Med.* 2012, 367:1714–23.

- Bostrom MPG, Yang X, Koutras I. Biologics in bone healing. *Curr Opin Orthop* 2000;11: 403-412.
- Botushanov NP, Orbetzova MM. Bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Folia medica*. 2009;51(4):12–17.
- Boyce RW, Paddock CL, Gleason JR, et al: The effects of risedronate on canine cancellous bone remodeling: Threedimensional kinetic reconstruction of the remodeling site. *J Bone Miner Res*. 1995, 10:211,
- Brighton CT, Hunt RM. Early histological and ultrastructural changes in microvessels of periosteal callus. *J Orthop Trauma*, 1997;11:244-253.
- Brinker MR. In review of orthopaedics 3rd Ed. (Ed. Miller MD) Bone. 2000; 1-39
- Brinkerhoff Z. (1998) World Association for Laser Therapy. A Report on the Second Congress of WALT
- Bronner F., Worrell RV. *Orthopaedics: Principles Of Basic and Clinical Science*. New York, CRC Press, 1999.
- Brunamonti BP, Bandelloni R, Labanca M, Buffoli B, Rezzani R, Rodella LF. Osteonecrosis of the jaws and bevacizumab therapy: a case report. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2012 Jul-Sep;25(3):789-91.
- Bryson JE, Gourlay ML. Bisphosphonate use in acute and chronic spinal cord injury: a systematic review. *J Spinal Cord Med*. 2009, 32: 215-25.
- Buckwalter JA, Einhorn TA, O’Keefe RJ. American Academy Of Orthopaedic Surgeons. *Orthopaedic Basic Science: Foundations Of Clinical Practice*. 3rd Edition. Rosemund (IL): AAOS;2007;331-46.
- Bukowski JF, Dascher CC, Das H: Alternative bisphosphonate targets and mechanisms of action. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005; 328:746.
- Canale TS, *Campbell’s Operative Orthopaedics 11*. Türkçe Basım. Ayrıntı Basımevi, Ankara, 2010.

- Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J: Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2003; 30, 809–818.
- Carranza FA, N.M. Clinical periodontology. 8th ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1996.
- Carroll JD., Milward MR., Cooper PR., Hadis M., Palin WM.: Developments in low level light therapy (LLLT) for dentistry. *Dental Materials*. 2014; (30):465–475.
- Cartsos VM, Zhu S, Zavras AI. Bisphosphonate use and the risk of adverse jaw outcomes: a medical claims study of 714,217 people. *J Am Dent Assoc*. 2008;139:23–30.
- Castillo RC, Bosse MJ, MacKenzie EJ, Patterson BM; LEAP Study Group. Impact Of Smoking On Fracture Healing And Risk Of Complications In Limb-Threatening Open Tibia Fractures. *J Orthop Trauma*. 2005;19(3):151-7.
- Cella L, Oppici A, Arbasi M, et al. Autologous bone marrow stem cell intralesional transplantation repairing bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw. *Head Face Med*. 2011;7:16.
- Cerqueira A, Silveira RL, Oliveira MG, Sant'ana Filho M, Heitz C. (2007). Bone tissue microscopic findings related to the use of diode laser (830nm) in ovine mandible submitted to distraction osteogenesis. *Acta Cirurgica Brasileira*, 22(2), 92-7.
- Chen XF, Huang HM, Li XL, Liu GJ, Zhang H. Slightly focused high-energy shockwave therapy: a potential adjuvant treatment for osteoporotic fracture. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8(4):5044±54.
- Chen YJ, Wurtz T, Wang CJ, Kuo YR, Yang KD, Huang HC, et al. Recruitment of mesenchymal stem cells and expression of TGF- β 1 and VEGF in the early stage of shock wave-promoted bone regeneration of segmental defect in rats. *J Orthop Res*. 2003; 22(3):526±34.
- Cheng H, Jiang W, Phillips FM, Haydon RC, Peng Y, Zhou L, Luu HH, An N, Breyer B, Vanichakarn P, Szatkowski JP, Park JY, He TC. Osteogenic Activity Of The Fourteen Types Of Human Bone Morphogenetic Proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am*. 2003;85-A(8):1544-52.

- Chesnut CH, 3rd, McClung MR, Ensrud KE, Bell NH, Genant HK, Harris ST, Singer FR, Stock JL, Yood RA and Delmas PD. Alendronate treatment of the postmenopausal osteoporotic woman: effect of multiple dosages on bone mass and bone remodeling. *Am J Med.* 1995, 99(2):144-152.
- Chiandussi S, Biasotto M, Dore F, Cavalli F, Cova MA, Di Lenarda R. Clinical and diagnostic imaging of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Dentomaxillofac Radiol.* 2006;35:236–43.
- Cho TJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Differential Temporal Expression Of Members Of The Transforming Growth Factor Beta Superfamily During Murine Fracture Healing. *J Bone Miner Res.* 2002;17: 513-520.
- Christodoulou C, Pervena A, Klouvas G, et al. Combination of bisphosphonates and antiangiogenic factors induces osteonecrosis of the jaw more frequently than bisphosphonates alone. *Oncology.* 2009;76:209–11.
- Claes L, Eckert-Hubner K, Augat P. The Effect Of Mechanical Stability On Local Vascularization And Tissue Differentiation In Callus Healing. *J. Orthop Res* 2002; 20(5):1099-105.
- Clayman L, Kuo P. *Lasers in Maxillofacial Surgery and Dentistry.* New York: Thieme Medical Publishers;1997.
- Clezardin P, Eberino FH, Fournier PGJ. Bisphosphonates and cancer-induced bone disease: beyond their antiresorptive activity. *Can Res.* 2005, 65:4971-4974.
- Coleman R, Woodward E, Brown J, Cameron D, Bell R, Dodwell D, et al. Safety of zoledronic acid and incidence of osteonecrosis of the jaw (ONJ) during adjuvant therapy in a randomised phase III trial (AZURE: BIG 01-04) for women with stage II/III breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;127:429–38.
- Coluzzi DJ, Convissar RA. *Laser Fundamentals.* Dolan J, Loehr B. Editörler, Principles and Practice of Laser Dentistry'de, 1. Baskı, New York, Elsevier Health Sciences. 2010;12-25.

- Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers. Laser in clinical dentistry, Ed.By T. Vassala, 4, WB Saunders. New York. 2004;751-70.
- Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: Science and instruments. Dent Clin N Am. 2004; 48:751-770.
- Coluzzi DJ. Fundamentals of Lasers in Dentistry: Basic Science, tissue interaction and instrumentation. J Laser Dent 2008;16:4-10.
- Convissar RA. The Biologic Rationale for the Use of Lasers in Dentistry. Dent Clin North Am. 2004, 48 (4) 771-794.
- Corey E, Brown LG, Quinn JE, Poot M, Roudier MP, Higano CS and Vessella RL. Zoledronic acid exhibits inhibitory effects on osteoblastic and osteolytic metastases of prostate cancer. Clin Cancer Res. 2003, 9(1):295-306.
- Coskun Benlidayi I, Guzel R. Oral bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw: a challenging adverse effect. Rheumatol. 2013; 2013:215034.
- Coxon FP, Ebetino FH, Mules EH, Seabra MC, McKenna CF, Rogers MJ. Phosphonocarboxylate inhibitors of Rab geranylgeranyl transferase disrupt the prenylation and membrane localization of Rab proteins in osteoclasts in vitro and in vivo. Bone. 2005, 37:349-358.
- Cremers S, Papapoulos S. Pharmacology of bisphosphonates. Bone. 2011, 49(1), 42-9.
- Cruz-Orive LM, Weibel ER. Recent stereological methods for cell biology: A brief survey. Am J Physiol. 1990;258:148–156.
- Cummings SR, San MJ, McClung MR, et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med. 2009;361:756–65.
- Daniell MD, Hill JS. A history of photodynamic therapy. Australian and New Zealand Journal of Surgery. 1991, 61(5), 340-8.
- Darby I, Chen S, Buser D. Ridge preservation techniques for implant therapy. J Oral Maxillofac. Implants 2009;24(Suppl):260–271.
- Darby I, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered. Australian Dental Journal 2008; 53: 11–21.

- De Lima FM, Albertini R, Dantas Y, Maia-Filho AL, Santana Cde L, Castro-Faria-Neto HC, França C, Villaverde AB, Aimbire F. Low-level laser therapy restores the oxidative stress balance in acute lung injury induced by gut ischemia and reperfusion. *Photochem Photobiol* 2013;89:179–88.
- De Mello ED, Pagnoncelli RM, Munin E, Filho MS, de Mello GP, Arisawa EA, de Oliveira MG. Comparative histological analysis of bone healing of standardized bone defects performed with the Er:YAG laser and steel burs. *Lasers Med Sci*. 2008;23:253-60.
- De Molon RS, Cheong S, Bezouglaia O, Dry SM, Pirih F, Cirelli JA, Aghaloo TL, Tetradis S. Spontaneous osteonecrosis of the jaws in the maxilla of mice on antiresorptive treatment: a novel ONJ mouse model. *Bone*. 2014; 68:11.
- Deckers MM, van Bezooijen RL, van der Horst G, Hoogendam J, van Der Bent C, Papapoulos SE, Löwik CW. Bone Morphogenetic Proteins Stimulate Angiogenesis Through Osteoblast-Derived Vascular Endothelial Growth Factor A. *Endocrinology*. 2002;143(4):1545-53.
- DeLisser HM, Christofidou-Solomidou M, Strieter RM, Burdick MD, Robinson CS, Wexler RS, Kerr JS et al: Involvement of endothelial PECAM-1/CD31 in angiogenesis. *Am J Pathol*. 1997; 151: 671–677.
- Delmas PD, Meunier PJ. The management of Paget's disease of bone. *N Engl J Med*. 1997;336:558–66.
- Delmas PD. Clinical potential of RANKL inhibition for the management of postmenopausal osteoporosis and other metabolic bone diseases. *J Clin Densitom*. 2008;11:325–38.
- Delmas PD. The use of bisphosphonates in the treatment of osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2005;17:462–6.
- Deppe H, Horch HH. Laser applications in oral surgery and implant dentistry. *Lasers Med Sci*. 2007;22(4):217-21.
- Derr VE, Fine S. Free radical occurrence in some laser-irradiated biologic materials. *Fed Proc*. 1965; 24: Suppl14:99-103.

- Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury* 2005;36(12):1392–404.
- Dimopoulos MA, Kastritis E, Bamia C, Melakopoulos I, Gika D, Roussou M, Migkou M, Eleftherakis-Papaiakovou E, Christoulas D, Terpos E, Bamias A. Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid. *Ann Oncol.* 2009; 20:117.
- Ding Zi-chuan, Lin Yi-kai, Gan Yao-kai, Tang Ting-ting. Molecular pathogenesis of fracture nonunion. *Journal of Orthopaedic Translation.* 2018;14:45-56.
- Diniz JS, Nicolau RA, Ocarino NM, Magalhães FC, Pereira RDO, Serakides R.: Effect of low-power gallium-aluminumarsenium laser therapy (830 nm) in combination with bisphosphonate treatment on osteopenic bone structure: an experimental animal study. *Lasers Med Sci.* 2009; 24(3):347–52.
- Doblare M., Garcia JM, Gomez MJ. Modelling Bone Tissue Fracture And Healing: A Review. *Engineering Fracture Mechanics.* 2004;71: 1809-1840
- Dore F, Filippi L, Biasotto M, Chiandussi S, Cavalli F, Di LR. Bone scintigraphy and SPECT/CT of bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Nucl Med.* 2009;50:30–5.
- Duncan GS, Andrew DP, Takimoto H, Kaufman SA, Yoshida H, Spellberg J, Luis de la Pompa J, Elia A, Wakeham A, Karan-Tamir B, Muller WA et al. Genetic evidence for functional redundancy of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1(PECAM-1): CD31-deficient mice reveal PECAM-1-dependent and PECAM-1-independent functions. *J Immunol.* 1999; 162: 3022–3030.
- Dunford JE, Thompson K, Coxon FP, Luckman SP, Hahn FM, Poulter CD, et al. Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001, 296:235-242.
- Dyson M. Primary, secondary and tertiary effects of phototherapy. In: *Proc. SPIE 6140, Mechanisms for low-light therapy*, 2006; 614005.

- Edgar CM, Chakravarthy V, Barnes G, Kakar S, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Autogenous Regulation of A Network Of Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) Mediates The Osteogenic Differentiation In Murine Marrow Stromal Cells. *Bone*. 2007;40:1389-1398.
- Eells JT, Wong-Riley MTT, VerHoeve J, Henry M, Buchman EV, Kane MP, Gould LJ, Das R, Jett M, Hodgson BD, Margolis D, Whelan HT. Mitochondrial signal transduction in accelerated wound and retinal healing by near-infrared light therapy. *Mitochondrion* 2004;4(5-6):559-567.
- Eggers G, Chilla R. Ultrasound guided lithotripsy of salivary calculi using an electromagnetic lithotripter. *Int J Oral Maxillofac Surg* 34: 890-894, 2005
- Eghbali F. Low level or therapeutic lasers, Fekrazad R. Applying low level laser therapy in dentistry. Tehran:Shayan nemoodar; 2009.
- Einhorn TA, Gerstenfeld LC. Fracture healing: mechanisms and interventions: review. *Nature Reviews Rheumatology*. 2015, 11, 45–54
- Einhorn TA. The Cell End Molecular Biology Of Fracture Healing. *Clin Orthop Relat Res*. 1998;355: 7-21.
- Einstein A, On the Quantum Theory of Radiation. *Physika zeitschrift*.1917, 18, 121-128
- Epstein MS, Wicknick FW, Epstein JB, Berenson JR, Gorsky M. Management of bisphosphonate-associated osteonecrosis: pentoxifylline and tocopherol in addition to antimicrobial therapy. An initial case series. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010;110:593–6.
- Eriksen EF, Melsen F, Sod E, et al: Effects of long-term risedronate on bone quality and bone turnover in women with postmenopausal osteoporosis. *Bone*. 2002, 31:620,
- Eslami Faresani R. Ashtiani Araghi B. Kamrava K. Rezvan F. Laser Principles. Mokmeli S. Saghafi S. Laser therapy (handbook on basic and clinical practice of low level laser).Iran, Tehran, Boshra 2006.

- Etminan M, Aminzadeh K, Matthew IR, Brophy JM. Use of oral bisphosphonates and the risk of aseptic osteonecrosis: a nested case-control study. *J Rheumatol.* 2008;35:691–5.
- Fatterpekar GM, Emmrich JV, Eloy JA, Aggarwal A. Bone-within bone appearance: a red flag for biphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *J Comput Assist Tomogr.* 2011;35:553–6.
- Fedele S, Porter SR, D’Aiuto F, et al. Nonexposed variant of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a case series. *Am J Med.* 2010;123:1060–4.
- Fellows JL, Rindal DB, Barasch A, et al. ONJ in two dental practicebased research network regions. *J Dent Res.* 2011;90:433–8.
- Ferguson C, Alpern E, Miclau T, Helms JA. Does Adult Fracture Repair Recapitulate Embryonic Skeletal Formation? *Mech Dev* 1999, 87: 57-66.
- Ferlito S, Puzzo S, Liardo C. Preventive protocol for tooth extractions in patients treated with zoledronate: a case series. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69:e1–e4.
- Fernandez-Patron C, Kassiri Z, Leung D. Modulation of systemic metabolism by MMP-2: from MMP-2 deficiency in mice to MMP-2 deficiency in patients. *Compr Physiol.* 2016;6(4):1935–1949.
- Fishbane PM., Gasirowicz S, Thornton ST. *Temel Fizik II*, Arkadas Yayınevi, Ankara, 2003
- Fitzpatrick SG, Stavropoulos MF, Bowers LM, et al. Bisphosphonaterelated osteonecrosis of jaws in 3 osteoporotic patients with history of oral bisphosphonate use treated with single yearly zoledronic acid infusion. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70:325–30.
- Fizazi K, Carducci M, Smith M, Damião R, Brown J, Karsh L, et al. Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: A randomised, double-blind study. *Lancet.* 2011;377:813–22.

- Fleisch H, Bisaz S, Casey PA, Mühlbauer RC The influence of pyrophosphate analogues (diphosphonates) on the precipitation and dissolution of calcium phosphate in vitro and in vivo. *Calcif Tissue Res* 1968; 2:10-10a.
- Fleisch H: Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev.* 1998, 19:80–100.
- 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 May;44(5):568-85.
- Fogelman I, Bessent RG, Turner JG, Citrin DL, Boyle IT and Greig WR. The use of whole-body retention of Tc-99m diphosphonate in the diagnosis of metabolic bone disease. *J Nucl Med.* 1978;19(3):270-275
- Folk JW, Starr AJ, Early JS. Early wound complications of operative treatment of calcaneus fractures: analysis of 190 fractures. *Journal of orthopaedic trauma.* 1999;13(5):369–372.
- Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med.* 1971;285(21):1182–6.
- Follak N, Kloting I, Merk H. Influence of diabetic metabolic state on fracture healing in spontaneously diabetic rats. *Diabetes Metab Res Rev.* 2005;21(3):288–296.
- Follet H, Li J, Phipps RJ, et al: Risedronate and alendronate suppress osteocyte apoptosis following cyclic fatigue loading. *Bone.* 2007, 40:1172,
- Fonseca R., Walker R., Betts N., Baber H., Powers M., *Oral and Maxillofacial Trauma*, 3rd Edition, Elsevier Saunders, China, 2005;(1)42-55.
- Fournier P, Boissier S, Filleur S, Guglielmi J, Cabon F, Colombel M, et al. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res.* 2002, 62:6538-6544.
- Freitas IGF, Baranauskas V, Cruz-Höfling MA.: Laser effects on osteogenesis. *Appl Surf Sci.* 2000; 154(Feb):548–554.

- Frith JC, Monkkonen J, Blackburn GM, Russell RG and Rogers MJ. Clodronate and liposome-encapsulated clodronate are metabolized to a toxic ATP analog, adenosine 5'-(beta, gamma-dichloromethylene) triphosphate, by mammalian cells in vitro. *J Bone Miner Res.* 1997;12(9):1358-1367.
- Frost HM. *The Biology Of Fracture Healing and Overview For Clinicians. Part 1, Clin Orthop Rel Res.* 1989; 248:283-293.
- Fujita H, Utsumi T, Muranaka S, Ogino T, Yano H, Akiyama J, et al. Involvement of Ras/extracellular signal-regulated kinase, but not Akt pathway in risedronate-induced apoptosis of U937 cells and its suppression by cytochalasin B. *Biochem Pharmacol.* 2005, 69:1773-1784.
- Furia JP, Rompe JD, Maffulli N. Low energy extracorporeal shock wave therapy as a treatment for greater trochanteric pain syndrome. *The American Journal of Sports Medicine* 2009;37(9): 1806-1813
- G. Haupt, *Enhancement of Fracture Healing with Extracorporeal Shock Waves*, New Orleans, 1990.
- Gandhi A, et al. The effects of local platelet rich plasma delivery on diabetic fracture healing. *Bone.* 2006;38:540–6.
- Garcia V.R.M., Oliveira R., Gomes P.S., Colaco B., Fernandes M.H.: Bisphosphonates induce the osteogenic gene expression in co-cultured human endothelial and mesenchymal stem cells. *J. Cell. Mol. Med.* 2014; 18;1;27-37.
- Garcia VG, Conceição JM, Fernandes LA, Almeida JM, Nagata MJH, Bosco AF, Theodoro LH.: Effects of LLLT in combination with bisphosphonate on bone healing in critical size defects: a histological and histometric study in rat calvaria. *Lasers Med Sci.* 2013; 28(2):407–14.
- Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustrat B, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res.* 2000, 15:1526-1536.
- Gartner LP, JL Hiatt. *Color Textbook of Histology*, 3th Edition. Philadelphia, Elsevier Saunders, 2007.

- Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N. VEGF Couples Hypertrophic Cartilage Remodeling, Ossification And Angiogenesis During Endochondral Bone Formation. *Nat Med.* 1999;5:623-628.
- Gerdesmeyer L, Gollwitzer H, Diehl P, Wagner K, Radiale Extrakorporale Stosswellen Therapie (Reswt) In Der Orthopaedie. *J Miner Stoffwechs* 2004;11:36-39
- Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL, Graves DT, Einhorn TA. Fracture Healing as A Post-Natal Developmental Process: Molecular, Spatial And Temporal Aspects Of Its Regulation. *J Cell Biochem* 2003b;88:873-874.
- Gerstenfeld LC, Cho TJ, Kon T, Aizawa T, Tsay A, Fitch J. Impaired Fracture Healing In The Absence Of TNF-alfa Signaling: The Role Of TNF-alfa In Endochondral Cartilage Resorbtion. *J Bone Miner Res* 2003a; 18:1584-1592.
- Giguere Y, Rousseau F. The genetics of osteoporosis: complexities and difficulties. *Clin Genet.* 2000, 57:161-169.
- Giorgio Iannetti, Bisphosphonates and Osteonecrosis of the Jaw: A Multidisciplinary Approach, Springer, Italya, 2012
- Glowacki J. Angiogenesis In Fracture Repair. *Clin Orthop Relat Res* 1998; (Suppl 355): S82-9.
- Gollwitzer H, Gloeck T, Roessner M, Langer R, Horn C, Gerdesmeyer L, Diehl P. Radial extracorporeal shock wave therapy (rESWT) induces new bone formation in vivo: results of an animal study in rabbits. *Ultrasound Med Biol.* 2013 Jan;39(1):126-33.
- Gomez Font R, Martinez Garcia ML, Olmos Martinez JM. Osteochemonecrosis of the jaws due to bisphosphonate treatments. Update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2008, 13: E318-24.
- Graesser D, Solowiej A, Bruckner M, Osterweil E, Juedes A, Davis S, Ruddle NH, Engelhardt B, Madri JA. Altered vascular permeability and early onset of experimental autoimmune encephalomyelitis in PECAM-1-deficient mice. *J Clin Invest.* 2002; 109: 383–392.

- Graham DY. What the gastroenterologist should know about the gastrointestinal safety profiles of bisphosphonates. *Dig Dis Sci.* 2002, 47:1665-1678.
- Grant BT, Amenedo C, Freeman K, Kraut RA. Outcomes of placing dental implants in patients taking oral bisphosphonates: a review of 115 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008;66:223–30.
- Grbic JT, Black DM, Lyles KW, et al. The incidence of osteonecrosis of the jaw in patients receiving 5 milligrams of zoledronic acid: data from the health outcomes and reduced incidence with zoledronic acid once yearly clinical trials program. *J Am Dent Assoc.* 2010, 141:1365–70.
- Grbic JT, Black DM, Lyles KW, Reid DM, Orwoll E, McClung M, et al. The incidence of osteonecrosis of the jaw in patients receiving 5 milligrams of zoledronic acid: Data from the health outcomes and reduced incidence with zoledronic acid once yearly clinical trials program. *J Am Dent Assoc.* 2010;141:1365–70.
- Green JR, Muller K and Jaeggi KA. Preclinical pharmacology of CGP 42'446, a new, potent, heterocyclic bisphosphonate compound. *J Bone Miner Res.* 1994, 9(5):745-751.
- Green JR. Bisphosphonates: preclinical review. *Oncologist.* 2004;9 Suppl 4:3-13.
- Green JR: Bisphosphonates: Preclinical review. *Oncologist.* 2004; 9(Suppl 4):3,
- Greve, J.M.D., Grecco, M.V., Santos-Silva, P.R. Comparison of Radial Shock Waves Conventional Physiotherapy for Treating Plantar Fasciit. *Clinical Science.* 2009, 64(2): 97-103.
- Guarneri V, Miles D, Robert N, Diéras V, Glaspy J, Smith I, et al. Bevacizumab and osteonecrosis of the jaw: Incidence and association with bisphosphonate therapy in three large prospective trials in advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;122:181–8.
- Guarneri V, Miles D, Robert N, Dieras V, Glaspy J, Smith I, Thomssen C, Biganzoli L, Taran T, Conte P. Bevacizumab and osteonecrosis of the jaw: incidence and association with bisphosphonate therapy in three large prospective trials in advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 122:181.

- Guyton AC, Hall JE., Tıbbi fizyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
- Güngör F, Türker M, Güngör N, Erinanç A, et al. Çekim Yaralarında İndometasin'in Lokal ve Sistemik Tatbikinde Prostaglandin Aktivitesinin Deeneysel Olarak Saptanması. G Ü Diş Hek. Fak. Der. 1985;II(1):133-144
- Haake, M., Böddeker, I.R., Decker, T., Buch, M., Vogel, M., Labek, G., ve ark. Side-effects of extracorporeal shock wave therapy (ESWT) in the treatment of tennis elbow. *Archives of Orthopaedic Trauma and Surgery*. 2002, 122:222-228.
- Hamma-Kourbali Y, DiBenedetto M, Ledoux D, Oudar O, Leroux Y, Lecouvey M, et al. A novel non-containing-nitrogen bisphosphonate inhibits both in vitro and in vivo angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003, 310:816-823.
- Hansen T, Kunkel M, Weber A, James Kirkpatrick C. Osteonecrosis of the jaws in patients treated with bisphosphonates - histomorphologic analysis in comparison with infected osteoradionecrosis. *J Oral Pathol Med*. 2006; 35:155.
- Haris DM, Werkhaven JA, et al. Biophysics and applications of medical lasers. *Adv Otolaryngol Head Neck Surg* 1989;3:91-123.
- Hasmim M, Bieler G, Ruegg C. Zoledronate inhibits endothelial cell adhesion, migration and survival through the suppression of multiple, prenylation-dependent signaling pathways. *J Throm Haemo*. 2007, 5:166-173.
- Hausdorf J, Sievers B, Schmitt-Sody M, Jansson V, Maier M, Mayer-Wagner S. Stimulation of bone growth factor synthesis in human osteoblasts and fibroblasts after extracorporeal shock wave application. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2011 Mar;131(3):303-9.
- Heikkila P, Teronen O, Moilanen M, Konttinen YT, Hanemaaijer R, Laitinen M, Maisi P, van der Pluijm G, Bartlett JD, Salo T and Sorsa T. Bisphosphonates inhibit stromelysin-1 (MMP-3), matrix metalloelastase (MMP-12), collagenase-3 (MMP-13) and enamelysin (MMP-20), but not urokinase-type plasminogen activator, and diminish invasion and migration of human malignant and endothelial cell lines. *Anticancer Drugs*. 2002, 13(3):245-254.

- 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 A. 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; 142:1243.
- Hillner BE, Ingle JN, Berenson JR, Janjan NA, Albain KS, Lipton A, Yee G, Biermann JS, Chlebowski RT, Pfister DG: American society of clinical oncology guideline on the role of bisphosphonates in breast cancer. American society of clinical oncology bisphosphonates expert panel. *J Clin Oncol.* 2000, 18:1378–1391.
- Hoefert S, Eufinger H. Relevance of a prolonged preoperative antibiotic regime in the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69:362–80.
- Holder MJ, Milward MR, Palin WM, Hadis MA, Cooper PR. Effects of red light-emitting diode irradiation on dental pulp cells. *J Dent Res* 2012;91:961–6.
- Hollinger JO, Einhorn TA, Doll BA. *Bone tissue engineering.* CRC Press. 2004.
- Hong JW, Nam W, Cha IH, et al. Oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: the first report in Asia. *Osteoporos Int.* 2010, 21:847–53
- Hongli Jiao, E. Xiao, And Dana T. Diabetes And Its Effect On Bone And Fracture Healing *GravesCurr Osteoporos Rep.* 2015 Oct; 13(5): 327–335.
- Hortobagyi GN, Theriault RL, Lipton A, Porter L, Blayney D, Sinoff C, et al. Long-term of skeletal complications of metastatic breast cancer with pamidronate. Protocol 19 Aredia Breast Cancer Study Group. *J Clin Oncol.* 1998;16:2038–44.
- Huja SS, Fernandez SA, Hill KJ, Li Y. Remodeling dynamics in the alveolar process in skeletally mature dogs. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2006; 288:1243.
- Huja SS, Fernandez SA, Phillips C, Li Y: Zoledronic acid decreases bone formation

- Hutchinson M, O’Ryan F, Chavez V, et al. Radiographic findings in bisphosphonate-treated patients with stage 0 disease in the absence of bone exposure. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010;68:2232–40.
- Idris AI, Rojas J, Greig IR, et al: Aminobisphosphonates cause osteoblast apoptosis and inhibit bone nodule formation in vitro. *Calcif Tissue Int.* 2008, 82:191,
- Ingber D.E., Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again, *FASEB J.* 20 2006 May, 7:811-827.
- Irinakis T. Rationale for socket preservation after extraction of a singlerooted tooth when planning for future implant placement. *J Can Dent Assoc* 2006; 72(10):917–22.
- Ito M, Amizuka N, Nakajima T, Ozawa H. Ultrastructural and cytochemical studies on cell death of osteoclasts induced by bisphosphonate treatment. *Bone.* 1999; 25:447.
- Iwamoto J, Sato Y, Uzawa M, Takeda T, Matsumoto H. Three-year experience with alendronate treatment in postmenopausal osteoporotic Japanese women with or without type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011, 93:166–73.
- Janssen MP, Caron MM, van Rietbergen B, Surtel DA, van Rhijn LW, Welting TJ, Emans PJ. Impairment of the chondrogenic phase of endochondral ossification in vivo by inhibition of cyclooxygenase-2. *Eur Cell Mater.* 2017, Oct 17;34:202-216.
- Jee WSS. Interated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology. In: Cowin SC (ed). *Bone Mechanics Handbook.* 2.ed. CRC Pres, Florida, 2001;1-68.
- Ji X, Pushalkar S, Li Y, Glickman R, Fleisher K, Saxena D. Antibiotic effects on bacterial profile in osteonecrosis of the jaw. *Oral Dis.* 2012;18:85–95.
- Jungueria LC, Carnerio J, Kelley RO. *Basic Histology* 8th Edition. A Lange Medical, 1997; 170-196
- Junqueira LC, J Carneiro. *Basic Histology Text&Atlas*, 10th Edition. McGrawHill Companies, Chicago, 2003.

- Junquiera LC, Carneiro J. Temel histoloji text ve atlas (Solakoğlu S, Aytekin Y) Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2006.
- Kalfas IH, Principles of bone healing. Neurosurg Focus. 2001;15;10(4): E1.
- Kan B, Altay MA, Taşar F, Akova M.: Low-level laser therapy supported teeth extractions of two patients receiving IV zolendronate. Lasers Med Sci. 2011; 26(5):569–75.
- Kan B, Tasar F, Korkusuz P, Ersoy O, Çetinkaya A, Gur CZ, Çelik H, Meral G. Histomorfometrical and Radiological Comparison of Low-Level Laser Therapy Effects On Distraction Osteogenesis: Experimental Study. Lasers Med Sci. 2014;29(1):213-20.
- Kang B, Cheong S, Chaichanasakul T, Bezouglaia O, Atti E, Dry SM, Pirih FQ, Aghaloo TL, Tetradis S. Periapical disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in mice. J Bone Miner Res. 2013; 28:1631.
- Karu T. Mechanisms of interaction of monochromatic visible light with cells. Proc SPIE 1996; 2630: 2-9.
- Karu T. Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laserradiation. Lasers in the Life Sciences. 1988, 2(1): 53-74.
- Karu TI, Kolyakov SF. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. Photomed Laser Surg 2005;23:355–61.
- Karu TI. Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation. Photochem Photobiol 2008;84:1091–9.
- Kayaalp O, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Feryal Matbaacılık, Ankara. 2002.
- Kayal RA, Siqueira M, Alblowi J, et al. TNF-alpha mediates diabetes-enhanced chondrocyte apoptosis during fracture healing and stimulates chondrocyte apoptosis Through FOXO1. J Bone Miner Res. 2010, 25(7):1604–1615.
- Kayal RA, Tsatsas D, Bauer MA, Allen B, Al-Sebaei MO, Kakar S, Leone CW, Morgan EF, Gerstenfeld LC, Einhorn TA, Graves DT. Diminished Bone Formation During Diabetic Fracture Healing Is Related To The Premature

- Resorbition Of Cartilage Associated With Increased Osteoclast Activity. *J Bone Miner Res.* 2007; 22(4):560-8.
- Kendler DL, Roux C, Benhamou CL, et al. Effects of Denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women transitioning from alendronate therapy. *J Bone Miner Res.* 2010;Jan 25(1):72–81.
- Khan AA, Morrison A, Hanley DA, Felsenberg D, McCauley LK, O’Ryan F, Reid IR, Ruggiero SL ve ark. Diagnosis and Management of Osteonecrosis of the Jaw: A Systematic Review and International Consensus *Journal of Bone and Mineral Research.* January 2015, Vol. 30, No. 1, pp 3–23
- Khan AA, Rios LP, Sandor GK, et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in Ontario: a survey of oral and maxillofacial surgeons. *J Rheumatol.* 2011;38:1396–402.
- Khan AA, Sandor GK, Dore E, et al. Canadian consensus practice guidelines for bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw. *J Rheumatol.* 2008;35:1391–7.
- Kharazmi M, Hallberg P, Warfvinge G. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the external auditory canal. *J Craniofac Surg.* 2013;24:2218–20.
- Kılıçoğlu SS, Mikroskobi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 2, 143-50, 2002.
- Kikuri T, Kim I, Yamaza T, Akiyama K, Zhang Q, Li Y, Chen C, Chen W, Wang S, Le AD, Shi S. Cell-based immunotherapy with mesenchymal stem cells cures bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *J Bone Miner Res.* 2010; 25:1668.
- Kim SJ, Kang YG, Park JH, Kim EC, Park YG. Effects of low-intensity laser therapy on periodontal tissue remodeling during relapse and retention of orthodontically moved teeth. *Lasers Med Sc* 2013;28:325–33.
- Kimmel DB, Mechanism of Action, Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile, and Clinical Applications of Nitrogen-containing Bisphosphonates. *Dent Res.* 2007, 86(11): 1022-1033,

- Klim JD, Fox DB, Coluzzi DJ, Neckel CP, Swick MD. The diode laser in dentistry. *Rev Wavelengths* 2000; 8(4), 13-6.
- Kobayashi Y, Hiraga T, Ueda A, Wang L, Matsumoto-Nakano M, Hata K, et al. Zoledronic acid delays wound healing of the tooth extraction socket, inhibits oral epithelial cell migration, and promotes proliferation and adhesion to hydroxyapatite of oral bacteria, without causing osteonecrosis of the jaw, in mice. *J Bone MinerMetab.* 2010; 28:165-175.
- Komatsubara S, Mori S, Mashiba T, Li J, Nonaka K, Kaji Y, et al. Suppressed bone turnover by long-term bisphosphonate treatment accumulates microdamage but maintains intrinsic material properties in cortical bone of dog rib. *J Bone Miner Res.* 2004, 19:999-1005.
- Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Expression of Osteoprotegerin, Receptor Activator of NF-kappaB Ligand (Osteoprotegerin Ligand) and Related Proinflammatory Cytokines During Fracture Healing. *J Bone Miner Res.* 2001; 16(6): 1004-14.
- Korpai M, Yan J, Lu X, Xu S, Lerit DA, Kang Y. Imaging transforming growth factor-beta signaling dynamics and therapeutic response in breast cancer bone metastasis. *Nature Medicine.* 2009, 15(8), 960-6.
- Kos M, Junka A, Smutnicka D, Bartoszewicz M, Kurzynowski T, Gluza K. Pamidronate enhances bacterial adhesion to bone hydroxyapatite. Another puzzle in the pathology of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw? *J Oral Maxillofac Surg.* 2013;71:1010–6.
- 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 ComputAssist Tomogr.* 2009;33:298–304.
- Kunchur R, Need A, Hughes T, Goss A. Clinical investigation of Cterminal cross-linking telopeptide test in prevention and management of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67:1167–73.

- Kurtuluş Barış, Distraksiyon Osteogenezinde Er:Yag Lazer Osteotomisinin ve Düşük Düzeyli Lazer Tedavisinin Yeni Kemik Oluşumu Üzerindeki Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Doktora Tezi, 2010; 45.
- Kutsal GY. Osteoporozda medikal tedavi yaklaşımları/Osteoporoz tanısında görüntüleme yöntemleri ve histomorfometri. İkinci baskı, Güneş Kitapevi, Ankara, 2005;103-124, 234-58.
- 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. *J. Oral Maxillofac Surg.* 2009;67:2644–8.
- Kwon YD, Ohe JY, Kim DY, Chung DJ, Park YD. Retrospective study of two biochemical markers for the risk assessment of oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: can they be utilized as risk markers? *Clin Oral Implants Res.* 2011;22:100–5.
- Kwong FN, Harris MB. Recent developments in the biology of fracture repair. *J Am Acad Orthop Surg* 2008;16(11):619–25.
- Lai JB, Poon CY. Treatment of ranula using carbon dioxide laser--case series report. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2009;38(10):1107-11.
- Landesberg R, Cozin M, Cremers S, Woo V, Kousteni S, Sinha S, et al. Inhibition of oral mucosal cell wound healing by bisphosphonates. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 66:839-847.
- Lavelle LBC. Applied physiology of the mouth. Bristol: John Wright and Sons Limited, 1975
- Lee CY, 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 Dent.* 2010;19:29–38.
- Lehmann W, Edgar CM, Wang K, Cho TJ, Barnes GL, Kakar S, Graves DT, Rueger JM, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-alpha) Coordinately Regulates The Expression Of Specific Matrix Metalloproteinases

- (MMPS) and Angiogenic Factors During Fracture Healing. *Bone*. 2005;36(2):300-10.
- Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67: 159–61.
- Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67(1):159–161.
- Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, et al. Normal serum bone markers in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;106:389–91.
- Leu CT, Luegmayr E, Freedman LP, Rodan GA, Reszka AA. Relative binding affinities of bisphosphonates for human bone and relationship to antiresorptive efficacy. *Bone*. 2006, 38: 628-36.
- Lewiecki EM, Miller PD, McClung MR, et al. Two-year treatment with denosumab (AMG 162) in a randomized phase 2 study of postmenopausal women with low BMD. *J Bone Miner Res*. 2007, 22:1832–41.
- Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The Role of Growth Factors in The Repair of Bone: Biology And Clinical Applications. *J Bone Joint Surg Am*. 2002;84(A):1032-1044.
- Lim W, Kim J, Kim S, Karna S, Won J, Jeon SM, Kim SY, Choi Y, Choi H, Kim O. Modulation of lipopolysaccharide-induced NF-kappa-B signaling pathway by 635 nm irradiation via heat shock protein 27 in human gingival fibroblast cells. *Photochem Photobiol* 2013;89:199–207.
- Lo JC, O’Ryan FS, Gordon NP, et al. Prevalence of osteonecrosis of the jaw in patients with oral bisphosphonate exposure. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010, 68:243–53.
- Lo JC, O’Ryan FS, Gordon NP, Yang J, Hui RL, Martin D, et al. Prevalence of osteonecrosis of the jaw in patients with oral bisphosphonate exposure. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010; 68:243–53.

- Loder RT. The influence of diabetes mellitus on the healing of closed fractures. *Clinical orthopaedics and related research*. 1988;(232):210–216.
- Lopez-Jornet P, Camacho-Alonso F, Martinez-Canovas A, Molina-Minano F, Gomez-Garcia F, Vicente-Ortega V. Perioperative antibiotic regimen in rats treated with pamidronate plus dexamethasone and subjected to dental extraction: a study of the changes in the jaws. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011; 69:2488.
- Low S, Reed A. *Laser Therapy. Electrotherapy Explained Principles and Practice*. London: Butterworth- Heinemann. 1990;299-313.
- Luckman SP, Coxon FP, Ebetino FH, Russell RG and Rogers MJ. Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J774 macrophages. *J Bone Miner Res*. 1998b, 13(11):1668-1678.
- Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Russell GG, Rogers MJ. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res*. 1998a, 7:581-589.
- Lukáč M. *Physical basics of laser for dentists, Book of abstract lasers in stomatology*, Bled:2003.
- Lyles KW, Colon-Emeric CS, Magaziner JS, et al. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture. *N Engl J Med*. 2007;357:1799–809.
- Mackert GA, Schulte M, Hirche C, Kotsougiani D, Vogelpohl J, Hoener B, et al. Low-energy extracorporeal shockwave therapy (ESWT) improves metaphyseal fracture healing in an osteoporotic rat model. *PLoS ONE*. 2017;12(12).
- Magnetto S, Boissier S, Delmas PD and Clezardin P. Additive antitumor activities of taxoids in combination with the bisphosphonate ibandronate against invasion and adhesion of human breast carcinoma cells to bone. *Int J Cancer*. 1999;83(2):263-269.

- Magnin DR, Biller SA, Dickson JK Jr, Logan JVH, Lawrence RM, Chen Y, et al. 1,1-bisphosphonate squalene synthase inhibitors: interplay between isoprenoid subunit and the diphosphate surrogate. *J Med Chem.* 1995, 38:2596-2605.
- Maiman TH. Stimulated Optical Radiation by Ruby. *Nature.* 1960, 187, 493-494
- Malden N, Lopes V. An epidemiological study of alendronate-related osteonecrosis of the jaws. A case series from the south-east of Scotland with attention given to case definition and prevalence. *J Bone Miner Metab.* 2012, 30:171–82.
- Martu S, Amalinei C, Tatarciuc M, Rotaru M, Potrichie O, Liliac L, Căruntu ID. Healing process and laser therapy in the superficial periodontium: a histological study. *Rom J Morphol Embryol* 2012;53:111–6.
- Martins MA, Martins MD, Lascalea CA, et al. Association of laser phototherapy with PRP improves healing of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in cancer patients: a preliminary study. *Oral Oncol.* 2012;48:79–84.
- 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;65:2397–410.
- Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: Risk factors, recognition, prevention and treatment. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2005, 63, 1567–75.
- Marx RE. L'osteonecrosi dei Mascellari da bisfosfonati. Quintessence, Milan. 2009
- Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61:1115–7
- Mashiba T, Hirano T, Turner CH, Forwood MR, Johnston CC, Burr DB. Suppressed bone turnover by bisphosphonates increases microdamage accumulation and reduces some biomechanical properties in dog rib. *J Bone Miner Res.* 2000, 15:613-620.
- Mashiba T, Turner CH, Hirano T, Forwood MR, Johnston CC, Burr DB. Effects of suppressed bone turnover by bisphosphonates on microdamage accumulation

- and biomechanical properties in clinically relevant skeletal sites in beagles. *Bone*. 2001, 28:524-531.
- Maurer P, Sandulescu T, Kriwalsky MS, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the maxilla and sinusitis maxillaris. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2011;40:285–91.
- Mauri D, Valachis A, Polyzos IP, Polyzos NP, Kamposioras K, Pesce LL. Osteonecrosis of the jaw and use of bisphosphonates in adjuvant breast cancer treatment: A meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;116:433–9.
- 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;65:415–23.
- Mawardi H, Treister N, Richardson P, Anderson K, Munshi N, Faiella RA, Woo SB. Sinus tracts--an early sign of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws? *J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 67:593.
- Mayer HM., Müller G, Schwetlick G. Lasers in percutaneous disc surgery. *Acta Orthopaedics Scandinavia*. 1993;64,38-44.
- McClung M, Miller P, Recknor C, et al. Zoledronic acid for the prevention of bone loss in postmenopausal women with low bone mass: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2009;114: 999–1007.
- McClung MR, Geusens P, Miller PD, Zippel H, Benson WG, Rout C, et al. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. *N Engl J Med*. 2001, 344:333-340.
- McLeod NM, Brennan PA, Ruggiero SL. Bisphosphonate osteonecrosis of the jaw: a historical and contemporary review. *Surgeon*. 2012; 10:36.
- Medical economics. *Physicians' Desk Reference*. 57th ed. Montvale, NJ: Medical Economics; 2003.

- Meneguzzo DT, Lopes LA, Pallota R, Soares-Ferreira L, Lopes-Martins RA, Ribeiro MS. Prevention and treatment of mice paw edema by near-infrared low-level laser therapy on lymph nodes. *Lasers Med Sci* 2013;28:973–80.
- Menschutkin M. Ueber die Einwirkung des Chloracetyls auf phosphorige Säure. *Ann Chem Pharm* 1865; 133:317-320.
- Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med* 1985; 5:31-9.
- Miller PD, Bolognese MA, Lewiecki EM, et al. Amg Bone Loss Study Group. Effect of denosumab on bone density and turnover in postmenopausal women with low bone mass after long-term continued, discontinued, and restarting of therapy: a randomized blinded phase 2 clinical trial. *Bone*. 2008, 43:222–9.
- Miller PD, McClung MR, Macovei L, Stakkestad JA, Luckey M, Bonvoisin B, Reginster JY, Recker RR, Hughes C, Lewiecki EM, Felsenberg D, Delmas PD, Kendler DL, Bolognese MA, Mairon N and Cooper C. Monthly oral ibandronate therapy in postmenopausal osteoporosis: 1-year results from the MOBILE study. *J Bone Miner Res*. 2005, 20(8):1315-1322.
- Miller SC. , Jee WSS. Bone Lining Cells. In: Hall BH, Editor. Boca Raton, FL, CRC Press, 1992;4: 1-19.
- Miloro M, Repasky M. (2000). Low-level laser effect on neurosensory recovery after sagittal ramus osteotomy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 89(1), 12-8.
- Miserendino LJ, Neiburger EJ, et al. Thermal effects of continuous wave CO2 laser exposure on human teeth: an in-vitro study. *J Endod* 1989;14:302-5.
- Miserendino LJ, Neiburger EJ, Pick RM. Current status of lasers in dentistry. *Ill Dentistry Journal*. 1987, 56(4), 254-7.
- Mitchell DY, Barr WH, Eusebio RA, Pallone-Stevens KA, Duke FP, Russell DA, et al. Risedronate pharmacokinetics and intraand inter-subject variability upon single-dose intravenous and oral administration. *Pharm Res*. 2001, 18:166-170.

- Mokmeli S. Lasers classification, Eslami Faresani R. Rezvan F. The principals of low level laser therapy. Iran, Boshra 2004.
- Moritz A, Beer F, Goharkhay K, Schoop U, Strassl M, Verheyen P, Walsh L.J, Wernisch J, Wintner E. Oral Laser Application. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin. 2006:38-55.
- Morris PG, Fazio M, Farooki A, et al. Serum N-telopeptide and bonespecific alkaline phosphatase levels in patients with osteonecrosis of the jaw receiving bisphosphonates for bone metastases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70:2768–75.
- Mouzopoulos G, Stamatakis M, Mouzopoulos D, Tzurbakis M. Extracorporeal shock wave treatment for shoulder calcific tendonitis: a systematic review. *Skeletal Radiol* 2007; 36:803- 811.
- Mucke T, Koschinski J, Deppe H, et al. Outcome of treatment and parameters influencing recurrence in patients with bisphosphonate- related osteonecrosis of the jaws. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2011;137:907–13.
- Mulari M, Vaaraniemi J, Vaananen HK. Intracellular membrane trafficking in bone resorbing osteoclasts. *Microscopy Res and Technique.* 2003, 61:496-503.
- Muller AM. Overview Of The Fracture Healing Cascade. *Injury.* 2005; 5-7.
- Nagata MJH., Messori MR., Antoniali C., Stephen E. de Campos FN., Pola NM., Santinoni CS., Furlaneto F.A.C., Ervolino E.: Long-term therapy with intravenous zoledronate increases the number of nonattached osteoclasts: *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery.* 2017; 1-8.
- Ngamphaiboon N, Frustino JL, Kossoff EB, Sullivan MA, O'Connor TL. Osteonecrosis of the jaw: dental outcomes in metastatic breast cancer patients treated with bisphosphonates with/without bevacizumab. *Clin Breast Cancer.* 2011;11:252–7.
- Nicola RA, Jorgetti V, Rigau J, Pacheco MT, dos Reis LM, Zângaro RA. (2003) Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. *Lasers Med Sci.* 18(2):89-94.

- Novak P. Physical Basics. In: Dreisilker U. *Enthesiopathies (shock wave therapy in practice)* (ed). 1st edition Level10 Buchverlag Daniela Bamberg,2010: 29-46.
- Nussbaum SR, Younger J, Vandepol CJ, Gagel RF, Zubler MA, Chapman R, et al. Single-dose intravenous therapy with pamidronate for the treatment of hypercalcemia of malignancy: Comparison of 30-, 60-, and 90-mg dosages. *Am J Med.* 1993;95:297–304.
- O’Connell JE, Ikeagwani O, Kearns GJ. A role for C-terminal crosslinking telopeptide (CTX) level to predict the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws (BRONJ) following oral surgery? *Ir J Med Sci.* 2012;181:237–42.
- O’Ryan FS, Khoury S, Liao W, et al. Intravenous bisphosphonaterelated osteonecrosis of the jaw: bone scintigraphy as an early indicator. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67:1363–72.
- Ogden JA, Alvarez RG, Levitt R, Marlow M. Shock wave therapy (Orthotripsy®) in musculoskeletal disorders. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2001; 387: 22-40.
- Orwoll E, Teglbjaerg CS, Langdahl BL, et al. A randomized, placebocontrolled study of the effects of denosumab for the treatment of men with low bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012, 97:3161–9.
- Otto S, Hafner S, Grotz KA. The role of inferior alveolar nerve involvement in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67:589–92.
- Owens G, Jackson R and Lewiecki EM. An integrated approach: bisphosphonate management for the treatment of osteoporosis. *Am J Manag Care.* 2007;13 Suppl 11:290-308.
- Ozaki A, Role of fracture hematoma and periostium during fracture healing in rats. *J Orthop Sci.* 5, 64-70, 2000.

- Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone*. 1998, 22(4):347-54.
- Öber A, İzzetoğlu TG. *Histoloji*. 1. Baskı. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım; 2006.
- Pabst AM, Ziebart T, Ackermann M, Konerding MA, Walter C. Bisphosphonates' antiangiogenic potency in the development of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: influence on microvessel sprouting in an in vivo 3D Matrigel assay. *Clin Oral Investig*. 2014; 18:1015.
- Pacios S, Andriankaja O, Kang J, et al. Bacterial infection increases periodontal bone loss in diabetic rats through enhanced apoptosis. *Am J Pathol*. 2013;183(6):1928–1935.
- Paiva K.B.S., Granjeiro JM.: *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, Volume 148, 2017; chapter six
- Pakosch D, Papadimas D, Munding J, Kawa D, Kriwalsky MS. Osteonecrosis of the mandible due to anti-angiogenic agent, bevacizumab. *Oral Maxillofac Surg*. 2013 Dec;17(4):303-6. doi: 10.1007/s10006-012-0379-9. Epub 2012 Dec 16.
- Pang P, Andreana S, Aoki A, Coluzzi D, Obeidi A, Olivi G, Parker S, Rechmann P, Sulewski J, Sweeney C, Swick M, Yung F. Laser Energy in Oral Soft Tissue Applications. *J Laser Dent* 2010;18(3):123-131.
- Paolo Vescovi, Marco Meleti, Elisabetta Merigo, Maddalena Manfredi, Carlo Fornaini, Rebecca Guidotti, Samir Nammour. Case series of 589 tooth extractions in patients under bisphosphonates therapy. Proposal of a clinical protocol supported by Nd: YAG low-level laser therapy *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013 Jul 1;18 (4): 680-5.
- Papapoulos S, Chapurlat R, Libanati C, Brandi ML, Brown JP, Czerwinski E, et al. Five years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: Results from the first two years of the FREEDOM extension. *J Bone Miner Res*. 2012; 27:694–701.

- Papapoulos S, Chapurlat R, Libanati C, et al. Five years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the first two years of the FREEDOM extension. *J Bone Miner Res.* 2012, 27:694–701.
- Papapoulos SE. Biphosphanates: how do they work? *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2008, 22:831-847
- Papapoulos SE. Bisphosphonate actions: physical chemistry revisited. *Bone.* 2006, 38: 613-616.
- Park JB, Ahn SJ, Kang YG, Kim EC, Heo JS, Kang KL. Effects of increased low-level diode laser irradiation time on extraction socket healing in rats *Lasers Med Sci.* 2015, 30:719–726
- Parker S. Laser regulation and safety in general dental practice. *British Dental Journal.* 2007, 202, 523-32.
- Passarella S, Casamassima E, Molinari S, Pastore D, Quagliariello E, Catalano IM, et al. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. *FEBS Letters.* 1984; 175(1): 95-9.
- Patel CKN (1964) Interpretation of CO₂ Optical Laser Experiments. *Physiol rev Letter* 12,588
- Paula B.R., Jose Luis Del Castillo P. V., García-Arranz M., Yébenes M., Burgueño M. Zoledronic acid e Related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery* 2013; 1-7
- Paumgartner G, Sauter GH. Extracorporeal shock wave lithotripsy of gallstones: 20th anniversary of the first treatment. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 17: 525-527, 2005.
- Pautke C, Bauer F, Otto S, et al. Fluorescence-guided bone resection in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: first clinical results of a prospective pilot study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69:84–91.

- Pavlos NJ, Xu J, Riedel D, Yeoh JSG, Teitelbaum SL, Papadimitriou JM, et al. Rab3D regulates a novel vesicular trafficking pathway that is required for osteoclastic bone resorption. *Mol Cell Biol.* 2005, 25:5253-5269.
- Pereira, M., de Pinho, C., Medrado, A., Andrade Zde, A., Reis, S. Influence of 670 nm low-level laser therapy on mast cells and vascular response of cutaneous injuries. *Journal of Photochemistry and Photobiology B.* 2010, 98(3), 188-92.
- Petcu EB, Schug SA, Smith H: Clinical evaluation of onset of analgesia using intravenous pamidronate in metastatic bone pain. *J Pain Symptom Manage.* 2002, 24:281–284.
- Pfaff JA, Boelck B, Bloch W, Nentwig GH. Growth Factors in Bone Marrow Blood of the Mandible With Application of Extracorporeal Shock Wave Therapy. *Implant Dent.* 2016 Oct;25(5):606-12.
- Pfister T, Atzpodien E, Bohrmann B, Bauss F. Acute renal effects of intravenous bisphosphonates in the rat. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2005, 97:374-381.
- Phal PM, Myall RW, Assael LA, Weissman JL. Imaging findings of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2007;28:1139–45.
- Piccione PJ. Dental laser safety. *Dental Clinics of North America.* 2004, 48(4), 795-807.
- Pickering LM, Mansi JL, Colston KW. Adhesion of breast cancer cells to extracellular matrices is inhibited by zoledronic acid and enhanced by aberrant Ras signalling. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 2003, 22:863.
- Piotr Rola, Adrian Doroszko, Arkadiusz Derkacz. The Use of Low-Level Energy Laser Radiation in Basic and Clinical Research *Adv Clin Exp Med.* 2014, 23, 5, 835–842
- Plotkin LI, Aguirre JI, Kousteni S, et al: Bisphosphonates and estrogens inhibit osteocyte apoptosis via distinct molecular mechanisms downstream of extracellular signal-regulated kinase activation. *J Biol Chem.* 2005, 280:7317,

- Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, et al: Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. *J Clin Invest.* 1999, 104:1363,
- Polizzotto MN, Cousins V, Schwarer AP. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the auditory canal. *Br J Haematol.* 2006, 132:114.
- Popovic KS, Kocar M. Imaging findings in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. *Radiol Oncol.* 2010;Dec 44(4):215–9.
- Posten W, Wrone DA, Dover JS, Arndt KA, Silapunt S, Alam M. (2005) Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. *Dermatol Surg.* 31(3):334-40
- Powell D, Bowler C, Roberts T, et al. Incidence of serious side effects with intravenous bisphosphonate: a clinical audit. *QJM.* 2012;105: 965–71.
- Prendergast PJ, Meulen MC, Mechanics of bone generation. In: Cowin SC (ed). *Bone mechanics handbook.* 2nd ed. Florida: CRC Press, 1-13, 2001.
- Qi WX, Tang LN, He AN, Yao Y, Shen Z. Risk of osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving denosumab: A meta-analysis of seven randomized controlled trials. *Int J Clin Oncol.* 2014;19:403–10.
- Rassweilera JJ, Knollb T, Köhrmannc KU, McAteerd JA, Lingemane JE, Clevelandf RO, Baileyg MR, Chaussyh C. Shock Wave Technology and Application: An Update. *Eur Urol.* 59(5): 784–796. May 2011
- Recker RR, Deng HW. Role of genetics in osteoporosis. *Endocrine.* 2002, 17:55-66.
- Reddi AH, Bone Morphogenetic Proteins: From Basic Science To Clinical Applications. *J Bone Joint Surg Am.* 2001;83-A Suppl 1(Pt 1): S1-6.
- Reginster JY, Minne HW, Sorensen OH, Hooper M, Roux C, Brandi ML, et al. Randomized trial of the effects of risedronate on vertebral fractures in women with established postmenopausal osteoporosis. Vertebral Efficacy with Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *Osteoporos Int.* 2000, 11:83-91.
- Reginster JY. Oral and intravenous ibandronate in the management of postmenopausal osteoporosis: a comprehensive review. *Curr Pharm Des.* 2005, 11:3711-3728.

- Reid IR, Bolland MJ, Grey AB. Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity? *Bone*. 2007; 41:318.
- Reid IR, Bolland MJ, Grey AB. Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity? *Bone*. 2007;41:318–20.
- 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, 353:898–908.
- Reinwald S, Burr D. Review of nonprimate, large animal models for osteoporosis research. *J Bone Miner Res*. 2008; 23:1353.
- Retzepi M, Donos N. The effect of diabetes mellitus on osseous healing. *Clinical oral implants research*. 2010;21(7):673–681.
- Ripamonti CI, Cislighi E, Mariani L, Maniezzo M. Efficacy and safety of medical ozone (O₃) delivered in oil suspension applications for the treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with bone metastases treated with bisphosphonates: preliminary results of a phase I-II study. *Oral Oncol*. 2011;47:185–90.
- Ripamonti CI, Maniezzo M, Campa T, Fagnoni E, Brunelli C, Saibene G, Bareggi C, Ascani L, Cislighi E. Decreased occurrence of osteonecrosis of the jaw after implementation of dental preventive measures in solid tumour patients with bone metastases treated with bisphosphonates. The experience of the National Cancer Institute of Milan. *Ann Oncol*. 2009; 20:137.
- Ristow O, Gerngross C, Schwaiger M, Hohlweg-Majert B, Kehl V, Jansen H, Hahnefeld L, Koerdt S, Otto S, Pautke C. Effect of antiresorptive drugs on bony turnover in the jaw: denosumab compared with bisphosphonates. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2014; 52:308.
- Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest*. 1996;97(12):2692-2696.

- Rodan GA, Martin TJ: Therapeutic approaches to bone diseases. *Science*. 2000; 289:1508.
- Rodan GA, Reszka AA. Bisphosphonate mechanism of action. *Curr Mol Me*. 2002; 2(6): 571-577.
- Rodan GA: Mechanisms of action of bisphosphonates. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1998; 38:375.
- Rompe JD, Kirkpatrick CJ, Küllmer K, Schwitalle M, Krischek O. Dose-related effects of shock waves on rabbit tendo Achillis: a sonographic and histological study. *The Journal of Bone and Joint Surgery [Br]* 1998; 80-B:546-552.
- Rompe JD. *Shock Wave Applications in Musculoskeletal Disorders*. Georg Thieme Verlag 2002;1: 1-5.
- Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, et al. 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;Oct 72(10):1938–56.
- Ruggiero SL, Fantasia J, Carlson E. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;102:433–41.
- Ruggiero SL, Fantasia J, Carlson E. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: Background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;102:433–41.
- 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;62:527–34.
- Ruggiero SL. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: an overview. *Ann NY Acad Sci Sep*. 2010
- Russell RG. Bisphosphonates: The first 40 years. *Bone*, 2011, 49(1), 2-19.

- Russell RGG, Watts NB, Ebetino FH, Rogers MU. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporosis Int.* 2008, 19: 733-759.
- Russell RGG. Bisphosphonates: from bench to bedside. *Ann NY Acad Sci.* 2006, 1068:367-401.
- Saad F, Brown JE, Van PC, et al. 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;23:1341–7.
- Saad F, Brown JE, Van Poznak C, Ibrahim T, Stemmer SM, Stopeck AT, et al. 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;23:1341–7.
- Saad F, Gleason DM, Murray R, Tchekmedyian S, Venner P, Lacombe L, et al. Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96:879–82.
- Salzman R, Hoza J, Perina V, Starek I. Osteonecrosis of the external auditory canal associated with oral bisphosphonate therapy: case report and literature review. *Otol Neurotol.* 2013, 34:209–13.
- Sambrook PN, Roux C, Devogelaer JP, et al. Bisphosphonates and glucocorticoid osteoporosis in men: results of a randomized controlled trial comparing zoledronic acid with risedronate. *Bone.* 2012, 50:289–95.
- Sandberg MM, Aro HT, Vuorio EL. Gene Expression During Bone Repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1993;289:292-312.
- Sanders JM, Ortiz-Gomez A, Mao J, Meints GA, Van Brussel EM, Burzynska A, et al. 3-D QSAR investigations of the inhibition of *Leishmania major* farnesyl pyrophosphate synthase by bisphosphonates. *J Med Chem.* 2003, 46:5171-5182.

- Sanders JM, Song Y, Chan JMW, Zhang Y, Jennings S, Kosztowski T, et al. Pyridinium-1-yl bisphosphonates are potent inhibitors of farnesyl diphosphate synthase and bone resorption. *J Med Chem.* 2005, 48:2957-2963.
- Santiago HA, Zamarioli A, Sousa Neto MD, Volpon JB. Exposure to Secondhand Smoke Impairs Fracture Healing in Rats. *Clin Orthop Relat Res.* 2017 Mar;475(3):894-902.
- Santini D, Vincenzi B, Dicuonzo G, Avvisati G, Massacesi C, Battistoni F, Gavasci M, Rocci L, Tirindelli MC, Altomare V, Tocchini M, Bonsignori M, Tonini G. Zoledronic acid induces significant and long-lasting modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2003; 9:2893.
- Santini D, Vincenzi B, Galluzzo S, Battistoni F, Rocci L, Venditti O, et al. Repeated intermittent low-dose therapy with zoledronic acid induces an early, sustained, and long-lasting decrease of peripheral vascular endothelial growth factor levels in cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2007, 13:4482-4486.
- Santos-Silva AR, Belizario Rosa GA, Castro G Junior, Dias RB, Prado Ribeiro AC, Brandao TB. Osteonecrosis of the mandible associated with bevacizumab therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013; 115:e32.
- Scagliotti GV, Hirsh V, Siena S, Henry DH, Woll PJ, Manegold C, et al. Overall survival improvement in patients with lung cancer and bone metastases treated with denosumab versus zoledronic acid: Subgroup analysis from a randomized phase 3 study. *J Thorac Oncol.* 2012;7:1823–9.
- Scalize PH., de Sousa LG, Regalo SC, Semprini M, Pitol DL, da Silva GA, de Almeida Coelho J, Coppi AA, Laad AA, Prado KF, Siessere S. Low-level laser therapy improves bone formation: stereology findings for osteoporosis in rat model. *Lasers Med Sci.* 2015 Jul;30(5):1599-607.
- Scarfe WC, Li Z, Aboelmaaty W, Scott SA, Farman AG. Maxillofacial cone beam computed tomography: essence elements steps to interpretation. *Aust Dent J.* 2012;57 (Suppl 1): 46–60.

- Schaden W, Mittermayr R, Haffner N, Smolen D, Gerdesmeyer L, Wang CJ. Extracorporeal shockwave therapy (ESWT) e First choice treatment of fracture non-unions? *International Journal of Surgery*. 2015, 24;179-183
- Schawlow AL, Townes CH *Infrared & Optical Masers*. Phys. 1958, 112, 1940- 1949
- Schiødt M, Reibel J, Oturai P, Kofod T. Comparison of nonexposed and exposed bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: a retrospective analysis from the Copenhagen cohort and a proposal for an updated classification system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol-Oral Radiol*. 2014;117:204–13.
- Schubert M, Klätte I, Linek W, et al. The Saxon bisphosphonate register - therapy and prevention of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Oral Oncol*. 2012;48:349–54.
- Scoletta M, Arduino PG, Pol R, et al. Initial experience on the outcome of teeth extractions in intravenous bisphosphonate-treated patients: a cautionary report. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011;69:456–62.
- 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; 66:767.
- Sedghizadeh PP, Stanley K, Caligiuri M, Hofkes S, Lowry B, Shuler CF. Oral bisphosphonate use and the prevalence of osteonecrosis of the jaw: an institutional inquiry. *J Am Dent Assoc*. 2009, 140:61–6.
- Sella VRG, Bomfim FS, Machado PC ve ark. Effect of low-level laser therapy on bone repair: a randomized controlled experimental study *Lasers Med Sci* 2015
- Senaratne SG, Mansi JL and Colston KW. The bisphosphonate zoledronic acid impairs Ras membrane [correction of impairs membrane] localisation and induces cytochrome c release in breast cancer cells. *Br J Cancer*. 2002, 86(9):1479-1486
- Servetto N, Cremonezzi D, Simes JC, Moya M, Soriano F, Palma JA, Campana VR. Evaluation of inflammatory biomarkers associated with oxidative stress and

histological assessment of low-level laser therapy in experimental myopathy. *Lasers Surg Med* 2010;42:577–83.

- Shah J, Whitfield HN. Urolithiasis through the ages. *BJU Int* 89: 801-810, 2002.
- Shapiro F. Bone development and its relation to fracture repair: The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. *Eur Cell Mater*. 2008;1;15: 53-76.
- Sharma D, Ivanovski S, Slevin M, Hamlet S, Pop TS, Brinzaniuc K, Petcu EB, Miroiu RI. Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw (BRONJ): diagnostic criteria and possible pathogenic mechanisms of an unexpected anti-angiogenic side effect. *Vascular Cell*. 2013, 5:1
- Sheweita SA, Khoshhal KI. Calcium metabolism and oxidative stress in bone fractures: role of antioxidants. *Current drug metabolism*. 2007;8(5):519–525.
- Shrivastava SK, Kailash. Shock wave treatment in medicine. *J Biosci* 30: 269-275, 2005.
- Sieber P, Lardelli P, Kraenzlin CA, Kraenzlin ME, Meier C. Intravenous bisphosphonates for postmenopausal osteoporosis: safety profiles of zoledronic acid and ibandronate in clinical practice. *Clin Drug Investig*. 2013, 33:117–22.
- Siebert, W. ve Buch, M. Extracorporeal Shock Waves in Orthopaedics. Germany: Springer. 1998.
- Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. Biomaterials and Bone Mechanotransduction. *Biomaterials*. 2001; 22, 2581-93.
- Silva Paiva Katiucia Batista a,†, José Mauro Granjeiro Bone tissue remodeling and development: Focus on matrix metalloproteinase functions *Archives of Biochemistry and Biophysics* 561 (2014) 74–87
- Smith R, Russell RGG, Bishop M. Diphosphonates and Paget's disease of bone. *Lancet*, 1971, 1, 945–7.

- Solowiej A, Biswas P, Graesser D, Madri JA. Lack of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 attenuates foreign body inflammation because of decreased angiogenesis. *Am J Pathol.* 2003;162: 953–962.
- Soydan N. Genel histoloji. İstanbul: İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi. 1985;100-19
- Speed, C.A. Extracorporeal shock-wave therapy in the management of chronic soft-tissue conditions. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2004, 86(2): 165-171.
- Stark WW Jr, Blaskovich MA, Johnson BA, Qian Y, Vasudevan A, Pitt B, et al. Inhibiting geranylgeranylation blocks growth and promotes apoptosis in pulmonary vascular smooth muscles. *Am J Physiol.* 1998, 275:L55-L63.
- Stein A, Benayahu D, Maltz L, Oron U.: Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23(2):161–6.
- Stevens A, Lowe J. *Human Histology*, 2th Edition. Mosby, Newyork, 1997.
- Stockmann P, Hinkmann FM, Lell MM, et al. Panoramic radiograph, computed tomography or magnetic resonance imaging. Which imaging technique should be preferred in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw? A prospective clinical study. *Clin Oral Investig* 2010;14:311–7.
- Stolzing A, Sellers D, Llewelyn O, Scutt A. Diabetes Induced Changes in Rat Mesenchymal Stem Cells. *Cells, tissues, organs.* 2010;191(6):453–465.
- Strauss RA, Fallon SD. (2004). Lasers in contemporary oral and maxillofacial surgery. *Dental Clinics of North America*, 48, 861-88.
- Street J, Bao M, Deguzman L, Bunting S, Peale FV Jr, Ferrara N, Steinmetz H, Hoeffel J, Cleland JL, Daugherty A, van Bruggen N, Redmond HP, Cararo RA, Filvaroff EH. Vascular Endothelial Growth Factor Stimulates Bone Repair by Promoting Angiogenesis and Bone Turnover. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;23;99(15):9656-61.
- Subramanian G, Cohen HV, Quek SY. A model for the pathogenesis of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw and teriparatide's potential role in its

- resolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112:744–53.
- Suei Y. Radiographic findings of bisphosphonate-related osteomyelitis of the jaw: investigation of the diagnostic points by comparison with radiation osteomyelitis, suppurative osteomyelitis, and diffuse sclerosing osteomyelitis. *Oral Radiol.* 2013;29:121–34.
- Sun Young Park, Terri A. Di Maio, Elizabeth A. Scheef, Christine M. Sorenson, and Nader Sheibani: PECAM-1 regulates proangiogenic properties of endothelial cells through modulation of cell-cell and cell-matrix interactions. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2010; 299: 1468–1484,.
- Suri C, Jones PF, Patan S, Bartunkova S, Maisonpierre PC, Davis S, Sato TN, Yancopoulos GD. Requisite Role of Angiopoietin-1, a Ligand for the TIE2 Receptor, During Embryonic Angiogenesis. *Cell.* 1996;27;87(7):1171-80.
- Suri S, Monkkonen J, Taskinen M, Pesonen J, Blank MA, Phipps RJ, et al. Nitrogen containing bisphosphonates induce apoptosis of Caco- 2 cells in vitro by inhibiting the mevalonate pathway: a model of bisphosphonate-induced gastrointestinal toxicity. *Bone.* 2001, 29:336-343.
- Suzuki K, Takeyama S, Sakai Y, Yamada S, Shinoda H. Current topics in pharmacological research on bone metabolism: inhibitory effects of bisphosphonates on the differentiation and activity of osteoclasts. *J Pharmacol Sci.* 2006; 100:189.
- Szabo CM, Martin MB, Oldfield E. An investigation of bone resorption and *Dictyostelium discoideum* growth inhibition by bisphosphonate drugs. *J Med Chem.* 2002, 45:2804-2903.
- T. Tischer, S. Milz, C. Weiler, C. Pautke, J. Hausdorf, C. Schmitz, et al., Dosedependent new bone formation by extracorporeal shock wave application on the intact femur of rabbits, *Eur. Surg. Res.* 41:1 2008 44e53.
- Taguchi A, Akiyama H, Koseki T, Shimizutani K. Recognition of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw among oral and maxillofacial radiologists:

- results from a questionnaire-based survey in Japan. *Oral Radiol.* 2013;29:98–104.
- Tamura K, Togo Y, Kaihara S, Hussain A, Takahashi K, Bessho K. The effect of nicotine on osteoinduction by recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2014 Aug;43(8):1022-9.
- Tanrıkulu Seval, Gönen Emel; Kırık iyileşmesi, *TOTBİD Der gisi* 2017; 16:455–475
- Tassone P, Tagliaferri P, Viscomi C, Palmieri C, Caraglia M, D'Alessandro A, Galea E, Goel A, Abbruzzese A, Boland CR and Venuta S. Zoledronic acid induces antiproliferative and apoptotic effects in human pancreatic cancer cells in vitro. *Br J Cancer.* 2003, 88(12):1971-1978.
- Taylor T, Bryant C, Popat S. A study of 225 patients on bisphosphonates presenting to the bisphosphonate clinic at King's College Hospital. *Br Dent J.* 2013;214:E18.
- Tekelioğlu M. Genel Tıp Histolojisi. Beta Basın Yayın Dağıtım, İstanbul, 1989.
- Tennis P, Rothman KJ, Bohn RL, et al. Incidence of osteonecrosis of the jaw among users of bisphosphonates with selected cancers or osteoporosis. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2012, 21:810–17.
- Tetradis S, Anstey P, Graff-Radford S. Cone beam computed tomography in the diagnosis of dental disease. *J Calif Dent Assoc.* 2010;38:27–32.
- Torres SR, Chen CS, Leroux BG, et al. Mandibular cortical bone evaluation on cone beam computed tomography images of patients with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;113:695–703.
- Torres SR, Chen CS, Leroux BG, Lee PP, Hollender LG, Schubert MM. Fractal dimension evaluation of cone beam computed tomography in patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis. *Dentomaxillofac Radiol.* 2011;40:501–5.
- Tosun E, Taşar F. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Lazer Kullanımı. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci-Special Topics* 2012;3(2):26-30.

- Treister NS, Friedland B, Woo SB. Use of cone-beam computerized tomography for evaluation of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109:753–64.
- Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P. Molecular Aspects of Fracture Healing: Which Are The Important Molecules? *Injury* 2007;38(Suppl 1): S11-25.
- Tuner J, Hode L. *The laser therapy handbook*, Sweden, Prima Book AB 2007.
- Tyndall, W. A., Beam, H. A., Zarro, C., O'Connor, J. P. & Lin, S. S. Decreased platelet derived growth factor expression during fracture healing in diabetic animals. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2003 319–30
- Ueda Y, Shimizu N. (2003) Effects of pulse frequency of low-level laser therapy (LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells. *J Clin Laser Med Surg.* 21(5):271-7.
- Ulmner M, Jarnbring F, Torring O. Osteonecrosis of the jaw in Sweden associated with the oral use of bisphosphonate. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014, 72:76–82.
- Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, Katodritou E, Triaridis S, Andreadis CG, et al. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Clin Oncol.* 2009;27:5356–62.
- Valchanou V.D., P. Michailov, High energy shock waves in the treatment of delayed and nonunion of fractures, *Int. Orthop.* 15 (3) (1991) 181e184.
- van Beek E, Lowik CWGM, Ebetino FH, Papapoulos SE. Binding and anti-resorptive properties of heterocycle-containing bisphosphonate analogs: structure-activity relationships. *Bone.* 1998, 23:438-442.
- Van Beek E, Pieterman E, Cohen L, Lowik C, Papapoulos S. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit isopentenyl pyrophosphate isomerase/farnesyl pyrophosphate synthase activity with relative potencies corresponding to their antiresorptive potencies in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999b, 255:491-494.

- van der Jagt O.P., T.M. Piscaer, W. Schaden, J. Li, N. Kops, H. Jahr, J.C. van der Linden, J.H. Waarsing, J.A.N. Verhaar, MD, M. de Jong, H. Weinans. Unfocused Extracorporeal Shock Waves Induce Anabolic Effects in Rat Bone J Bone Joint Surg Am. 2011; 93:38-48.
- van der Jagt OP, Waarsing JH, Kops N, Schaden W, Jahr H, Verhaar JA, et al. Unfocused extracorporeal shock waves induce anabolic effects in osteoporotic rats. J Orthop Res. 2013; 31(5):768±75.
- Vandone AM, Donadio M, Mozzati M, et al. Impact of dental care in the prevention of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a single-center clinical experience. Ann Oncol. 2012;23:193–200.
- Vescovi P, Manfredi M, Merigo E, et al. Surgical approach with Er:YAG laser on osteonecrosis of the jaws (ONJ) in patients under bisphosphonate therapy (BPT). Lasers Med Sci. 2010;25:101–13.
- Vescovi P, Merigo E, Meleti M, Manfredi M, Guidotti R, Nammour S. Bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaws: a concise review of the literature and a report of a single-centre experience with 151 patients. J Oral Pathol Med. 2012;41:214–21.
- Vescovi P, Merigo E, Meleti M, Manfredi M, Fornaini C, Nammour S et al.: Conservative surgical management of stage I bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. Int J Dent. 2014; 8.
- Vincenzi B, Santini D, Dicuonzo G, Battistoni F, Gavasci M, LaCesa A, et al. Zoledronic acid-related angiogenesis modifications and survival in advanced breast cancer patients. J Interferon Cytokine Res. 2005, 25:144-151.
- Virtanen SS, Vaananen HK, Harkonen PL and Lakkakorpi PT. Alendronate inhibits invasion of PC-3 prostate cancer cells by affecting the mevalonate pathway. Cancer Res. 2002, 62(9):2708-2714.
- Wallner C, et al. Application of VEGF-A and FGF-9 Enhances Angiogenesis, Osteogenesis and Bone Remodeling in Type 2 Diabetic Long Bone Regeneration. PLoS One. 2015;10

- Walsh, L., Goharkhay, K., Verheyen, P., Moritz, A. Low level laser therapy (LLLT). A. Moritz (Ed.). Oral Laser Application. Berlin: Quintessenz. 2006, 521-39.
- Walsh, L.J. Ultraviolet B irradiation of skin induces mast cell degranulation and release of tumour necrosis factor-alpha. *Immunology and Cell Biology*. 1995, 73(3), 226-33.
- Walsh, L.J., Lavker, R.M., Murphy, G.F. Determinants of immune cell trafficking in the skin. *Laboratory Investigation*. 1990, 63(5), 592-600.
- Walter C, Pabst AM, Ziebart T. Effects of a low-level diode laser on oral keratinocytes, oral fibroblasts, endothelial cells and osteoblasts incubated with bisphosphonates: An in vitro study *Biomedical Reports*, 2015, 3:14-18,
- Wang C.-J., F.-S. Wang, J.-Y. Ko, H.-Y. Huang, C.-J. Chen, Y.-C. Sun and Y.-J. Yang: Extracorporeal shockwave therapy shows regeneration in hip necrosis *Rheumatology* 2008;47:542–546.
- Wang C.J., F.S. Wang, K.D. Yang, L.H. Weng, C.C. Hsu, C.S. Huang, et al., Shock wave therapy induces neovascularization at the tendon-bone junction. A study in rabbits, *J. Orthop. Res.* 21 (6) (2003 Nov) 984-989.
- Wang CJ, Wang FS, Yang KD. Biological effects of extracorporeal shockwave in bone healing: a study in rabbits. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2008;128:879-884.
- Wang CJ. An overview of shock wave therapy in musculoskeletal disorders. *Chang Gung Med J* 2003; 26: 220-32.
- Wang FS, Yang KD, Chen RF, Wang CJ, Sheen-Chen SM. Extracorporeal shock wave promotes growth and differentiation of bone-marrow stromal cells towards osteoprogenitors associated with induction of TGF- β 1. *J Bone Joint Surg Br.* 2002; 84(3):457±61.
- Wang FS, Yang KD, Kuo YR, Wang CJ, Sheen-Chen SM, Huang HC, et al. Temporal and spatial expression of bone morphogenetic proteins in extracorporeal shock wave-promoted healing of segmental defect. *Bone.* 2003; 32(4):387±96.
- Wasnich RD, Miller PD. Antifracture efficacy of antiresorptive agents are related to changes in bone density. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000, 85(1):231-236.
- Waynant RW, *Lasers in Medicine* (2001) CRC Press, 140-155

- Webb JCJ, Tricker J. A review of fracture healing. *Current Orthopaedics*, 14(6), 457-63, 2000.
- Weber JBB., Camilotti RS., Ponte ME.: Efficacy of laser therapy in the management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): a systematic review. *Lasers Med Sci*. 2016; 31:1261–1272.
- Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. *Campbell-Walsh Urology*, Tenth Edition. Elsevier Inc. 1600 John F. Kennedy Blvd, Suite 1800, Philadelphia, 2014
- Wickham N, Crawford A, Carney AS, Goss AN. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the external auditory canal. *J Laryngol Otol*. 2013;127(Suppl 2):S51–S53.
- Wilde F, Heufelder M, Lorenz K, et al. Prevalence of cone beam computed tomography imaging findings according to the clinical stage of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;114:804–11.
- Wilde F, Heufelder M, Winter K, et al. The role of surgical therapy in the management of intravenous bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;111:153–63.
- without causing osteocyte death in mice. *Arch Oral Biol*. 2009; 54: 851-856.
- Woo JT, Nakagawa H, Krecic AM, Nagai K, Hamilton AD, Sebti SM, et al. Inhibitory effects of mevastatin and a geranylgeranyl transferase-I inhibitor (GGTI-2166) on mononuclear osteoclast formation induced by receptor activator of NFκB ligand (RANKL) or tumor necrosis factor-α (TNF-α). *Biochem Pharmacol*. 2005, 69:87-95.
- Xu J.K., Chen H.J., Li X.D., Huang Z.L., Xu H., Yang H.L., et al., Optimal intensity shock wave promotes the adhesion and migration of rat osteoblasts via integrin beta1-mediated expression of phosphorylated focal adhesion kinase, *J. Biol. Chem*. 287 (31) (2012 Jul 27) 26200-26212.
- Yakugaku Z. Effect of bisphosphonates on anticancer activity in prostate cancer cells. *J Stage*. 2012, 132(9):1025-30.

- Yamada J, Tsuno NH, Kitayama J, Tsuchiya T, Yoneyama S, Asakage M, et al. Anti-angiogenic property of zoledronic acid by inhibition of endothelial progenitor cell differentiation. *J Surg Res* 2009; 151(1):115–20.
- Yamashita J., Koi K., Yang D.Y., McCauley L.K.:Effect of Zoledronate on Oral Wound Healing in Rats. *Clin Cancer Res*. 2011 March 15; 17(6): 1405–1414.
- Yamazaki T, Yamori M, Ishizaki T, Asai K, Goto K, Takahashi K, et al. Increased incidence of osteonecrosis of the jaw after tooth extraction in patients treated with bisphosphonates: A cohort study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2012; 41:1397–403.
- Yamazaki T, Yamori M, Yamamoto K, et al. Risk of osteomyelitis of the jaw induced by oral bisphosphonates in patients taking medications for osteoporosis: a hospital-based cohort study in Japan. *Bone*. 2012, 51:882–7.
- Yeh LC, Lee JC. Osteogenic Protein-1 Increases Gene Expression Of Vascular Endothelial Growth Factor In Primary Cultures Of Fetal Rat Calvaria Cells. *Mol Cell Endocrinol*. 1999;153:113-124.
- Young B, Heath JW. Wheather's functional histology. 4th ed. Churchill Livingstone, 2000.
- Yu T., Junger W.G., Yuan C., Jin A., Zhao Y., Zheng X., et al., Shockwaves increase T-cell proliferation and IL-2 expression through ATP release, P2X7 receptors, and FAK activation, *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 298 (3) (2010 Mar) C457-C464.
- Yu W, Naim JO, McGowan M, Ippolito K, Lanzafame RJ. Photomodulation of oxidative metabolism and electron chain enzymes in rat liver mitochondria. *Photochem Photobiol* 1997;66:866–71.
- Zadik Y, Benoliel R, Fleissig Y, Casap N. Painful trigeminal neuropathy induced by oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a new etiology for the numb-chin syndrome. *Quintessence Int*. 2012;43:97–104.
- Zelle BA, Gollwitzer H, Zlowodzki M, Bühren V. Extracorporeal Shock Wave Therapy: Current Evidence *J Orthop Trauma*, 24:S66–S70 2010

- Zhang D, Udagawa N, Nakamura I, Murakami H, Saito S, Yamasaki K, et al. The small GTP-binding protein, rho p21, is involved in bone resorption by regulating cytoskeletal organization in osteoclasts. *J Cell Sci.* 1995, 108:2285-2292.
- Zhang R, Mio Y, Pratt PF, Lohr N, Warltier DC, Whelan HT, Zhu D, Jacobs ER, Medhora M, Bienengraeber M. Near infrared light protects cardiomyocytes from hypoxia and reoxygenation injury by a nitric oxide dependent mechanism. *J Mol Cell Card* 2009;46:4–14.
- Zhang X, Schwarz EM, Young DA, Puzas JE, Rosier RN, O’Keefe RJ. Cyclooxygenase- 2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. *J Clin Invest.* 2002;109(11):1405–15.
- Ziebart T, Koch F, Klein MO, et al. Geranylgeraniol - a new potential therapeutic approach to bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw. *Oral Oncol.* 2011;47:195–201.
- Ziebart T, Pabst A, Klein MO, Kammerer P, Gauss L, Brullmann D, et al. Bisphosphonates: restrictions for vasculogenesis and angiogenesis: inhibition of cell function of endothelial progenitor cells and mature endothelial cells in vitro. *Clin Oral Investig* 2011;15(1):105–11.
- Zwolak P, Manivel JC, Jasinski P, Kirstein MN, Dudek AZ, Fisher J, et al. Cytotoxic effect of zoledronic acid –loaded bone cement on giant cell tumor, multiple myeloma and renal cell carcinoma cell lines. *J Bone Joint Surg Am* 2010;92(1):162–8.

EK-1 Etik Kurul Onayı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
SAMSUN

Sayı : B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04 - 64
Konu : Araştırma Projeniz hk.

26/08/2015

Doç.Dr. Nilüfer ÖZKAN
OMU Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi AD.

2015/53 numaralı Uzun Süreli Zoledronik Asit Uygulanan Ratlarda Diş Çekimi Sonrasında Oluşturulacak Kemik Defektinin İyileşmesi Üzerinde Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavisinin (ESWT) ve Düşük Enerjili Lazer Tedavisinin (DELT) Etkilerinin Araştırılması konu başlıklı Projeniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 25.08.2015 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü süreç içinde etik kurallar ve hayvan haklarına uygunluk yönünden sorumluluk araştırmacılara ait olmak kaydıyla ve 6 aylık dönemler halinde Çalışma Raporu verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Keremettin AYDIN
HADYEK Başkanı



ASLI GİBİDİR

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Esmâ Bilge ŞAHİN

Doğum Yeri: Çorum

Doğum Tarihi: 23/12/1989

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Karşıyaka ilköğretim Okulu, Çorum (1997-2004)

Anadolu Öğretmen Lisesi, Çorum (2004-2008)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Samsun (2008-2013)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş Çene Cerrahisi
Anabilim Dalı Doktora Programı, Samsun (2013-2019)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar Ve Yıl

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı
(Doktora Programı), Samsun (2013-2017) (Doktora Öğrencisi)

Amasya Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi (2017-2019)

E-posta:

sahin.esmabilge@gmail.com